



ОЦЕНКА ПРИЖИЗНЕННОСТИ ЗАБРЮШИННЫХ КРОВОИЗЛИЯНИЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕМИНА

Калжанов Мансур Махсетбаевич
Бахриев Иброхим Исомадинович

*Ташкентский государственный медицинский университет,
Ташкент, Узбекистан*

Актуальность. Установление прижизненности механических повреждений относится к числу наиболее сложных задач судебно-медицинской экспертизы. Особые диагностические затруднения возникают при непродолжительном промежутке времени между причинением травмы и наступлением смерти, когда характерные морфологические проявления воспалительной и репаративной реакций ещё не успевают сформироваться. В подобных ситуациях результаты макроскопического и гистологического исследований не всегда позволяют однозначно судить о времени возникновения повреждения относительно момента смерти.

Судебно-медицинская оценка кровоизлияний в мягкие ткани брюшного пространства имеет дополнительные особенности, обусловленные анатомическим строением данной области, наличием рыхлой соединительной ткани и возможностью распространения крови по межтканевым пространствам. Выраженность и распределение кровоизлияний зависят не только от характера травматического воздействия, но и от объёма повреждённых сосудов, локализации очага, гемодинамических условий и продолжительности посттравматического периода. Поэтому само по себе обнаружение крови в тканях не является



исчерпывающим доказательством прижизненного происхождения повреждения.

Повышение объективности экспертных заключений предполагает комплексное применение морфологических и лабораторных методов. Перспективным направлением является исследование продуктов превращения гемоглобина, в частности гемина – железосодержащего производного гема. Количественная оценка гемина может отражать накопление крови и изменения гемсодержащих соединений в зоне кровоизлияния. Спектрофотометрический анализ позволяет получать воспроизводимые количественные показатели при соблюдении стандартизованных условий пробоподготовки и измерения. Вместе с тем диагностическая интерпретация этих показателей требует сопоставления с морфологической картиной и контрольными образцами.

Цель исследования. Оценить информативность количественного спектрофотометрического определения гемина в мягких тканях брюшинного пространства и возможности его применения в качестве дополнительного лабораторного показателя при судебно-медицинской оценке прижизненных травматических кровоизлияний.

Материалы и методы. Исследовано 192 образца мягких тканей брюшинного пространства, полученных при судебно-медицинских исследованиях трупов и объединённых в 96 пар. Основную группу составили 48 пар образцов, относящихся к случаям с установленными прижизненными травматическими кровоизлияниями. Контрольная группа включала 48 пар образцов тканей без кровоизлияний. Сравнение проводили по количественному содержанию гемина в тканевых экстрактах.

Для биохимического исследования отбирали навески тканей массой 1,0 г; при недостаточном объёме доступного материала допускалось уменьшение навески до 0,1 г. В основной группе образцы получали из



зоны кровоизлияния, включая переходный участок на границе с визуально неизменённой тканью. Контрольные образцы отбирали из макроскопически интактных участков забрюшинных мягких тканей. Материал измельчали ножницами до фрагментов размером 1-3 мм либо гомогенизировали. Подготовку образцов осуществляли при температуре $+3...+5^{\circ}\text{C}$.

Экстракцию гемсодержащих соединений проводили подкисленным ацетоном, приготовленным путём добавления 1,8 мл концентрированной соляной кислоты к 100 мл ацетона. К каждой навеске добавляли 10,0 мл экстрагента, после чего пробирки герметично закрывали и выдерживали в течение 24 часов при $+3...+5^{\circ}\text{C}$. В отдельных случаях перед выдерживанием проводили дополнительную гомогенизацию продолжительностью 1-2 минуты. Затем образцы центрифугировали при 3000-5000 об/мин в течение 10-15 минут. Надосадочную жидкость фильтровали через бумажный фильтр, доводя объём фильтрата до 10,0 мл тем же экстрагентом.

Спектрофотометрическое исследование выполняли на приборе UV-2600 (Shimadzu, Япония) в ультрафиолетовом диапазоне 330-400 нм. При анализе спектров учитывали положения и интенсивность максимумов поглощения в областях 381-382 и 385-386 нм. Для количественного определения использовали оптическую плотность при длине волны 381 нм. Калибровочный график строили с применением 0,125%-ного стандартного раствора гемина при количестве аналита от 5 до 75 мкг в конечном объёме раствора 4,0 мл. Полученные по калибровочному графику значения пересчитывали с использованием коэффициента 2,5.

