

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ЗАКЛАД «ДНІПРОПЕТРОВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»

ПОВСТЯНИЙ ВІТАЛІЙ АНАТОЛІЙОВИЧ

УДК 340.624.6:818 «7»:616-091.1-008

**СУДОВО-МЕДИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ДАВНОСТІ СМЕРТІ
В ПІЗНЬОМУ ПОСТМОРТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ЗА ЗМІНАМИ
АХІЛЛОВОГО СУХОЖИЛКУ**

14.01.25 – судова медицина

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук (доктора філософії)



Київ — 2019

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Одним з основних питань судової медицини, з часу її виникнення, є питання встановлення давності смерті (ДС) (Hensge С., Madea В., 2004; Ольховський В.О. та ін., 2016). Знання часу настання смерті має велике значення для судово-слідчих органів, оскільки дозволяє окреслити коло осіб, які можуть бути причетні до скоєння злочину, чи можуть бути свідками правопорушення. Науково обґрунтований висновок експерта є одним із видів доказів у суді. Але на сьогоднішній день, визначення часу смерті не має універсальної методики для застосування (Саякенов Н.Б. та ін., 2011). Багатьма дослідниками були запропоновані різні методи для встановлення давності смерті (ДС) переважно у перші 1-3 доби після її настання. Якщо минуло більше ніж 3-4 доби після смерті, висновки експерта часто носять лише імовірний характер внаслідок складності вирішення цього питання (Пашинян Г.А., Назаров Г.Н., 1999; Теньков А.А., 2004).

Біофізичні методи дослідження дозволяють підійти до вирішення питання визначення ДС використовуючи сучасні досягнення фізики, хімії, кібернетики, математики. Серед запропонованих методів можна назвати такі як:

1. Використання повільнохвильової активності органів та тканин (Неделько Н.Ф., 2011)
2. Динаміка оптичної щільності склоподібного тіла (Ледянкина И.А., 2006)
3. Використання спінових зондів (Ермакова Ю.В., 2012).
4. Оцінка оптичних властивостей біологічних тканин за допомогою лазерної поляриметрії (Бачинський В.Т., 2017; Павлюкович О.В., 2016 та інші).
5. Визначення відносної діелектричної проникності тканин (Дунаєв О.В. та ін., 2019).

Одним з фізичних явищ, що виникають у об'єктах неживої та живої природи є світіння їх у полі надвисокої частоти. Його можна реєструвати методом кірліанографії, що в сучасній літературі частіше згадується як метод газорозрядної візуалізації (ГРВ). Світіння виникає внаслідок енергетичного «збудження» електронів та переходу їх на новий енергетичний рівень.

Кірліанографія використовується для визначення хімічного складу кристалів, рідин, розчинів (Песоцкая Л.А., та ін. 2013); проведення функціональної оцінки стану спортсменів (Коротков К.Г., 2014) та проведення досліджень, пов'язаних з питанням визначення алкогольної інтоксикації (Березовский Д.П та ін., 2006). Проте досліджень, в яких використано цей метод для визначення ДС, немає. Роботи присвячені вивченню сполучної тканини та Ахіллового сухожилка (АС), як об'єкту для вирішення питання ДС, носять характер окремих повідомлень (Нікіфоров А.Я. 2003, Yadav А.В. 2015, Mazzotti М.С. 2019), хоча сама сполучна тканина є досить перспективною в цьому плані, оскільки анатомічні особливості її (мала кількість води, велика щільність при невеликій кількості клітинних елементів), значно затримують процеси автолізу та гниття, тоді як інші органи вже знаходяться у стані значних деструктивних змін.

Вищезазначене визначило вибір метода і об'єкта наших досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом НДР кафедри патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «ДМА МОЗ України» «Судово-медична оцінка давності смерті за динамікою змін сполучної тканини при гнильній трансформації трупа» (державний реєстраційний № 0117U003831). Тему дисертації затверджено Вченою радою ДЗ «ДМА МОЗ України» (протокол № 2 від 24.09.2015 року) та Проблемною комісією «Патологічна анатомія. Судова медицина» МОЗ та НАМН України (протокол №29 від 10.10.2014 року).

Мета та завдання дослідження. Розробка комплексу судово-медичних критеріїв для визначення давності смерті у пізньому постмортальному періоді (до 20 діб) шляхом дослідження змін тканин Ахіллового сухожилку і біорідини з нього з використанням макроскопічного, мікроскопічного, біохімічного, біофізичного (кірліанографія) методів та методів логістичного аналізу.

Для досягнення вищевказаної мети були поставлені наступні **завдання дослідження:**

1. Розробити й обґрунтувати комплекс макроскопічних, мікроскопічних, біохімічних, біофізичних методів для судово-медичного дослідження змін тканини АС та біорідини з нього у пізньому посмертному періоді.

2. Дослідити взаємозв'язки між змінами що відбуваються у біорідині і тканинах АС та тривалістю посмертного періоду упродовж 20 діб посмертного періоду.

3. Розробити об'єктивні судово-медичні критерії визначення ДС впродовж трьох тижнів постмортального періоду за наступними характеристиками:

- для макроскопічного методу: колір та прозорість біорідини, наявність домішок, густина, характерні особливості при заморожування та розмерзанні;

- для мікроскопічного методу: характер гідратації міжклітинної речовини та клітинних елементів сухожилку, ступінь вираженості руйнування клітин;

- для біохімічного та біофізичного досліджень: характер коливань цифрових даних та тенденцію до групування

4. Оцінити вплив умов перебування трупа на отримані результати комплексу досліджень.

5. Шляхом застосування методів логістичного аналізу створити модель для визначення давності смерті та оцінки умов перебування трупа з оцінкою діагностичних можливостей способу, що пропонується.

Об'єкт дослідження: посмертні зміни тканин Ахіллового сухожилку у постмортальному періоді.

Предмет дослідження: макроскопічні, мікроскопічні, біохімічні, біофізичні зміни Ахіллового сухожилку упродовж 20 діб після настання смерті.

Методи дослідження: в роботі використовували наступні методи - макроскопічний, гістологічний, біохімічний, метод кірліанографії (ГРВ), статистичної обробки результатів біохімічного і біофізичного досліджень, методи логістичного аналізу (метод опорних векторів, кластерний аналіз, метод найближчого сусіда).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше з метою визначення часу смерті проведена візуальна оцінка біорідини з АС упродовж 1-20 діб посмертного

періоду з оцінкою у балах таких її параметрів як прозорість, густина, характер домішок, особливості макроскопічної картини біорідини з АС при замороженні та розмерзанні.

