

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ
КАФЕДРА СУДОВОЇ МЕДИЦИНИ ТА МЕДИЧНОГО ПРАВА**

**СУДОВО-МЕДИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ
ЗАЖИТТЄВОЇ РЕАКЦІЇ ОРГАНІЗМУ ПРИ
МЕХАНІЧНІЙ АСФІКСІЇ ЧЕРЕЗ ПОВІШЕННЯ
ЗА ЗМІНАМИ ПЛОЩІ ДЕЛІПІДИЗАЦІЇ КОРИ
НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ**

Методичні рекомендації

Київ – 2017

Установа – розробник:

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
МОЗ України Кафедра судової медицини та медичного права

Рекомендовано до видання Вченою радою Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України як методичні рекомендації для судово-медичної практики (протокол №6 від 06.12.2016 р.)

Укладачі:

Михайличенко Борис Валентинович – доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри судової медицини та медичного права НМУ імені О.О. Богомольця

Біляков Андрій Миколайович – доктор мед. наук, доцент кафедри судової медицини та медичного права НМУ імені О.О. Богомольця

Ергард Наталія Миколаївна – асистент кафедри судової медицини та медичного права НМУ імені О.О. Богомольця

Рецензенти:

Кондратенко Віталій Львович – головний позаштатний спеціаліст МОЗ України за спеціальністю «Судово-медична експертиза», начальник ДУ «Головне бюро судово-медичної експертизи МОЗ України

Іркін Ігор Васильович – доктор медичних наук, професор кафедри патологічної та топографічної анатомії Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика

Запропоновані рекомендації призначені для лікарів судово-медичних експертів та лікарів-інтернів, які навчаються за фахом «судово-медична експертиза».

© Кафедра судової медицини та медичного права, 2017.

© Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, 2017.

ЗМІСТ

Список умовних скорочень	4
Вступ	4
Програмне визначення площі деліпідизованих ділянок кори надниркових залоз з урахуванням ступеню алкогольного сп'яніння.....	6
Резюме	10
Рекомендована література	11

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ОЗУ – ознаки зажиттевості ушкоджень
МА – механічна асфіксія
ХІХС – хронічна ішемічна хвороба серця
ЗБ – збільшення
АКТГ – адренкортикотропний гормон

ВСТУП

За статистикою, серед усіх суїцидальних випадків, 60% становить механічна асфіксія через повішення.

Головним питанням при судово-медичній експертизі механічної асфіксії через повішення залишається встановлення його зажиттевості.

На сьогоднішній день існує низка методів встановлення зажиттевості повішення, які в, основному, ґрунтуються на виявленні таких морфологічних ознак, як розриви інтими загальних сонних артерій (ознака Амюсса), крововиливи в адвентицію цих судин (ознака Мартина), крововиливи в медіальні ніжки грудино-ключично-соскоподібних м'язів, крововиливи між хребцеві диски (ознака Симона), крововиливи в ділянці дерми та підшкірної клітковини странгуляційної борозни.

Найбільш поширеним та доступним методом дослідження ознак зажиттевості повішення є мікроскопічне дослідження странгуляційної борозни, під час якого виявляються крововиливи по краю борозни, повнокров'я судин вище та нижче борозни за током крові, набряк дерми, лейкоцитарна реакція (лейкостаз) по краю борозни [6].

Проте, при мікроскопічному дослідженні надниркових залоз також можна виявити ознаки зажиттевої реакції на такий стресовий зовнішній чинник, як повішення. Це пов'язано з тим, що на дію будь-якого зовнішнього стресового чинника в організмі розвивається сукупність неспецифічних реакцій (стрес-реакція) із розвитком структурно-функціональних змін в системі гіпоталамус-гіпофіз-кора надниркових залоз та подальшою активацією

нейроендокринної системи. Так, в надниркових залозах відбувається повнокров'я капілярів, гіпертрофія кори та її деліпідизація, а в подальшому при тривалій дії стресового чинника в надниркових залозах значно зростає деліпідизація клітин та некротичні зміни [3, 4].

Слід зазначити, що вищевказані структурно-функціональні зміни в корі надниркових залоз виникають внаслідок активації гормонів системи гіпоталамус-гіпофіз-кора надниркових залоз.

Так, посилений синтез адренкортикотропного гормону (АКТГ) в свою чергу підсилює в корі надниркових залоз активність синтезу та секреції глюкокортикоїдних гормонів (кортизолу та кортизону), попередником яких є холестерин [2, 5, 8]. Враховуючи те, що попередник глюкокортикоїдних гормонів холестерин знаходиться в спонгіоцитах пучкової зони кори надниркових залоз, то активація його синтезу призводить до того, що в структурі пучкової зони кори надниркових залоз починають утворюватись ділянки деліпідизації, які добре видно при мікроскопічному дослідженні, якщо гістологічні зрізи тканини надниркових залоз піддати забарвленню Суданом-III та гематоксиліном [9, 10].

