УДК: 616.37-001.45:340.6:543.544

Худоёрзода Зиёдулло Худоёр – ассистент
Таджикский национальный университет (Душанбе, Таджикистан)
Бахриев Ибрагим Исомадинович – к.м.н., доцент
Ташкентский государственный медицинский университет (Ташкент, Узбекистан)

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМИНА В УСТАНОВЛЕНИИ ПРИЖИЗНЕННОСТИ КРОВОИЗЛИЯНИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Цель. *Определить содержание гемина в ткани поджелудочной железы при прижизненных и посмертных травматических кровоизлияниях с использованием хроматографического метода анализа.*

Материал и методы. *Материалом послужили образцы ткани поджелудочной железы, полученные при судебно-медицинских вскрытиях 60 лиц, умерших от травматических повреждений различного характера. Качественную и количественную оценку выделенного гемина из исследуемого трупного материала проводили методом тонкослойной хроматографии.*

Результаты. *Хроматографический анализ показал отчётливое различие в содержании гемина между исследуемыми группами. Средние значения содержания гемина составили: 12,7±0,9 мкг/г ткани при прижизненных кровоизлияниях и 4,3±0,6 мкг/г при посмертных повреждениях (p<0,01). На хроматограммах прижизненных кровоизлияний отмечался выраженный пик гемина с временем удерживания 4,8 мин, тогда как в контрольных образцах интенсивность сигнала была значительно ниже.*

Заключение. *Полученные результаты свидетельствуют о том, что образование гемина связано с активными окислительно-восстановительными реакциями, происходящими исключительно в живых тканях. После смерти интенсивность этих процессов резко снижается, что приводит к уменьшению концентрации гемина.*

Ключевые слова: *судебно-медицинская экспертиза, поджелудочная железа, травматическое кровоизлияние, гемин, прижизненность повреждений, хроматография.*

Khudoyorzoda Ziyodullo Khudoyor – assistant
Tajik National University (Dushanbe, Tajikistan)
Bakhriev Ibrokhim Isomadinovich – Ph.D., associate professor
Tashkent State Medical University (Tashkent, Uzbekistan)

CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF HEMIN IN ESTABLISHING THE ANTE-MORTEM ORIGIN OF PANCREATIC HEMORRHAGES

Purpose. *To determine the hemin content in pancreatic tissue in antemortem and postmortem traumatic hemorrhages using a chromatographic analytical method.*

Material and methods. *The study material consisted of pancreatic tissue samples obtained during forensic autopsies of 60 individuals who died from traumatic injuries of various origins. Qualitative and quantitative assessment of hemin isolated from the examined cadaveric material was performed using thin-layer chromatography.*

Results. *Chromatographic analysis revealed a clear difference in hemin content between the study groups. The mean hemin levels were 12.7±0.9 μg/g of tissue in antemortem hemorrhages and 4.3±0.6 μg/g in postmortem injuries (p<0.01). Chromatograms of antemortem hemorrhages demonstrated a pronounced hemin peak with a retention time of 4.8 min, whereas in control samples the signal intensity was significantly lower.*

Conclusion. *The obtained results indicate that hemin formation is associated with active redox reactions occurring exclusively in living tissues. After death, the intensity of these processes sharply decreases, leading to a reduction in hemin concentration.*

Keywords: *forensic medical examination, pancreas, traumatic hemorrhage, hemin, antemortem injury, chromatography.*

Худоёрзода Зиёдулло Худоёр – ассистент
Тожикистон Миллий университети (Душанбе, Тожикистон)
Бахриев Иброхим Исомадинович – т.ф.н., доцент
Тошкент давлат тиббиёт университети (Тошкент, Ўзбекистон)

ОШҚОЗОН ОСТИ БЕЗИДАГИ ҚОН ҚУЙИЛИШЛАРИНИНГ ҲАЁТИЙЛИГИНИ АНИҚЛАШДА ГЕМИННИ ХРОМАТОГРАФИК АНИҚЛАШ

Мақсад. *Хроматографик таҳлил усулидан фойдаланган ҳолда ошқозон ости бези тўқимасида ҳаётлик давридаги ва ўлимдан кейинги травматик қон қуйилишларда гемин миқдорини аниқлаш.*