Вивчено характер морфологічних змін тканин АС, що виникають у них упродовж 1-20 діб посмертного періоду. Також запропонована комплексна кількісно-якісна оцінка цих змін на підставі мікроскопічної картини тканин АС.

Вперше вивчено характер змін окремих речовин у біорідині з АС (отриманої без гомогенізації тканин) на різних етапах посмертного періоду шляхом вивчення динаміки біохімічних змін, що утворюються в процесі автолізу та руйнування структурних компонентів сполучної тканини АС.

Вперше для визначення давності смерті використано відомий біофізичний метод (метод кірліанографії). Проведена оцінка інтенсивності та особливостей світіння біологічної рідини з АС у полі надвисокої частоти на різних етапах постмортального періоду і виявлено, що ці параметри взаємопов'язані з ДС.

Вперше виявлено, що інтенсивність світіння біорідини з АС мало залежить від особливостей зовнішнього середовища. На основі цього запропоновано використання комплексу методів, який дозволяє встановлювати давність смерті і з ефективністю роботи моделі більше ніж 90% і допомагає визначати умови перебування трупа.

Дістало подальший розвиток застосування методів логістичного аналізу для визначення давності смерті в інтервалах 2-3 доби в термін 1-20 діб після смерті.

Уперше визначено алгоритм для використання результатів макроскопічного, мікроскопічного, біохімічного та біофізичного методів дослідження тканин АС та біорідини з нього для визначення ДС шляхом комплексної оцінки отриманих результатів.

Доповнено наукові дані про посмертні зміни у тканинах трупа. Виявлено що у тканинах Ахіллового сухожилку процеси автолізу розвиваються з затримкою у декілька діб, у порівнянні з іншими внутрішніми органами.

Проаналізовані нові можливості судово-медичного визначення давності смерті та оцінки умов перебування трупа при нетипових змінах його тканин на основі моделі класифікатору, що створено з використанням методів логістичного аналізу.

Достовірність наукових результатів, викладених у роботі, визначається застосуванням у теоретичному розгляді сукупності теоретичних положень гістологічного, біохімічного методів та методу кірліанографії і надійно апробованих методів цих досліджень, а також розвиненого статистичного аналізу отриманих даних. Основні результати власних досліджень якісно та кількісно відповідають результатам теоретичного розгляду.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто виконано патентно-інформаційний пошук та аналіз наукової літератури, визначені мета та завдання наукової роботи. Самостійно проведено відбір та вилучення зразків біологічних тканин. Дисертантом виконано теоретичне обґрунтування експериментальних досліджень, узагальнено їхні результати. Самостійно проведено математично-статистичний аналіз отриманих даних та розроблено комплекс експертних критеріїв і алгоритм для визначення ДС і умов перебування трупа. На основі

отриманих даних дисертантом розроблено додаток для практичного використання у вигляді електронних таблиць EXCEL. У наукових працях здійснених у співавторстві, автору належить провідна роль щодо ідеї їхнього написання, збору й аналізу дослідного матеріалу, підготовки до друку та розробки всіх супровідних документів.

Аналіз кірліанограм з отриманням характеристик світіння біорідини з АС (у пікселях) проведено Глуховою Н.В. Біохімічне дослідження біорідини з АС проведено у клінічній лабораторії обласної клінічної лікарні ім. І.С. Мечникова.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані надають теоретичну та практичну базу для розробки нових методів реєстрації та оцінки посмертних змін що виникають у сполучній тканині для вирішення питання визначення ДС шляхом використання різних методів досліджень та методів логістичного аналізу.

Розроблені та використані у ході виконання дисертації «Спосіб отримання біологічної рідини зі сполучної тканини» (патент України на корисну модель №01442) і «Спосіб дослідження біологічної рідини (патент України на корисну модель №03309) можуть бути використані у повсякденній практиці судово-медичних лабораторій.

Також, результати дослідження можуть бути використані у науковій та навчальній роботі кафедр судової медицини, загальний алгоритм логістичної роботи моделі може бути використаний і в інших галузях медицини для оцінки виявлених змін.

Впровадження результатів дослідження. Результати дисертаційного дослідження впроваджені у практичну роботу Дніпропетровського, Херсонського, Івано-Франківського, Одеського, Харківського обласних та Київського міського бюро судово-медичної експертизи, навчально-наукову роботу кафедри патологічної анатомії і судової медицини Дніпропетровської медичної академії, кафедри судової медицини, медичного правознавства ім. засл. проф. М.С. Бокаріуса Харківського національного медичного університету, кафедри судової медицини та медичного правознавства ДВНЗ України «Івано-Франківський Національний медичний університет».

Апробація результатів роботи. Результати дослідження доповідалися на XIII міжнародної науково-практичної конференції науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», (Дніпро, 2016 р.) та «Валеологія: сучасний стан, напрямки та перспективи розвитку» (Харків, 2015 р.), на нарадах Дніпропетровського обласного бюро судово-медичної експертизи.

Публікації. За темою виконаної дисертаційної роботи опубліковано 9 статей. З них 7 у наукових фахових виданнях України; 2 статті у періодичних наукових виданнях Польщі; 2 роботи у матеріалах наукових конференцій. Отримано два патенти на корисну модель (один одноосібно)

Обсяг та структура дисертації. Робота викладена на 250 сторінках друкованого тексту державною мовою, з яких 150 сторінок залікового принтерного тексту, включаючи 6 сторінок анотацій українською та англійською мовами.

Робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалу та методів досліджень, розділу власних досліджень, та шести розділів аналізу та узагальнення результатів дослідження, аналізу та обговорення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та 3 додатків. Дисертація ілюстрована 39 таблицями та 106 рисунками. Список використаної літератури складається з 170 джерел, з яких 103 — кирилицею та 67— латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У першому розділі розглянуто сучасний стан питання визначення ДС на основі огляду вітчизняної та закордонної літератури. Проаналізовано методи, що застосовуються для встановлення часу смерті (візуальні, гістохімічні, гістологічні, біохімічні, біофізичні, імунологічні, бактеріологічні) з окресленням можливості їх використання у різні етапи посмертного періоду. Проведена загальна систематизація робіт, що були присвячені вирішенню питання визначення ДС. Сформульовано нові підходи для судово-медичного підвищення точності та об'єктивізації процесу визначення ДС. Вказано, що якщо у перші 1-3 доби визначення ДС частіше не викликає труднощів, то для пізнього посмертного періоду це часто буває неможливо внаслідок дії численних факторів (причина смерті, мікроклімат, наявність алкоголю чи прижиттєвих захворювань та ін.).