Виявлення зажиттевості підвищення базується на визначенні величини деліпідизації кори надниркових залоз за допомогою розробленої програми, яка автоматично визначає площу об'єкту після попередньої цифрової обробки сфотографованого гістологічного препарату [Біляков А.М., Михайличенко Б.В., патент України на корисну модель №54582 Опубл. 10.11.2010 року; Бюл. №21)] дасть можливість судово-медичного визначення ознак зажиттевості підвищення [7].

ПРОГРАМНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ПЛОЩІ ДЕЛІПІДИЗОВАНИХ ДІЛЯНОК КОРИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ З УРАХУВАННЯМ СТУПЕНЮ АЛКОГОЛЬНОГО СП'ЯНІННЯ

Під час судово-медичної експертизи особи, смерть якої настала внаслідок механічної асфіксії через повішення, проводять дослідження загальноасфіктичних та видових ознак відповідно до «Правил проведення судово-медичної експертизи (досліджень) трупів у бюро судово-медичної експертизи» (Наказ МОЗ від 17 січня 1995 р. № 6).

Для судово-медичного визначення ознак зажиттєвості повішення за визначенням розмірів площі деліпідизованих зон кори надниркових залоз проводять таке:

1. Під час судово-медичного розтину трупа вилучають тканину надниркових залоз.

2. Вилучену тканину надниркових залоз фіксують у розчині 10% формаліну, а після гістологічної проводки зразки ріжуть на заморожуючому мікротомі і зафарбовують Суданом-III та гематоксилином [1].

3. Після приготування гістологічних зрізів із секційного матеріалу надниркових залоз проводять комплекс морфометричних та гістологічних досліджень на мікроскопі Lieca DM LS 2 з окуляр-мікрометром та цифровими фото-відеокамерами Cannon Power Shot S50 та SCIENCELAB T500. 3,2 Мр (Див.рис.1).

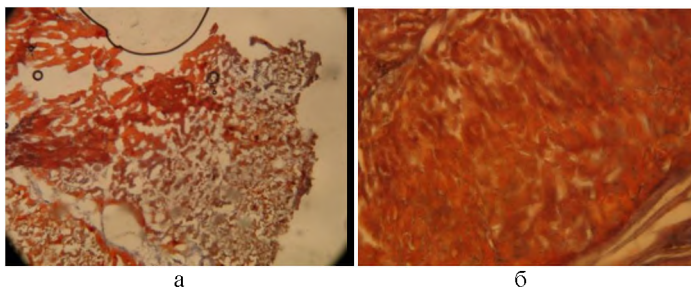


Рис. 1. Визначення деліпідизації надниркових залоз при повішенні (а) та при хронічній ішемічній хворобі серця (б). Забарвлення Суданом-III та гематоксилином.

4. Сфотографоване зображення гістологічного зрізу зберігають в форматі «срт». Для подальшої обробки даного формату використовують редактор растрової графіки Adobe Phoshop CS5.

Ділянки деліпідизації гістологічного зрізу переводять в чорно-біле зображення 1 розряду. Виділені об'єкти забарвлюють в чорний колір за контуром шляхом заливки, а зображення в цілому перетворюють в чорно-біле таким чином, щоб виділенні ділянки досліджуваного об'єкту залишалися чорними, а фон білим. Далі зображення зберігають у форматі «png». Автоматичне визначення площі чорного зображення вираховували за допомогою розробленої програми, яка підраховує кількість пікселів чорного кольору із розрахунку, що в 1 кв.мм зображення, яке було відскановано з роздільною здатністю 300 dpi, міститься 14,44 пікселів.

Зазначена програма написана з можливістю розміщення на сервері, тому для локального використання необхідно на персональному комп'ютері встановити сервер. Користувачу буде запропоновано вказати назву файлу для розрахунку площі, яке прописують у віконці для набору, як це зображено на рис 2. Запуск програми здійснюється шляхом набору в браузері <http://www.test1.ru> з подальшим зазначенням назви файлу ...png.

Вкажіть ім'я файлу для
розрахунку площі



Рис. 2. Загальний вигляд сторінки при старті програми.