Результаты обрабатывали методами описательной и сравнительной статистики в программе Statistica 10.0. В протоколе исследования был предусмотрен порог статистической значимости $p < 0,05$. Поскольку конкретные значения p и применённый критерий сравнения в исходных



материалах не приведены, статистическая значимость различий в настоящих тезисах отдельно не утверждается.

Результаты исследования. При спектрофотометрическом анализе установлены выраженные количественные различия содержания гемина в тканях с прижизненными травматическими кровоизлияниями и в контрольных образцах без кровоизлияний. Средняя концентрация гемина в основной группе составила $6,8 \pm 0,7$ мкг/мг ткани, тогда как в контрольной группе – $1,4 \pm 0,3$ мкг/мг ткани. Таким образом, исследуемый показатель в зоне прижизненных кровоизлияний был приблизительно в 4,9 раза выше контрольного уровня. Абсолютная разница средних значений составила 5,4 мкг/мг ткани.

Повышенное содержание гемина в области кровоизлияния может быть обусловлено выходом крови за пределы сосудистого русла, накоплением гемоглобина и последующими превращениями гемсодержащих соединений. Полученные данные свидетельствуют о возможности выявления биохимических различий между геморрагически изменёнными и визуально интактными мягкими тканями забрюшинного пространства.

Обсуждение. Практическое значение количественного определения гемина состоит в получении дополнительной лабораторной характеристики тканей, подвергшихся травматическому кровоизлиянию. В экспертной практике это особенно актуально при ранних повреждениях, когда клеточные признаки воспалительной реакции выражены слабо, а интерпретация только морфологических изменений затруднена. Сопоставление спектрофотометрических показателей с макроскопической картиной, гистологическими данными и обстоятельствами травмы потенциально способно повысить обоснованность комплексной судебно-медицинской оценки.

Вместе с тем повышенная концентрация гемина не может



рассматриваться как специфический признак прижизненности сама по себе. Содержание гемсодержащих соединений зависит от объёма излившейся крови, характеристик ткани, условий экстракции, длительности посмертного периода и химических превращений гемоглобина. Кроме того, спектральные полосы поглощения различных производных гема могут перекрываться, что ограничивает аналитическую специфичность измерения на одной длине волны. Поэтому интерпретация полученных значений должна учитывать особенности пробоподготовки и возможные сопутствующие факторы.

Существенным ограничением представленного исследования является состав контрольной группы: сравнивались ткани с подтверждёнными прижизненными кровоизлияниями и ткани без кровоизлияний. Отдельная группа образцов с подтверждёнными посмертными кровоизлияниями не исследовалась. Следовательно, выявленное различие концентраций гема характеризует наличие геморрагических изменений, но не позволяет непосредственно определить чувствительность и специфичность метода для дифференциальной диагностики прижизненных и посмертных кровоизлияний. Для решения этой задачи необходимы дополнительные исследования с соответствующим контролем, оценкой влияния посмертного интервала и установлением диагностических пороговых значений.

Дальнейшая разработка метода должна предусматривать стандартизацию массы навесок и расчёта концентрации на единицу массы ткани, проверку селективности спектрофотометрического сигнала, а также сопоставление количественных результатов с морфологическими критериями. Такой подход позволит определить место исследования гема в алгоритме комплексной судебно-медицинской диагностики повреждений мягких тканей брюшинного пространства.



Выводы. В мягких тканях забрюшинного пространства с установленными прижизненными травматическими кровоизлияниями среднее содержание гемаина составило $6,8 \pm 0,7$ мкг/мг, что приблизительно в 4,9 раза превышало показатель тканей без кровоизлияний ($1,4 \pm 0,3$ мкг/мг).

Спектрофотометрическое определение гемаина позволяет количественно характеризовать биохимические изменения в зоне травматического кровоизлияния и может использоваться как дополнительный метод исследования наряду с морфологической оценкой. Для подтверждения диагностической эффективности метода именно в установлении прижизненности необходимы исследования с отдельной группой посмертных кровоизлияний и последующей оценкой чувствительности, специфичности и пороговых концентраций.