

ГЕМИН КАК БИОХИМИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ ПРИЖИЗНЕННОСТИ ТРАВМАТИЧЕСКИХ КРОВОИЗЛИЯНИЙ

Худоёрзода Зиёдулло Худоёр – ассистент

*Таджикский национальный
университет (Душанбе, Таджикистан)*

Бахриев Иброхим Исомадинович – к.м.н., доцент

*Ташкентский государственный
медицинский университет, (Ташкент, Узбекистан)*

Аннотация. Проведено исследование диагностической значимости гемина как биохимического критерия прижизненности травматических кровоизлияний. Материалом исследования послужили образцы ткани поджелудочной железы, полученные при судебно-медицинском исследовании 60 трупов лиц, умерших от травматических повреждений. Определение гемина выполняли методом тонкослойной хроматографии. Установлено, что средняя концентрация гемина при прижизненных кровоизлияниях составила $12,7 \pm 0,9$ мкг/г ткани, тогда как в контрольной группе – $4,3 \pm 0,6$ мкг/г ($p < 0,01$). Полученные результаты свидетельствуют о высокой диагностической информативности количественного определения гемина и позволяют рассматривать его как объективный биохимический критерий при установлении прижизненности травматических кровоизлияний в судебно-медицинской практике.

Ключевые слова: *судебно-медицинская экспертиза, прижизненность повреждений, травматические кровоизлияния, гемин, биохимические критерии, тонкослойная хроматография, судебно-медицинская диагностика.*

Введение. Установление прижизненности травматических кровоизлияний является одной из наиболее сложных и практически значимых задач судебно-

медицинской экспертизы. Решение данного вопроса имеет существенное значение при реконструкции обстоятельств травмы, определении механизма её образования, последовательности повреждений, а также при оценке причинно-следственной связи между травмой и наступлением смерти. Особые диагностические трудности возникают в случаях, когда повреждения причинены в предагональном периоде либо непосредственно после наступления смерти, поскольку в эти сроки тканевые реакции выражены минимально или полностью отсутствуют [2, 5, 11, 14].

Традиционно судебно-медицинская диагностика прижизненности повреждений основывается на выявлении морфологических признаков воспалительной и сосудистой реакции тканей. Однако формирование большинства гистологических критериев требует определённого времени после травматического воздействия, что существенно ограничивает их диагностическую ценность при минимальных сроках переживания. Кроме того, выраженность морфологических изменений зависит от индивидуальных особенностей организма, характера повреждения, сопутствующих патологических процессов и степени выраженности посмертных изменений, что нередко затрудняет объективную экспертную оценку [3, 7, 8, 13].

В последние годы всё большее внимание уделяется разработке объективных биохимических маркёров, отражающих жизненные реакции тканей на травматическое воздействие. В отличие от морфологических изменений, многие биохимические показатели характеризуются высокой чувствительностью, возможностью количественной оценки и большей воспроизводимостью результатов. Это открывает новые перспективы для совершенствования судебно-медицинской диагностики прижизненности повреждений, особенно в сложных экспертных ситуациях [1, 4, 9, 10].

Одним из перспективных биохимических маркёров является гемин – стабильный продукт окислительной деградации гемоглобина, образующийся при разрушении эритроцитов и последующих превращениях гемовой группы.

Его образование связано с протеканием окислительно-восстановительных процессов в жизнеспособных тканях, тогда как после прекращения кровообращения и угасания клеточного метаболизма интенсивность этих процессов значительно снижается. Благодаря относительной химической стабильности гемин способен сохраняться в тканях длительное время, что позволяет рассматривать его как потенциально объективный показатель прижизненности травматических кровоизлияний [1, 4, 6, 12].

Несмотря на имеющиеся сведения о биохимических превращениях гемоглобина, диагностическая значимость количественного определения гемина в судебно-медицинской практике изучена недостаточно. До настоящего времени отсутствуют единые критерии интерпретации его содержания при прижизненных и посмертных кровоизлияниях, что обуславливает необходимость дальнейших исследований в данном направлении.

Цель исследования. Оценить диагностическую значимость количественного определения гемина как биохимического критерия прижизненности травматических кровоизлияний.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования послужили образцы ткани поджелудочной железы, полученные при судебно-медицинском исследовании 60 трупов лиц, умерших вследствие травматических повреждений различного характера. В зависимости от характера кровоизлияний все наблюдения были разделены на две группы. Основную группу составили 45 случаев с достоверно установленными прижизненными травматическими кровоизлияниями, подтверждёнными совокупностью клинических, следственных и морфологических данных. Контрольную группу составили 15 наблюдений без признаков травматических кровоизлияний, в которых ткань поджелудочной железы не имела макроскопических и микроскопических патологических изменений.