Після обробки ми отримаємо результат в наступному вигляді
Зображення з файлу: 1.png



Параметри зображення в пікселях:	Параметри зображення міліметрах:
Ширина = 400 px	Ширина = 33.87 мм
Висота = 400 px	Висота = 33.87 мм
Площа = 160000 px	Площа (всього зображення) = 1147.1мм ²
Параметри об'єкту:	
Площа об'єкту (чорної ділянки) = 20.41 мм ²	
Спробувати ще раз	

Тобто результати вимірювання показали, що ділянка деліпідизації на гістологічному зрізі складає 20.41 мм².

Аналіз даних, отриманих в результаті дослідження, показав, що у осіб, смерть яких настала внаслідок підвищення деліпідизація в корі надниркових залоз значно відрізняється від групи осіб, померлих внаслідок хронічної ішемічної хвороби серця (ХІХС) (група порівняння). Так, при підвищенні деліпідизація була діагностично вищою ($p < 0,001$), аніж в групі порівняння і становила – $22,2 \pm 0,43$ мм² та $8,2 \pm 0,14$ мм² відповідно.

Враховуючи те, що при алкогольному сп'янінні підвищується активність кіркової речовини надниркових залоз [11], подальшим етапом нашого дослідження став аналіз впливу різного ступеня алкогольного сп'яніння на деліпідизацію кори надниркових залоз у групах осіб, померлих внаслідок підвищення за наявності алкоголю в крові з групою порівняння, якою була група осіб, померлих внаслідок ХІХС без наявності алкоголю в крові.

Аналіз даних, отриманих в результаті дослідження, показав, що при підвищенні деліпідизація з легким і середнім ступенем алкогольного сп'яніння діагностично достовірно не відрізняється ($p > 0,05$) і становить $19,45 \pm 0,97$ мкг/100 мг та $20,50 \pm 0,52$ мкг/100 мг відповідно, тому доцільно було їх об'єднати в одну групу і, в подальшому, порівнювати їх середню статистичну із групою осіб із важким ступенем алкогольного сп'яніння. Отже, деліпідизація при підвищенні у випадках важкого ступеня алкогольного сп'яніння

діагностично достовірно вища, аніж у випадках поєднаної групи легкого та середнього ступеня алкогольного сп'яніння ($p < 0,001$) і становить $26,3 \pm 0,59$ мкг/100 мг та $20,12 \pm 0,33$ мкг/100 мг відповідно. При порівнянні вищевказаних груп осіб із різним ступенем алкогольного сп'яніння з групою порівняння ($8,2 \pm 0,14$ мкг/100 мг), то деліпідизація у них була значно вищою, аніж у групі порівняння ($p < 0,001$).

Враховуючи вищенаведені дані, з врахуванням двосигмального відхилення від середнього значення ($M \pm 2\delta$), нами було визначено наступні *діагностично-значущі діапазони деліпідизації* в корі надниркових залоз при підвищенні: для об'єднаної групи легкого і середнього ступеня алкогольного сп'яніння він становив від 17,08 до 22,92 мкг/100 мг; при важкому ступеню алкогольного сп'яніння – від 23,26 до 29,68 мкг/100 мг; діапазони діагностики від 22,92 до 23,26 мкг/100 мг були діагностично не значимі, тому що зустрічалися як в об'єднаній групі легкого і середнього алкогольного сп'яніння, так і при важкому алкогольному сп'янінні.

Приклад 1.

На дослідження доставлено дві тканини надниркових залоз – №1 та 2. При макроскопічному дослідженні надниркової залози № 1 вона мала листовидну будову з розмірами: довжина $4,5 \pm 0,5$ см, ширина $3,5 \pm 0,5$ см та товщина $0,9 \pm 0,1$ см. На розрізі чітко було видно межі між мозковим та кірковим шарами. При мікроскопічному дослідженні надниркової залози № 1 на гістологічних препаратах, забарвлених Суданом-III та гематоксиліном, кірковий шар був представлений клубочковою, пучковою та сітчастою зонами. Пучкова зона найбільш широка, клітини її неправильної округлої форми, вони розташовані по 2-3 в колонах, витягнуті перпендикулярно по відношенню до капсули. Капіляри надниркових залоз розширені, повнокровні. Ліпіди при забарвленні Суданом-III представлені краплями жовто-оранжевого кольору. В клубочковій зоні майже у всіх клітинах були ліпіди у вигляді крапель різної величини, але в пучковій зоні ліпіди розподілялися нерівномірно, в зовнішній частині краплі великих розмірів в направленні до мозкової речовини, вони зменшувались. В сітчастій зоні було мало ліпідів у вигляді дрібних крапель. Тобто мала місце деліпідизація кори надниркових залоз.