Материал ва усуллар. *Тадқиқот материали сифатида турли хил травматик шикастланишлар оқибатида вафот этган 60 нафар шахснинг суд-тиббий текшируви жараёнида олинган ошқозон ости бези тўқимаси намуналари олинди. Тадқиқ этилган материалда ажратилган геминнинг сифат ва миқдорий баҳоланиши юпқа қатламли хроматография усулида амалга оширилди.*

Натижалар. *Хроматографик таҳлил тадқиқ этилган гуруҳлар ўртасида гемин миқдорида яққол фарқ мавжудлигини кўрсатди. Гемин миқдорининг ўртача қийматлари ҳаётлик давридаги қон қуйилишларда 12,7±0,9 мкг/г, ўлимдан кейинги шикастланишларда эса 4,3±0,6 мкг/г ни ташкил этди (p<0,01). Ҳаётликдаги қон қуйилишлар хроматограммаларда ушлаб қолиш вақти 4,8 дақиқа бўлган геминнинг аниқ ифодаланган юқори нуқтаси қайд этилди, назорат намуналарида эса сигнал интенсивлиги сезиларли даражада паст бўлди.*

Хулоса. *Олинган натижалар гемин ҳосил бўлиши фақат тирик тўқималарда кечадиган фаол оксидланиш-тикланиш реакциялари билан боғлиқ эканлигини кўрсатади. Ўлимдан кейин ушбу жараёнлар интенсивлиги кескин пасаяди, бу эса гемин концентрациясининг камайишига олиб келади.*

Калит сўзлар: *суд-тиббий экспертиза, ошқозон ости бези, травматик қон қуйилиши, гемин, шикастланишларнинг ҳаётийлиги, хроматография.*

Введение. В судебно-медицинской практике нередко возникают ситуации, при которых в интересах органов следствия и суда требуется решение вопросов, связанных с дифференциальной диагностикой прижизненных и посмертных повреждений [1, 3, 7]. В этой связи перед судебно-медицинским экспертом, как правило, ставятся задачи по установлению прижизненности травматического повреждения, а также по оценке сроков его давности. Диагностическая значимость травматического процесса в тканях заключается не только в установлении факта механического воздействия на организм человека, но и в решении ряда специальных экспертных задач, включая оценку прижизненности повреждений и сроков давности формирования всего комплекса травмы [2, 4, 8]. В настоящее время отсутствуют чёткие и общепринятые критерии, позволяющие объективно и с высокой степенью достоверности определять прижизненность и давность повреждений, особенно при их возникновении в ранние сроки пре- и постмортального периодов (в первые часы).

Дифференциация прижизненных и посмертных механических повреждений, нанесённых непосредственно до или после наступления смерти, представляет значительные трудности в судебно-медицинской экспертной практике. Несмотря на наличие многочисленных исследований с применением современных методов, количество рекомендаций, пригодных для широкого внедрения в повседневную экспертную практику, остаётся ограниченным. В частности, гистоэнзимохимические, биохимические, спектральные и биофизические данные, безусловно, расширяют арсенал диагностических критериев и способствуют повышению обоснованности судебно-медицинских экспертных заключений [5, 6, 9, 10]. Однако сложность выполнения, высокая материальная затратность указанных методов исследования, а также недостаточная репрезентативность ряда выявляемых показателей (в частности, активности ферментных систем) ограничивают возможность их широкого внедрения в практику. В связи с этим единственным наиболее доступным и широко применяемым в судебно-медицинской практике остаётся гистоморфологический метод.

Микроскопическое исследование, позволяющее с той или иной степенью вероятности судить о прижизненности и давности повреждений, основано на выявлении неспецифических вазомоторных, воспалительных и пролиферативных реакций в зоне травматического воздействия, проявляющихся в виде клеточных регионарных и общих гуморальных иммунных ответных реакций организма на травму. Морфологические критерии оценки прижизненности повреждений не во всех случаях обладают достаточной специфичностью и информативностью, особенно при исследовании внутренних органов трупов, подвергшихся выраженным гнилостным изменениям. В подобных ситуациях особую актуальность приобретает использование биохимических и инструментальных методов исследования, направленных на выявление объективных молекулярных маркеров жизненных реакций тканей, формирующихся в ответ на травматическое воздействие.