Для исследования из каждого случая отбирали по 1,0 г ткани поджелудочной железы из зоны кровоизлияния (исследуемый образец) и из

морфологически неизменённого участка органа (контрольный образец). Забор материала осуществляли из области кровоизлияния с включением переходной зоны к интактной ткани, тогда как контрольные образцы получали из удалённых неповреждённых участков поджелудочной железы. При недостаточном объёме кровоизлияния массу исследуемого образца уменьшали до 0,1 г.

Полученные образцы измельчали до фрагментов размером 1–3 мм, помещали в химически чистые стеклянные пробирки и заливали 10,0 мл подкисленного ацетона, приготовленного путём добавления 1,8 мл концентрированной соляной кислоты к 100 мл ацетона. Пробирки герметично закрывали притёртыми пробками и выдерживали при температуре +3...+5 °С в течение 24 часов. После завершения экстракции жидкую фазу фильтровали через бумажный фильтр в чистые градуированные пробирки, после чего объём фильтрата доводили до 10,0 мл подкисленным ацетоном.

Качественное и количественное определение гемина проводили методом тонкослойной хроматографии. Идентификацию гемина осуществляли по характерной хроматографической зоне и сравнению её с соответствующим стандартным образцом, а количественное содержание определяли по данным калибровочной зависимости и выражали в мкг/г исследуемой ткани.

Выбор гемина в качестве объекта исследования обусловлен его высокой химической стабильностью как деривата гемоглобина, образующегося в процессе его окислительной трансформации. Благодаря устойчивости к постмортальным изменениям гемин длительно сохраняется в зоне травматического кровоизлияния, что позволяет использовать его в качестве объективного биохимического маркера при судебно-медицинской оценке прижизненности повреждений.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием методов вариационной статистики. Количественные данные представляли в виде средней арифметической величины и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Достоверность различий между исследуемыми группами оценивали с

применением критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для идентификации полуколичественного определения гемина методом хроматографии в тонком слое сорбента, используют специальные пластинки размером 20x15 см с закреплённым слоем сорбента, которые готовят следующим образом: на чистую хроматографическую пластинку наносят сорбент, путем полива её суспензий, содержащей 18,5 силикагеля, 0,9 г гипса и 30 мл воды.

После высушивания пластинок в обычных условиях их активируют нагревая в сушильном шкафу при температуре 120° в течении 30 минут.

Отдельно готовят 10 стандартных растворов гемина с убывающей концентрацией (от 1% до 0,00195%). Для получения растворов более слабой концентрации, растворы готовят, исходя из 1% раствора гемина, путем ступенчатого разведения солянокислым раствором.

Результаты исследования и их обсуждение

При проведении тонкослойной хроматографии гемин во всех исследуемых образцах уверенно идентифицировался по характерной хроматографической зоне. После обработки пластинок 0,1% раствором бензида в хлороформе и 3% раствором перекиси водорода в области локализации гемина формировалось синее пятно удлинённо-овальной формы с величиной коэффициента удерживания (R_f) 0,18-0,24, что соответствовало стандартному образцу и свидетельствовало о высокой специфичности применяемого метода.

Качественная оценка содержания гемина осуществлялась путём сопоставления интенсивности окраски и площади хроматографических пятен исследуемых экстрактов со стандартными образцами. Количественное определение выполняли по калибровочной зависимости с последующим расчётом содержания гемина в мкг/г ткани.

Проведённое исследование выявило статистически значимые различия в содержании гемина между исследуемыми группами (табл. 1). Средняя

концентрация гемина в ткани поджелудочной железы при прижизненных травматических кровоизлияниях составила $12,7 \pm 0,9$ мкг/г, тогда как в контрольной группе данный показатель не превышал $4,3 \pm 0,6$ мкг/г ($p < 0,01$). Таким образом, содержание гемина при прижизненных кровоизлияниях было почти в 3 раза выше по сравнению с контрольными наблюдениями.

На хроматограммах образцов с прижизненными кровоизлияниями регистрировалась значительно более интенсивная хроматографическая зона гемина по сравнению с контрольной группой. Полученные различия носили устойчивый характер и сохранялись во всех исследованных наблюдениях, что свидетельствует о высокой воспроизводимости метода.

Установленные различия, по-видимому, обусловлены особенностями патогенеза прижизненного кровоизлияния. При сохранённом кровообращении происходит интенсивный выход крови в окружающие ткани, сопровождающийся гемолизом эритроцитов и последующей окислительной трансформацией гемоглобина с образованием гемина. После наступления смерти прекращение гемодинамики существенно ограничивает объём экстравазации крови и снижает интенсивность биохимических процессов, что закономерно сопровождается меньшим накоплением гемина в зоне повреждения.