При макроскопічному дослідженні надниркової залози № 2 вона

мала листовидну будову, розмірами: довжина $5,5 \pm 0,5$ см, ширина $4,0 \pm 0,5$ см та товщина $1,0 \pm 0,1$ см. На розрізі чітко видно межі між мозковим та кірковим шарами. При мікроскопічному дослідженні надниркової залози № 2 на гістологічних препаратах забарвлених Суданом-III та гематоксиліном кірковий шар був представлений клубочковою, пучковою та сітчастою зонами. Клітини клубочкової зони згруповані невеликими ділянками, в пучковій зоні клітини згруповані в тяжі товщиною до 3 клітин, направлених перпендикулярно капсулі, цитоплазма клітин в цій зоні добре васкулізована, а в сітчастій зоні – клітини утворюють невеликі тяжі. Між клітинами всіх зон добре виражена велика кількість капілярів. Клітини пучкової зони великі з світлою цитоплазмою, при забарвленні Суданом -III в ній спостерігається велика кількість ліпідів (в спонгіоцитах).

Розміри площі ділянок деліпідизації в пучковій зоні надниркових залоз № 1 та № 2 визначали за допомогою вищеописаної комп'ютерної програми.

Після підрахунку через вищезазначену програму площа деліпідизації у надниркової залози № 1 становила – $17,1 \text{ мм}^2$, а площа деліпідизації у надниркової залози № 2 – $4,3 \text{ мм}^2$. Це дало підстави вважати, що у випадку № 1 надниркова залоза більш суттєво реагувала на стресовий чинник, на відмінну від випадку № 2.

Вище наведений приклад показав, що зміни площі деліпідизації у корі надниркових залоз є ознакою захиттєвої реакції організму на такий зовнішній стресовий чинник як підвищення і може свідчити про короточасне переживання загиблої особи в момент підвищення.

РЕЗЮМЕ

За розробленими нами методичними рекомендаціями може проводитися об'єктивізація судово-медичного визначення захиттєвості механічної асфіксії через підвищення за допомогою визначення деліпідизації в корі надниркових залоз, з врахуванням ступеня алкогольного сп'яніння.

Запропоновані методичні рекомендації дозволяють підвищити діагностичні можливості щодо встановлення ознак захиттєвості при підвищенні та покращать якість судово-медичних експертиз у випадках смерті особи внаслідок механічної асфіксії через підвищення.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Лилли Р. Липиды. Окрашивание жиров жирорастворимыми красителями / Р. Лилли // Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М., 1969. – С. 421-422.
2. Селье Г. Очерки об адапционном синдроме. – М.: Медгиз, 1960. – С. 254.
3. Хем А. Системы организма. Надпочечники / А. Хем // Гистология. – М., 1983. – Т. 5 – С. 96-108.
4. Довженко Ю.В. Судово-медична діагностика морфофункціональних змін в системі епіфіз мозку-гіпофіз-надниркові залози в посттравматичному періоді у загиблих / Ю.В. Довженко // Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеню кандидата медичних наук. – К., 2005. – С. 78-80.
5. Порядина Г.В. Стресс и патология / Г.В. Порядина // Методическое пособие. – М., 2009. – С. 4-7.
6. Тахер Асаад М.А. Судово-медична діагностика зажиттєвості повішення за кристалографічною структурою біологічних рідин / М.А. Тахер Асаад // Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеню кандидата медичних наук. – К., 1996. – С. 11-17.
7. Біляков А.М. Судово-медичне обґрунтування тривалості перебігу смертельної механічної травми за метаболічними змінами в організмі в ранній термін антемортального періоду / А.М. Біляков // Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеню доктора медичних наук. – К., 2014. – С. 7-29.
8. Ергард Н.М. Роль глюкокортикоїдів в регуляції неспецифічної адаптації організму до стресової ситуації при механічній асфіксії внаслідок підвищення (огляд літератури з результатами власних досліджень) / Н.М. Ергард // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – Вип. 1. Том 9. – 2014. – С. 16-19.
9. Ергард Н.М. Судово-медичне визначення зажиттєвості як стрес-реакції при повіщенні за кількісним вмістом холестерину в тканині надниркових залоз / Н.М. Ергард // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – Вип. 24. Кн. 4. – К., 2015. – С. 205-210.
10. Ергард Н.М. Деліпідизація в надниркових залозах як наслідок стресової реакції при повіщенні / Н.М. Ергард // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – Вип. 24. Кн. 5. – К., 2015. – С. 392-397.
11. Пятницкая И.Н. Злоупотребление алкоголем и начальная стадия алкоголизма. – М., 1988. – С. 45-81.