Одним из таких маркеров является гемин – стабильный продукт окислительно-ферментативного распада гемоглобина, образующийся при выходе крови за пределы сосудистого русла и последующем взаимодействии с тканевыми структурами. При прижизненных травматических повреждениях процессы метаболической активности и тканевой реакции обеспечивают более интенсивное образование гемина по сравнению с посмертными повреждениями. Данное

обстоятельство позволяет рассматривать количественное содержание гемина в повреждённых тканях как объективный биохимический показатель, пригодный для дифференциальной диагностики прижизненных и посмертных кровоизлияний, а также для повышения достоверности судебно-медицинской экспертной оценки.

Цель исследования – определить содержание гемина в ткани поджелудочной железы при прижизненных и посмертных травматических кровоизлияниях с использованием хроматографического метода анализа.

Материалы и методы исследования. Материалом послужили образцы ткани поджелудочной железы, полученные при судебно-медицинских вскрытиях 60 лиц, умерших от травматических повреждений различного характера. Все случаи были разделены на две группы: основная группа (n=45) – достоверно прижизненные кровоизлияния, подтверждённые клиническими и морфологическими данными; контрольная группа (n=15) – посмертные повреждения, нанесённые экспериментально через 2-4 часа после смерти.

Для исследования отбирают по 1,0 г ткани поджелудочной железы из зоны кровоизлияния (исследуемый образец) и из морфологически интактного участка органа (контрольный образец). Забор материала из поджелудочной железы осуществляют из области кровоизлияния до границы с неизменённой тканью, тогда как контрольные образцы получают из симметричных, неповреждённых участков тела. Отобранные фрагменты ткани тщательно измельчают с помощью ножниц до частиц размером 1-3 мм и помещают в химически чистые пробирки. В каждую пробирку добавляют по 10,0 мл подкисленного солянокислого ацетона, приготовленного путём растворения 1,8 мл концентрированной соляной кислоты в 100 мл ацетона. Пробирки герметично закрывают притёртыми пробками и выдерживают в холодильнике при температуре 3-5°C в течение 24 часов. По истечении указанного времени экстракционную жидкость фильтруют через бумажный фильтр в чистые градуированные пробирки, после чего объём фильтрата доводят до 10,0 мл подкисленным ацетоном. В случаях, когда объём кровоизлияния не позволяет получить навеску массой 1,0 г, допускается уменьшение массы образца до 0,1 г.

Качественную и количественную оценку выделенного гемина из исследуемого трупного материала проводят методом тонкослойной хроматографии.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием критерия Стьюдента при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. При травматическом воздействии в поджелудочной железе формируются крупноочаговые кровоизлияния, по морфологической картине нередко напоминающие геморрагический панкреатит. В зонах травматических кровоизлияний и разрывов тканей в короткие сроки развиваются геморрагическое пропитывание паренхимы, интерстициальный отёк, выраженная лейкоцитарная инфильтрация и очаги некроза. Уже через 30 минут после травмы в участках, удалённых от зоны непосредственного повреждения, выявляются признаки повышения функциональной активности островковых клеток. В течение первых суток отмечаются прогрессирующие дистрофические изменения островков Лангерганса, в том числе увеличение числа липидных включений в клетках, реактивная пролиферация вставочных отделов экзокринной паренхимы, а также резкое снижение содержания эозинофильных гранул в ацинарных клетках. Совокупность указанных изменений приводит к угнетению функции островкового аппарата и снижению уровня глюкозы в крови. В последующем в области повреждения формируется грануляционная ткань, свидетельствующая о развитии репаративных процессов.