Другий розділ містить відомості про отриманий матеріал, застосований у роботі комплекс методів досліджень, а також алгоритми обробки результатів.

За темою роботи були опрацьовані зразки (гістологічні препарати, біорідина з тканин АС) 34 померлих осіб віком від 18 до 86 років дату смерті яких було достовірно відомо. З них модель класифікатору будувалася на 30, а 4 випадки служили об'єктами для перевірки. Всі випадки були розбиті на 5 груп: Т1 (термін настання смерті 1 доба), Т2 (термін настання смерті 2-3 доби), Т3 (термін настання смерті 4-6 діб), Т4 (термін настання смерті 7-9 діб) та Т5 (термін настання смерті 10-20 діб). У групі Т4 було 10 трупів, а в усіх інших по 6. Принциповим моментом дослідження є те, що моделювання посмертних процесів не проводилося, а весь матеріал отримано на основі фактичних випадків. Також не проводилася класифікація випадків за такими ознаками як причина чи категорія смерті, вік та стать померлих осіб. Такий підхід у відборі об'єктів для досліджень обумовлено намаганням наблизити отримані результати різних методів для максимального відтворення повсякденної праці лікаря судово-медичного експерта.

Після розрізу шкіри Ахілловий сухожилок виділявся за допомогою одноразового скальпелю та стерильного лапчастого медичного пінцета. Під час розрізу та виділення, не допускався контакт його тканин з поверхнею шкіри або секційним столом. Сухожилок фіксувався пінцетом з одного з країв, для відхилення його в сторону та видалення фасцій, жирової тканини і м'язових волокон. Потім він відсікався поперечним розрізом приблизно на межі переходу сухожильної частини у м'яз (вгорі) та біля місця прикріплення до п'яткової кістки

(унизу). Одразу відтинався нижній (найбільш щільний кінець) одного з сухожилків для проведення мікроскопічного дослідження.

Після цього шматочки сухожилку фіксувалися у 10-ти процентному розчин формаліну. Загалом було досліджено 136 гістологічних зрізів.

Біорідина отримувалася шляхом стискання тканин обох сухожилків у пресі. Прес виконано з полімерних матеріалів. Контакт біорідини з металевими частинами не допускався. При біохімічному дослідженні біорідини вивчали концентрації альбуміну, холестерину, загального білку, сечовини, сечової кислоти; концентрацію іонів натрію, кальцію, заліза. Окрім того визначали активність гамма-глутамілтрансферази, лужної фосфатази та активність α -амілази. Кірліанографія виконувалася на приборі РЕК-1. В подальшому було здійснено обробку кірліанограм за методикою що пропонується Глуховою Н.В. для оцінки характеристик інтенсивності світіння об'єктів у діапазоні сірого кольору. Всього було опрацьовано 34 зразки біорідини з АС, та 790 кірліанограм біорідин.

Статистична обробка даних проводилася непараметричними методами з описом середніх величин (медіан), за допомогою коефіцієнту Краскела-Уоліса за умов ненормального розподілу кількісних даних та параметричного дисперсійного аналізу (ANOVA) при нормальному законі розподілу цифрових даних між групами з різним терміном смерті. Також використані методи логістичної регресії (машина опорних векторів, кластерний аналіз, метод найближчого сусіда), які також можуть бути віднесені до методів математичної класифікації об'єкту.

Третій розділ містить результати динаміки макро-, мікроскопічних змін тканин АС та біорідини з нього, результати біохімічного та біофізичного досліджень біорідини з АС.

Макроскопічне дослідження рідини проводилося як під час збирання її у шприц так і після розморожування. Виявлені послідовні зміни морфології біорідини АС пов'язані з терміном настання смерті. Була також запропонована оцінка таких змін (таблиця 1).

Таблиця 1

Опис макроскопічних змін у біорідині з АС

Опис макроскопічної картини біорідини	Кількість балів
Колір червоний, або його відтінки. Структура однорідна, рідка. Нагадує «лакову» кров	1
Колір-червонуватий з крапленнями жиру. При замороженні виникають желеподібні прошарки, які при розмерзанні зникають	2

Дві фракції: перша-прозора, густа масляниста, а друга-рожеві густі маси, які стікають зверху першої. При замороженні світлі желеподібні включення, у вигляді звивистих структур. При розмерзанні вони розчиняються і знов утворюються при нерухомому положенні шприца. Після розведення вони розчиняються з згустками сірого кольору	3
Колір світло-сірий. Дуже густа однорідна. Характер пінистий з дрібними вкрапленнями жовтуватого кольору. Розчиняється погано, з утворенням напівпрозорого сіруватого розчину в якому виникають сірі прожилки	4

Встановлено що мікроскопічні зміни у тканинах Ахіллового сухожилку відбуваються також у певній послідовності і залежать від терміну посмертного періоду.

- на протязі 2-3-ї доби постмортального періоду фіксується перичелюлярний набряк та початковий набряк пучків колагенових волокон 1-го порядку

- у період 4-6 діб відмічається зникання перичелюлярного набряку та початкова гідратація тендіоцитів. Розвивається набряк рихлої сполучної тканини у ендотендінію, що проявляється збільшенням проміжків між пучками 2-го порядку. Місцями втрачається чіткість пучків волокон 1-го порядку

- у термін 7-9 діб посмертного періоду фіксується значний набряк ядер сухожильних клітин з наступним їх руйнуванням та фарбуванням прилягаючих крайових частин пучків волокон. У пучках волокон 1-го порядку спостерігається добре виражена гомогенізація

- у період 10-20 діб спостерігається повне руйнування клітинних елементів, втрата структурності волокнистих структур сухожилку. Залишки тендіоцитів поступово зникають, на фоні зростаючої гомогенізації міжклітинної речовини.