Следует отметить, что гемин представляет собой стабильный продукт деградации гемоглобина, отличающийся высокой устойчивостью к посмертным изменениям тканей. В отличие от ряда ферментативных показателей, его содержание в значительно меньшей степени зависит от развития аутолиза и гнилостных процессов, что существенно расширяет возможности его использования в судебно-медицинской практике при исследовании трупного материала различной степени сохранности.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой диагностической значимости количественного определения гемина методом тонкослойной хроматографии. Статистически достоверное повышение его концентрации при

прижизненных травматических кровоизлияниях позволяет рассматривать гемин как объективный биохимический маркёр жизненной реакции тканей. Применение данного метода способствует повышению обоснованности экспертных выводов при решении вопросов о прижизненности травматических повреждений и может быть рекомендовано в качестве дополнительного критерия судебно-медицинской диагностики, особенно в сложных экспертных случаях, когда традиционные морфологические признаки недостаточно информативны.

Выводы.

1. Установлено, что количественное определение гемина методом тонкослойной хроматографии позволяет достоверно дифференцировать прижизненные и посмертные травматические кровоизлияния. Гемин надёжно идентифицируется по характерной хроматографической зоне с величиной коэффициента удерживания (R_f) 0,18-0,24, что подтверждает специфичность применяемого метода.

2. Средняя концентрация гемина при прижизненных травматических кровоизлияниях составила $12,7 \pm 0,9$ мкг/г ткани, что статистически значимо превышает аналогичный показатель контрольной группы ($4,3 \pm 0,6$ мкг/г; $p < 0,01$). Полученные различия свидетельствуют о высокой диагностической информативности данного биохимического показателя.

3. Повышенное содержание гемина при прижизненных кровоизлияниях обусловлено сохранением гемодинамики и протеканием окислительно-восстановительных процессов в жизнеспособных тканях, обеспечивающих интенсивную трансформацию гемоглобина в гемин. После прекращения кровообращения интенсивность этих процессов существенно снижается, что сопровождается уменьшением концентрации гемина.

4. Высокая химическая стабильность гемина и его устойчивость к постмортальным изменениям позволяют рассматривать его как объективный биохимический маркёр прижизненности травматических кровоизлияний и

рекомендовать определение гемина методом тонкослойной хроматографии в качестве дополнительного критерия судебно-медицинской диагностики при решении экспертных вопросов, связанных с установлением прижизненности повреждений.

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. Богомолов Д.В., Богомолова И.Н., Завалишина Л.Э., и др. Перспективы использования методов иммуногистохимии для установления прижизненности и давности механических повреждений в судебно-медицинской практике //Судебно-медицинская экспертиза, 2014, Т. 57, №5, С. 35-39.
3. Конорева А.К., Хасанянова С.В. Определение прижизненности и давности повреждений на трупах, извлечённых из водоёмов //Проблемы экспертизы в медицине, 2010, № 3-4, С. 88-90.
4. Малышев В.П., Шевченко Н.А. Биохимические методы в судебно-медицинской экспертизе //Судебно-медицинская экспертиза, 2020, №3, С. 12-18.
5. Новоселов В.П., Савченко С.В., Саковчук О.А., Грицингер В.А. Особенности реактивных изменений при образовании повреждений в мягких тканях и внутренних органах //Медицинские и фармацевтические науки. 2013, №6, С. 201-205.
6. Плигин А.В., Кислов М.А., Максимов А.В., Клевно В.А. Определение давности образования травматических кровоизлияний в судебно-медицинской практике //Судебная медицина, 2022, Т. 8, №1, С. 144-148.
7. Сеитова Р.Р. Значение микроскопических морфологических признаков резорбции кровоизлияний в диагностике давности повреждений мягких тканей и внутренних органов //Судебная медицина, 2019, Т. 5, №15, С. 85-86.
8. Федулова М.В., Куприянов Д.Д. Дегрануляция дермальных тучных

клеток в аспекте морфологической диагностики прижизненности повреждений
//Судебная медицина: вопросы, проблемы, экспертная практика, 2023, Вып. 9(30), С. 113-118.

9. Bertozzi G., Ferrara M., La Russa R., et al. Wound Vitality in Decomposed Bodies: New Frontiers Through Immunohistochemistry //Front Med (Lausanne), 2021, Vol. 8, P. 802-841.

10. Brown L., Smith D., Miller R. Use of gas chromatography in the forensic analysis of postmortem tissues //Forensic Toxicology Journal, 2020, №12(4), P. 101-110.

11. Casse J.M., Martrille L., Vignaud J.M., Gauchotte G. Skin wounds vitality markers in forensic pathology: An updated review // Med Sci Law, 2016, Vol. 56, N2, P. 128-137.

12. Cheng, Z., & Liu, R. (2020). Future perspectives of spectroscopy and chromatography in forensic toxicology //Forensic Toxicology, 58(6), 800-810.

13. Ibraheem S., Ali M., Basyouni H. Histological and miRNAs postmortem changes in incisional wound //Egyptian Journal of Forensic Sciences, 2019, Vol, 9, N1, P. 37.

14. 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.