Хроматографический анализ показал отчётливое различие в содержании гемина между исследуемыми группами. Средние значения содержания гемина составили: 12,7±0,9 мкг/г ткани при прижизненных кровоизлияниях и 4,3±0,6 мкг/г при посмертных повреждениях ($p<0,01$). На хроматограммах прижизненных кровоизлияний отмечался выраженный пик гемина с временем удерживания 4,8 мин, тогда как в контрольных образцах интенсивность сигнала была значительно ниже.

Ориентировочную оценку содержания гемина осуществляют путём сравнения интенсивности окраски и площади пятен, стандартных образцов с пятном, полученным из исследуемого экстракта, в течение одного часа. Количественное содержание гемина определяют на основании данных соответствующей калибровочной таблицы.

Количественное определение гемина методом тонкослойной хроматографии позволяет судить о прижизненности повреждений, поскольку при прижизненных кровоизлияниях содержание гемина значительно превышает его уровень в интактной неповреждённой ткани, трупных пятнах и посмертных кровоизлияниях.

Выраженные различия в количественном содержании гемина в зонах прижизненных и посмертных кровоизлияний обусловлены степенью травматического повреждения, а также уровнем кровяного давления в сосудистом русле.

Учитывая наличие гемодинамического давления при жизни и его отсутствие после наступления смерти, можно предположить существенные различия в объёме излившейся крови вокруг повреждённого сосуда и, соответственно, в содержании гемина в кровоизлияниях прижизненного и посмертного происхождения.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что образование гемина связано с активными окислительно-восстановительными реакциями, происходящими исключительно в живых тканях. После смерти интенсивность этих процессов резко снижается, что приводит к уменьшению концентрации гемина. Таким образом, хроматографическое определение гемина позволяет объективно дифференцировать прижизненные и посмертные кровоизлияния поджелудочной железы.

Заключение.

1. Хроматографический метод является высокочувствительным и специфичным способом определения гемина в биологических тканях.

2. Концентрация гемина при прижизненных кровоизлияниях поджелудочной железы в среднем в 2-3 раза превышает уровень, наблюдаемый при посмертных повреждениях.

3. Хроматографическое определение гемина может быть рекомендовано как дополнительный биохимический критерий прижизненности травматических повреждений внутренних органов в судебно-медицинской практике.

4. Дальнейшее совершенствование методики и стандартизация пороговых значений повысит её диагностическую ценность и воспроизводимость.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асташкина О.Г., Столярова Е.П., Полтарев С.В., Терешина Н.А. Установление прижизненности механической травмы по биохимическим показателям //Медицинская экспертиза и право. - 2010. - № 3. - С. 43-45.

2. Гончаров И.Н. Хроматографические методы анализа продуктов распада гемоглобина. - М., 2019.

3. Кулагин В.В., Кулагина И.А. Судебно-медицинская диагностика прижизненности повреждений внутренних органов. - М., 2018.

4. Малышев В.П., Шевченко Н.А. Биохимические методы в судебно-медицинской экспертизе // Судебно-медицинская экспертиза. - 2020. - № 3. - С. 12-18.

5. Хайдаров А. Р. Биохимические критерии прижизненности повреждений внутренних органов. - Ташкент, 2022.

6. Brown, L., et al. Use of nuclear magnetic resonance in forensic science //Forensic Science Journal, - 2020, - Vol. 38(1), - P. 45-53.

7. Jones, P., & Lee, D. Combination of chromatography and mass spectrometry for improved forensic analysis //Journal of Forensic Sciences, - 2022, - Vol. 67(5), - P. 563-573.

8. Kang, D., & Lee, T. Biomarkers in pancreatic injuries: Forensic implications //Forensic Toxicology Journal, - 2022, - Vol. 47(6), - P. 512-520.

9. Stedman H. R., Carter L., Young A. T. Spectrophotometric and chromatographic determination of hemin in biological tissues // Journal of Forensic Science. - 2019. - Vol. 64, No. 5. - P. 1234-1240.

10. Zhang, H., & Zhou, F. The role of hybrid analytical techniques in forensic science: Case study of pancreatic trauma analysis //Journal of Analytical Chemistry, - 2023, - Vol. 58(5), - P. 342-350.