Якісні зміни у тканинах Ахіллового сухожилку на різних етапах посмертного періоду з їх оцінкою в балах наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Оцінка змін тканин Ахіллового сухожилку за даними гістологічного дослідження

Морфологічні зміни	Бали			
	0	1	2	3
Чіткі межі волокон	+			
Наявність початкового набухання волокон		+		
Набряк волокон з частковою втратою структурності			+	
Значна гомогенізація міжклітинної				+

речовини				
Перицелюлярний набряк лише навколо окремих клітин	+			
Поява перицелюлярного набряку біля багатьох клітин		+		
Наявність більшості значно гідратованих клітин			+	
Руйнування мембран клітин				+

Вибір переліку речовин, що був досліджений біохімічним методом був обумовлений метою вивчити зміни саме таких речовин що руйнуються чи утворюються внаслідок розвитку процесу автолізу згідно різних видів обміну речовин (білкового, ліпідного, вуглеводного). Перед проведенням біохімічного дослідження біорідина розводилась фізіологічним розчином у співвідношенні 1:4. Необхідність розведення її була встановлена ще на етапі попередніх досліджень, оскільки у концентрованій біорідині вміст окремих компонентів іноді перевищував чутливість біохімічного аналізатору. Результати змін вмісту окремих компонентів у біорідині з АС за результатами біохімічного дослідження представлені на рис 1.

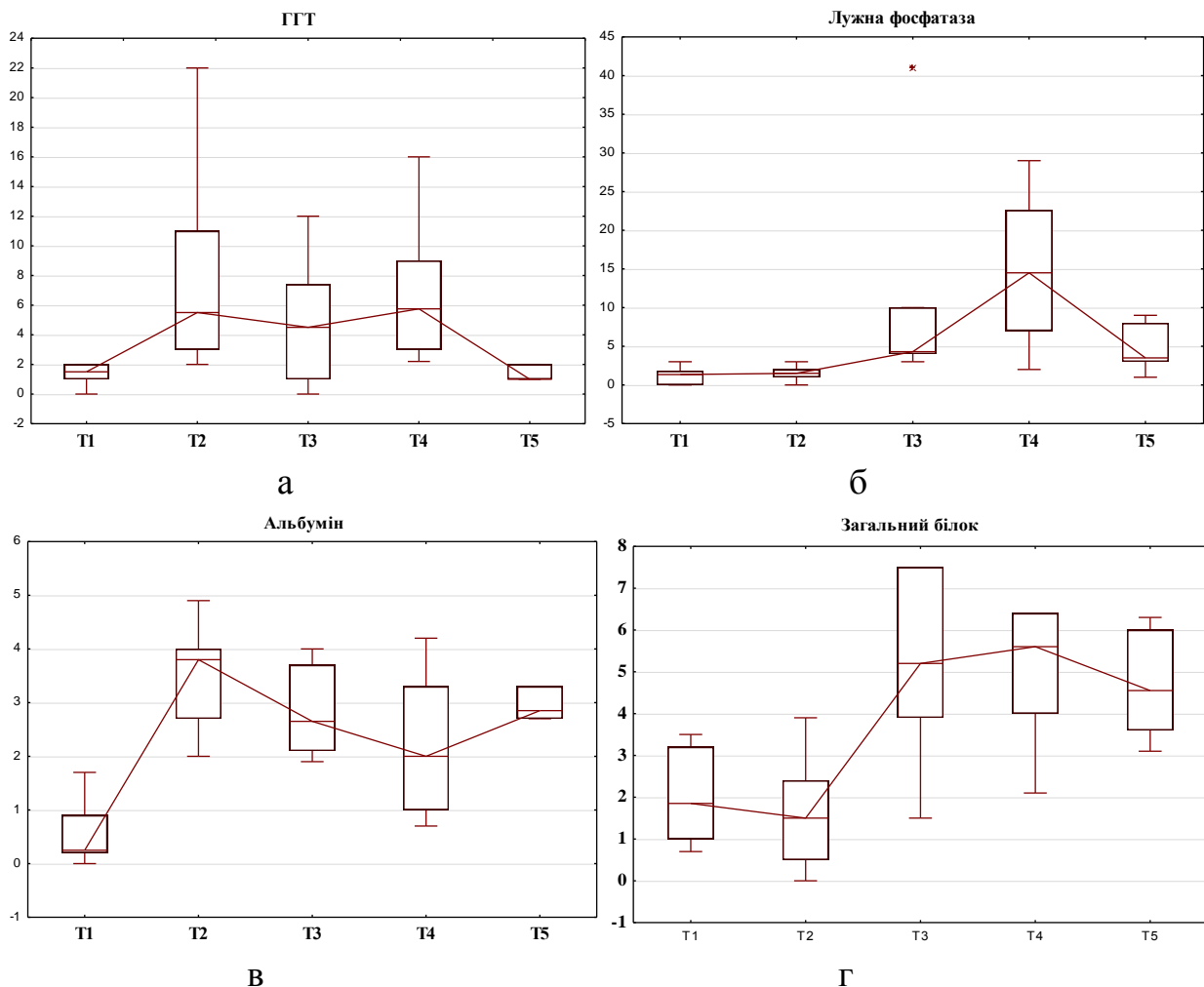


Рис 1. Вміст ГГТ (а), Лужної фосфатази (б), Альбуміну (в), загального білку (г) у біорідині з АС у різні терміни помертвого періоду.

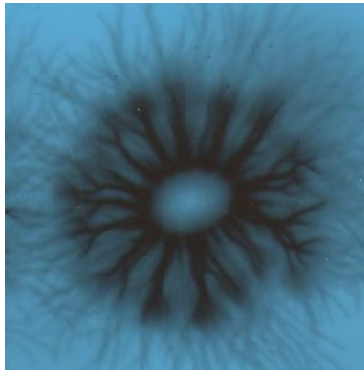
Статистичний аналіз коливань вмісту багатьох компонентів не виявив стабільних взаємозв'язків між змінами їх та ДС смерті. Достовірна різниця медіан концентрацій (значення коефіцієнту Краскелла-Уолліса менше 0,05) спостерігалася для наступних речовин:

- для ГГТ між групами Т1-Т2, Т1-Т4, Т2-Т5, Т4-Т5;
- для лужної фосфатази між групами Т1-Т3, Т1-Т4, Т1-Т5, Т2-Т3, Т2-Т4, Т2-Т5;
- для альбуміну між групами Т1-Т2, Т1-Т3, Т1-Т4, Т1-Т5, Т2-Т4;
- для загального білку між групами Т1-Т3, Т1-Т4, Т1-Т5, Т2-Т3, Т2-Т4;
- для сечової кислоти між групами Т1-Т3, Т1-Т5, Т2-Т3, Т2-Т5, Т4-Т5;
- для кальцію між групами Т1-Т2, Т1-Т3, Т2-Т3, Т2-Т4, Т2-Т5;
- для заліза між групами Т1-Т3, Т1-Т4, Т1-Т5, Т2-Т4;
- для натрію Т1-Т2, Т1-Т3, Т1-Т4, Т2-Т4, Т4-Т5.

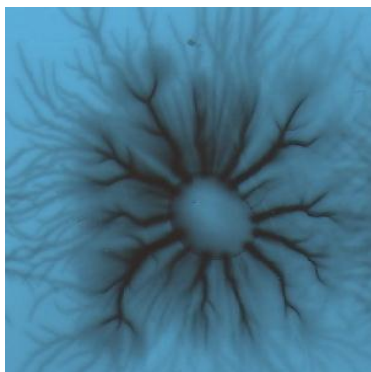
При аналізі кірліанограм проводився обрахунок кількості пікселів у діапазоні сірого кольору з розділенням всього діапазону на 12 піддіапазонів. Для побудови моделі класифікатору використані піддіапазони 1-9. Вигляд кірліанограм наведено на рис. 2.



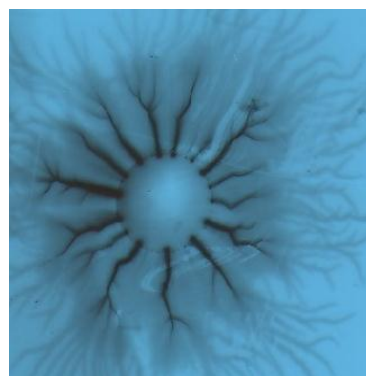
а



б



в



г

Рис. 2. Вигляд фотографій світіння крапель біорідини з тканини Ахіллового сухожилку на рентгенівській плівці.

- а - кірліанограма біорідини з АС (давність смерті 1 доба),
- б - кірліанограма біорідини з АС (давність смерті 4-6 діб),
- в- кірліанограма біорідини з АС (давність смерті 7-9 діб),
- г- кірліанограма біорідини з АС (давність смерті 10-20 діб),

Проведеним статистичним аналізом встановлено, що жоден піддіапазон не має статистично достовірних значень різниці медіан між абсолютно всіма групами з різною давністю смерті. Так у Під1 не встановлена статистична різниця між групами Т2-Т3, і Т4-Т5. У Під2 не встановлена статистична різниця між групами Т1-Т5, і Т3-Т4. У Підб не встановлена статистична різниця між групами Т1-Т2, Т1-Т3 і Т2-Т5. Найкращі результати виявлено для Під3, де не виявлена різниця лише між групами Т3-Т5. Тобто результати кірліанографії демонструють більшу придатність для проведення процедури класифікації об'єкту.

У четвертому розділі проведено узагальнення результатів, обговорення співвідношення явищ що відбуваються у тканині Ахіллового сухожилку у посмертному періоді. При оцінці загальної форми більшості графічних зображень з медіанними значеннями вмісту компонентів у біорідині з АС видно, що вони переважно мають «хвилеподібний», а не лінійний характер. Отримані результати коливань вмісту компонентів хвилеподібного типу, що були визначені біохімічним методом, та про загальне зниження вмісту всіх речовин що відбувається у процесі автолізу загалом співпадають з даними інших авторів (Ю.Л., Мельников, В.В. Жаров, 1978; Ю.С. Ісаєв, 1982). Також отримані дані мали значні коливання в залежності від умов перебування трупа, що також співпадає з даними інших дослідників (А.В.Скребнев,1990; Chong Zhou, Roger W. Byard, 2015). Було виявлено що активність ферментів у біорідині з АС залежить від місця знаходження ферментної системи у органелах клітин. Так на початку посмертного періоду (у перші 2-3 доби) відмічалось підвищення активності ферментів, що розташовані у оболонці клітин (ГГТ), а на 7-9 добу підвищувалась активність амілази та лужної фосфатази, що розташовані внутрішньоклітинно. Характер таких змін відповідає характеру процесів автолізу з зростаючою кількістю клітин що руйнуються під впливом неконтрольованих біохімічних реакцій.

Такий же хвилеподібний характер змін світіння біорідини з АС виявлено до 9-го піддіапазону сірого кольору, з значними коливаннями інтенсивності у піддіапазонах 2-4, з відносною «ізолінією», яка займає проміжок діапазонів №№5-8 і наступним підвищенням у піддіапазоні №9. Найбільші коливання значень між сусідніми діапазонами №№2-4 на кірліанограмах характерні для груп з ДС 1 доба та 7-9 діб (Т1,Т4). Це пов'язане, ймовірно, з тим, що саме в цей час в тканинах відбувається значне пришвидшення інтенсивності біохімічних реакцій, пов'язане з «первинним» (внаслідок початку процесу автолізу у групі з ДС 1 доба), та «кінцевим» у групі з ДС 7-9 діб «зламом мембран». Під час цих періодів тканини насичуються компонентами, які здатні проявляти хімічну та фізичну активність. Для групи з давністю смерті 10-20 діб (Т5) характерна незначна різниця кількості

пікселів у піддіапазонах, хоча загальна хвилеподібність графіку зберігається. Це ймовірно, пов'язане з тим, що на цей час, у тканинах залишається мало біохімічно активних речовин, що здатні вступати у реакції між собою, ще й в умовах дегідратації, яка розвинулася. Загалом світіння біорідини у цій групі більше відповідає світінню не біологічного об'єкту, а світінню характерному для кристалів. Для групи з давністю смерті 2-3 доби та 4-6 діб (T2,T3) коливання інтенсивності світіння у піддіапазонах №№2,3 спрямоване у зворотній бік, що пов'язане з протилежною направленістю енергетичних процесів, а більший рівень інтенсивності світіння біорідини для піддіапазонів №№ 2,3 у групі з ДС 4-6 діб, порівняно з групою з ДС 2-3 доби вказує на більшу «енергетичну спроможність (активність)» біорідини.

Проведено аналіз співвідношень виявлених змін у тканинах АС. Вказано на необхідність обов'язкового урахування впливу факторів зовнішнього середовища при оцінці трупних явищ та особливо результатів біохімічного дослідження, що створює додаткові труднощі при визначенні ДС. На такі ж труднощі було вказано у роботах інших дослідників (Е.Ф. Швед, 2006; Н.В. Коршунов, 2007; А.А. Теньков, 2004).

Під час аналізу статистичними методами отриманих даних виявлено що, для створення моделі класифікатору найбільш придатні методи логістичного аналізу, які дозволяють провести процедуру класифікації об'єкту на вибірці, що має ненормальний характер розподілення та структуру, що непридатна для аналізу непараметричними методами статистичного аналізу. Застосування методу опорних векторів на попередньому етапі логістичного аналізу підтвердило припущення, що проведення процедури класифікації об'єкту на основі методів математичної класифікації логістичного аналізу можливе. Тому у подальшому у роботі було застосовано більш «жорсткий» спосіб класифікації — кластерний аналіз з формуванням вибірки що «вчить» модель.

Запропонована спосіб класифікації (модель) включає в собі створення контрольних груп з визначеними термінами посмертного періоду, розрахунок медіанних значень у кожній групі для результатів біохімічного методу та методу кірліанографії. Проведення класифікації конкретного об'єкту відбувається на основі обчислення відстані Евкліда до умовних центрів груп та застосування методу математичної класифікації, що частіше за всього згадуються у спеціальній літературі як «метод найближчого сусіда». Для результатів макроскопічного дослідження біорідини з АС та мікроскопічного дослідження тканин АС створена шкала оцінки цих змін у балах, що можуть бути включені у вищевказану модель.

Встановлено, що оскільки результати макро- і мікроскопічного дослідження, а також біохімічного дослідження залежать від умов перебування трупа, то ефективність роботи моделі в випадку відсутності звичайних умов перебування трупа буде недостатня. Поряд з цим виявилось що результати біофізичного методу (кірліанографії) дозволяють досить ефективно вирішувати питання визначення давності смерті навіть при нетипових умовах перебування трупа. Ефективність роботи запропонованого способу класифікації становить більше ніж 90%.

Побічним ефектом проведеної роботи було те, що при наявності інформації про час смерті, що може бути отримана під час слідчих дій або з інших джерел, встановлена можливість орієнтовно визначати умови перебування трупа. Така пропозиція не зустрічалася у відомій нам судово-медичній літературі, що присвячена питанню вирішення ДС.

Створений алгоритм визначення ДС смерті з використанням програми «EXEL» дозволяє швидко отримати результати автоматичної класифікації після введення цифрових даних у відповідні комірки таблиць.

ВИСНОВКИ

1. Теоретично обґрунтовано та практично апробовано використання посмертних змін Ахіллового сухожилку та біорідини з нього для визначення давності смерті в пізньому постмортальному періоді з використанням комплексу судово-медичних досліджень (макро- та мікроскопічного, біохімічного, біофізичного).

2. Шляхом дослідження макроскопічних змін біологічної рідини з Ахіллового сухожилку з оцінкою кольору рідини, характеру включень, густоти та її особливостями при заморожуванні та розмерзанні вперше, за звичайних умов перебування трупа, встановлені судово-медичні критерії визначення давності смерті у термін до 20 діб посмертного періоду.

У перші 1-3 доби посмертного періоду рідина має червонуватий колір, однорідну структуру, загалом нагадує гемолізовану кров

В період 4-6 діб рідина більш густа, вміщує краплі рідкого жиру, колір її червонуватий. При замороженні в ній виникають структури, схожі на прошарки желе, які при розмерзанні повністю руйнувалися після перемішування розчину і не виникають знову.

У термін 6-10 діб посмертного періоду біорідина складається з двох фракцій: перша має вигляд прозорої густої маслянистої речовини жовтого кольору, а друга у вигляді рожевих густих мас, які у вигляді окремих крапель стікали зверху першої фракції не змішуючись з нею. У шприці ці дві фракції також не змішуються. При замороженні утворюються світло-сірі желеподібні включення, які мають вигляд звивистих структур. Вказані структури після розмерзання і перемішування дуже повільно розчиняються, але якщо зупинити перемішування вони знов утворюються. Після додавання фізіологічного розчину ці структури швидко розчиняються, а за відсутності подальшого перемішування в цьому розчині утворювалися невеликі деформовані згортки сірого кольору

У період з 10-ї до 20-ї доби від часу настання смерті, біорідина представлена густою масою світло-сірого (іноді майже білого) кольору, яка має пінистий характер з дрібними окремими краплями жовтуватого кольору. Ця рідина не розділяється на прошарки. Вона повільно повністю розчиняється у фізіологічному

розчині з утворенням напівпрозорої сіруватої рідини у якій швидко (за умови відсутності перемішування), виникають сірі прожилки желеподібної речовини.

3. Гістологічне дослідження морфологічних змін клітин та міжклітинної речовини Ахіллового сухожилку після смерті виявило взаємозв'язок між давністю настання смерті та характером набряку тендіоцитів, міжклітинної речовини, ступенем розвитку дезорганізації тканин сухожилку.

Морфологічна тканина тканин Ахіллового сухожилку на протязі 2-3-ї доби постмортального періоду характеризується перицелюлярним набряком та початковим набряком пучків колагенових волокон 1-го порядку

У період 4-6 діб відмічається зникання перицелюлярного набряку та початкова гідратація тендіоцитів. Розвивається набряк рихлої сполучної тканини у ендо- та перитендінію.

Протягом 7-9 діб посмертного періоду фіксується значний набряк ядер сухожильних клітин з наступним їх руйнуванням та фарбуванням прилягаючих крайових частин пучків волокон. У пучках волокон 1-го порядку спостерігається добре виражена гомогенізація

З 10-ї до 20-ї доби спостерігається повне руйнування клітинних елементів, втрата структурності волокнистих структур сухожилку.

4. Встановлена можливість визначення тривалості посмертного періоду за характером коливань вмісту окремих компонентів біорідини з Ахіллового сухожилку (мікро- та макроелементів, ферментів, продуктів деградації білків) та шляхом обчислення відстані Евкліда до центрів груп з визначеними терміном смерті. Характер коливань компонентів біорідини визначених біохімічним методом надає можливість орієнтовного визначення умов перебування трупа.

5. Запропоновано методику визначення давності смерті за особливостями газо-розрядного світіння біорідини з Ахіллового сухожилку у піддіпазоні сірого кольору та з застосуванням логістичних методів аналізу створено модель встановлення давності смерті при розвитку гнильної трансформації трупа шляхом обчислення відстані Евкліда до умовних центрів контрольних груп на основі отриманих цифрових даних. Виявлена висока ефективність запропонованої методики для визначення давності смерті на пізніх етапах посмертного періоду, а також при незвичайних умовах перебування трупа і у випадках неможливості використання інших методів.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Для визначення давності смерті після 2-3 діб посмертного періоду пропонується наступний алгоритм дій:

1. При проведенні експертизи трупа стерильним інструментом вилучається Ахілловий сухожилок без м'язової тканини. Нижня його частина відсікається для проведення гістологічного дослідження.

2. З інших частин сухожилків шляхом стискання отримується рідина і проводиться її макроскопічне та мікроскопічне дослідження. Результати

заносяться у таблицю EXEL на аркуші «ТЕСТ» згідно вказаних критеріїв (додаток А).

3. Перед проведенням біохімічного та біофізичного досліджень до біорідини з Ахіллового сухожилку додається фізіологічний розчин у співвідношенні 1:4.

4. Після отримання результатів біохімічного досліджень та кірліанографії цифрові дані вносяться у відповідні комірки таблиць на аркуші «ТЕСТ». Результати класифікації відображаються автоматично.

СПИСОК ПРАЦЬ ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Повстяний ВА, Козлов СВ. Современное состояние вопроса установления давности наступления смерти (обзор литературы). Буковинський медичний вісник. 2013;Т17, 3(67):130-132.

(Дисертантом проведені набір, аналіз та узагальнення літературних джерел, написання статті)

2. Повстяний ВА. Зміни продуктів розпаду білка та окремих ферментів тканини Ахіллового сухожилля у різні терміни постмортального періоду. Судово-медична експертиза. 2015;(1):60-64.

3. Пісоцька ЛА, Глухова НВ, Повстяний ВА, Євдокименко НМ. Порівняльний аналіз кірліанографічного світіння біологічної тканини з біохімічними процесами Медична інформатика та інженерія. 2015;(4):48-53.

4. Повстяний ВА. Динаміка мікроскопічних змін Ахіллового сухожилку упродовж двох тижнів після настання смерті. Судово-медична експертиза. 2016;(2):38-43.

5. Повстяний ВА. Експертно-діагностичні критерії для встановлення часу настання смерті за результатами дослідження Ахіллового сухожилку у пізньому постмортальному періоді. Morphologia. 2016; 10(3.):239-242.

6. Povstyanyi V. A., Pesotskaya L. A., Glukhova N. V., Yevdokimenko N. M., Nikogosyan L. R., Koshelnik Ye. L. Peculiarities of gas-discharge luminescence of biological fluid from the achilles tendon in the late postmortem period. Journal of Education, Health and Sport. Journal of Education, Health and Sport. 2017;Т7(2):498-508. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.399324>

(Дисертантом проведені набір, аналіз та узагальнення матеріалу для досліджень, статистична обробка, написання статті)

7. Повстяний ВА, Песоцкая ЛА. Глухова НВ. Особенности газоразрядного свечения жидкости из Ахиллового сухожилия и изменений ее отдельных

компонентів в позднем постмортальному періоді. Український журнал медицини, біології та спорту. 2017;2(4):102-108.

(Дисертантом проведені набір, аналіз та узагальнення матеріалу для досліджень, статистична обробка, написання статті)

8. Povstyanyi V. A., Pesotskaya L. A., Yevdokimenko N. M., Vastyanova Ye. V., Ostapenko I. O. Peculiarities of Achilles tendon liquid certain components changes determined biochemically. Journal of Education, Health and Sport. 2017;7(6):1084-1092. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1196604>

(Дисертантом проведені набір, аналіз та узагальнення матеріалу для досліджень, статистична обробка, написання статті)

9. Повстяний ВА, Песоцкая ЛА, Евдокименко НМ. Определение давности смерти и условий пребывания трупа на основании изменений компонентов биологической жидкости из Ахилового сухожилия. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;4(13):38-44.

(Дисертантом проведені набір, аналіз та узагальнення матеріалу для досліджень, статистична обробка, написання статті)

10. Пат. 109781 Україна. МПК 33/48. Спосіб отримання та дослідження біологічної рідини зі сполучної тканини. / Повстяний В.А.; заявник та патентовласник Повстяний В.А.— №u201601442; заявл.18.02.2016; опубл. 12.09.2016, Бюл. № 17 (2017).

(Дисертанту належить ідея та завдання дослідження, узагальнення результатів, підготовка патенту)

11. Пат. України №120502, МПК 2017.01. Спосіб дослідження біологічної рідини. / Пісоцька Л.А., Мінцер О.П., Повстяний В.А, Глухова Н.В., Мішалов В.Д.; заявник та патентовласник Пісоцька Л.А.— №u201703309; заявл.06.04.2017; опубл. 10.11.2017, Бюл. № 21 (2017).

(Дисертанту належить ідея та завдання дослідження, узагальнення результатів, підготовка патенту)

Опубліковані праці апробаційного характеру:

1. Повстяний ВА, Шидловський АВ. Судово-медичне встановлення давності настання смерті по динаміці змін сполучної тканини в пізньому постмортальному періоді. Український молодіжний журнал. 2013; спец. випуск №2:290.

(Дисертантом проведені набір та аналіз матеріалу для дослідження, статистична обробка, написання тез)

2. Евдокименко НМ, Песоцкая ЛА, Повстяний ВА, Глухова НВ, Евдокименко НМ. Корреляция кирлианографических и биохимических характеристик на примере ахилового сухожилия. Валеология: сучасний стан, напрямки та перспективи розвитку. Тези доповідей XIII міжнародної науково-практичної конференції, 9–11 квітня 2015 р. – Харків, 2015.

(Дисертантом проведені набір та аналіз матеріалу для дослідження, написання тез)

АНОТАЦІЯ

Повстяний В.А. Судово-медичне визначення давності смерті у пізньому постмортальному періоді за змінами Ахіллового сухожилку. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.25 – «Судова медицина». – Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, Київ, 2019.

У дисертаційній роботі проведено теоретичне обґрунтування й експериментально встановлено сукупність актуальних судово-медичних діагностичних макро-, мікроскопічних, біохімічних та біофізичних параметрів тканин Ахіллового сухожилку та біорідини з нього, що характеризують зміни які виникають у період 1-20 діб посмертного періоду і дозволяють визначати давність смерті навіть при незвичних умовах перебування трупу.

Ключові слова: постмортальний період, судова медицина, час смерті, ГРВ-візуалізація, біохімічне дослідження.

АННОТАЦИЯ

Повстяный В.А. Судебно-медицинское определение давности смерти в позднем посмертном периоде на основании изменений Ахиллового сухожилия. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук (доктора философии) по специальности 14.01.25 «Судебная медицина». – Национальная академия последипломного образования имени П.Л. Шупика МЗ Украины, Киев, 2019.

Оценка длительности посмертного интервала в позднем посмертном периоде или в случае атипичного развития посмертных изменений из-за необычных условий пребывания трупа является важной проблемой в судебной медицине. Посмертные явления в теле сопровождаются разнообразными изменениями, которые могут быть оценены многими методами.

Целью исследования является разработка комплекса судебно-медицинских критериев для повышения точности определения времени смерти после нескольких дней посмертного периода по данным гистологического, макроскопического, биохимического исследований и явления газоразрядного свечения Ахиллова сухожилия и жидкости полученной из ткани сухожилия.

Материалы и методы. Объектами исследования были посмертные изменения ткани Ахиллова сухожилия, результаты биохимических и биофизического (кирлианография) исследований биожидкости из него на различных этапах посмертного периода. Материал был получен из 34 трупов обоих полов в возрасте от 18 до 86 лет с точно установленным временем смерти.

В диссертационной работе использованы следующие методы:

1.Макроскопический.

2. Гистологическое исследование тканей Ахиллова сухожилия с оценкой характера гидратации и разрушения клеток, а также изменений межклеточного вещества.

3. Биохимическое исследование биологической жидкости из Ахиллова сухожилия для определения содержания ГГТ, щелочной фосфатазы, α -амилазы, холестерина, альбумина, общего белка, мочевины, мочевой кислоты, натрия, железа, кальция.

4. Газоразрядное свечение биологической жидкости из Ахиллова сухожилия (кирлианография).

5. Статистические методы.

Результаты. Теоретически обоснована возможность определения времени смерти на более поздних этапах посмертного периода с использованием новых объектов для судебно-медицинской экспертизы (ахиллово сухожилие и жидкость из него).

Предложен новый подход к решению актуальной научно-практической задачи определения рецепта смерти путем разработки системы критериев судебной медицины на основе комплекса исследований.

Предложен новый подход к построению модели классификатора, основанный на логистическом анализе и результатах различных методов исследования, для определения времени смерти путем оценки изменений в тканях ахиллова сухожилия и биологической жидкости из нее с учетом влияния факторов окружающей среды.

Впервые рассмотрены особенности газоразрядной люминесценции биологической жидкости из ахиллова сухожилия, которая позволяет определить время наступления смерти при развитии гниения трупа и нетипичной среды, когда другие методы не могут быть применены.

Ключевые слова: посмертный интервал, судебная медицина, время смерти, ГРВ-визуализация, биохимическое исследование.

SUMMARY

Povstyanyi V.A. Forensic determination time of death on changes in the Achilles tendon in later postmortem period. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of a candidate of medical sciences (PhD) in specialty 14.01.25 «Forensic medicine». – Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, MH of Ukraine, Kyiv, 2019.

Post-mortem interval estimation in later postmortem period or in case atypical progression posmortem changes are very important problems of forensic medicine. Posthumous phenomena in body are accompanied by diverser changes which may be evaluated a lot of methods .

The aim of the study was to develop a complex of criteria forensic medical for improving the accuracy of establishing the time of death after some days postmortem interval according to histological, macroscopic, biochemical studies and the

phenomenon of gas-discharge luminescence of Achilles tendon and the fluid was extracted from it.

Materials and methods. The objects of the study were micropreparations of tissue of the Achilles tendon, results of biochemical and gas-discharge luminescence researches of the liquid from it at different time of the post-mortem period. The material was taken in 34 corpses of both sexes from the age of 18 to the 86 with definite time of death.

The research used the following methods.

1. Macroscopic.

2. Histological examination of the Achilles tendon tissues with an assessment of the nature of hydration and cell destruction, as well as changes in the intercellular substance.

3. Biochemical study of biological fluid from the Achilles tendon to determine the content of GGT, alkaline phosphatase, α -amylase, cholesterol, albumin, total protein, urea, uric acid, sodium, iron, calcium.

4. Gas-discharge luminescence of biological fluid from the Achilles tendon.

5. Statistical methods.

Results and conclusions. The possibility of determining the death time at later stages of the post-mortem period with the use of new objects for forensic medical research (Achilles tendon and fluid from it) is theoretically substantiated.

A new approach to solving the actual scientific and practical task of determining the prescription of death by developing a system of criteria forensic medicine based on a complex of research is proposed.

A new approach to constructing a classifier model based on logistic analysis and the results of various research methods is proposed to evaluate the time of death by assessing changes in the Achilles tendon tissues and biological fluid from it, taking into account the influence of factors environment.

For the first time, features of gas-discharge luminescence of biological fluid from the Achilles tendon are considered, which allows determining the time limits of death in the development putrefaction of corpse and atypical environment, when other methods can not be applied.

Key words: post-mortem interval, forensic medicine, time of death, GAS-discharge luminescence, biochemical study.

Додаток А

Оцінка змін що виявляються при макро- та мікроскопічному дослідженні біорідини та тканин АС (у балах)

Опис гістологічної картини	Опис макроскопічної картини біорідини
Чіткі межі волокон- 0 балів	Колір червоний, або його відтінки. Структура однорідна, рідка. Нагадує «лакову» кров- 1 бал
Наявність початкового набухання волокон- 1 бал	Колір-червонуватий з вкрапленнями жиру. При замороженні виникають желеподібні прошарки, які при розмерзанні зникають- 2 бали
Набряк волокон з частковою втратою структурності- 2 бали	Дві фракції: перша-прозора, густа масляниста, а друга-рожеві густі маси, які стікають зверху першої. При замороженні світлі желеподібні включення, у вигляді звивистих структур. При розмерзанні вони розчиняються і знов утворюються при нерухомому положенні шприца. Після розведення вони розчиняються з згустками сірого кольору- 3 бали

Значна гомогенізація міжклітинної речовини - 3 бали	Колір-світло-сірий. Дуже густа однорідна. Характер-пінистий з дрібними вкрапленнями жовтуватого кольору. Розчиняється погано, з утворенням напівпрозорого сіруватого розчину в якому виникають сірі прожилки- 4 бали
Перицелюлярний набряк лише навколо окремих клітин- 0 балів	
Поява перицелюлярного набряку біля багатьох клітин- 1 бал	
Наявність більшості значно гідратованих клітин- 2 бали	
Руйнування більшості клітин- 3 бали	

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АС	Ахілловий сухожилок
ГГТ	гамма-глутамілтрансфераза
ГРВ	газо-розрядна візуалізація
ДЗ ДМА	Державний заклад Дніпропетровська медична академія
ДС	давність смерті
Під1,2...	піддіпазони сірого кольору
T1-T5	групи з визначеним часом смерті