

УДК 340.6:616-001-002-018.6-076.1-092.9

B.K. Сокол

Харківський національний медичний університет

ЦИТОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ШИК-РЕАКЦІЇ В МІОЦИТАХ ПРИ УШКОДЖЕННІ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ТРАВМАТИЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ

Цитофотометрично визначено інтенсивність ШИК-реакції в міоцитах при ушкодженні в динаміці розвитку травматичного запалення. Отримані результати відображають динаміку вмісту протеїдів саркоплазми. Запропонований відносний показник – середній індекс інтенсивності люмінесцентного свічення колагену шкіри – дозволяє чітко оцінювати давність ушкодження, що є актуальним завданням сучасної судово-медичної науки.

Ключові слова: цитофотометрія, ушкодження, люмінесцентне свічення.

Під час пошуків і вдосконалення методів судово-медичної експертизи щодо давності виникнення ушкоджень м'яких тканин, зокрема, шкіри й м'язів, судово-медичні експерти розглядають нові аспекти в динаміці запального процесу, що розвивається, для знаходження надійних критеріїв [1]. При проведенні судово-медичного дослідження велике значення має візуалізація об'єктів дослідження і документування процесів експертних досліджень [1–3]. Дотепер чіткість та точність визначення давності спричинення ушкоджень залишається незадовільною, у зв'язку з чим головним у цій проблемі є пошук нових підходів і методів дослідження, які б дозволили істотно підвищити точність визначення часу заподіяння травми [4–6].

Існують морфометричні та гістохімічні методики визначення давності ушкодження. Зокрема, описана динаміка збільшення діаметра капілярів у зоні ушкодження, збільшення розмірів ліпоцитів жирової тканини [7], що дозволило авторові диференціювати давність травми до 6 год, до 24 год і до 5 діб. Виявлено також динаміку синтезу ДНК в епідермоцитах у відповідь на ушкодження, що пропонується використовувати для визначення давності виникнення ушкоджень [8]. Доведено, що вміст фактора росту ендотелію та транспортера глюкози в травмованій тканині можуть бути використані як діагностичні

маркери давності ушкодження, оскільки їхня зміна має закономірний характер.

У зв'язку з цим метою даного дослідження було цитофотометричне визначення інтенсивності ШИК-реакції в міоцитах при ушкодженні в динаміці розвитку травматичного запалення, що відображає динаміку вмісту протеїдів саркоплазми.

Матеріал і методи. Експериментальне дослідження було проведено на 55 статевозрілих щурах лінії Вістар обох статей з вихідною масою 200–260 г (у віці 6–8 міс). Тварин розподілили на групи залежно від часу, який тварина жила від моменту травми до виведення її з експерименту. Сила удару була такою, щоб на задній кінцівці утворився тільки крововилив, без перелому стегнової кістки.

Для гістологічного дослідження використовували як уражені, так і неуражені з симетричної (контрольної) кінцівки м'які тканини. Експериментальний та судово-медичний матеріал фіксували в 10 % розчині формаліну протягом 24 год. Після цього матеріал проведено по спиртах зростаючої концентрації та залито парафіном. По закінченні проводки були виготовлені серійні зрізи товщиною 5–6 мкм. Статистична обробка проведена за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики.

Результати та їх обговорення. Принциповою особливістю цієї розробки є пар-

© B.K. Сокол, 2014

ельне визначення аналогічних показників у неушкодженій шкірі та м'язах. В експерименті це здійснено шляхом забору тканини з контрольної неушкодженої кінцівки. Необхідність обчислення відносного цитофотометричного показника в ушкодженній шкірі до такого в неушкодженній шкірі обумовлена тим, що відносний критерій є менш міливим. У даному дослідженні цим критерієм є відносний показник люмінесцентного свічення (ВПЛС).

В експерименті, здійсненому при виконанні даного дослідження, відмічені закономірні зміни епідермісу з боку ушкодження. Зокрема, при виведенні тварини з експерименту відразу після нанесення травми епідермоцити базального шару зберігають вертикальну орієнтацію на тлі відсутності регенераторної гіперпроліферації епідермоцитів. У періоді 15–30 хв після нанесення травми епідерміс у безпосередній близькості до місця руйнування стоншується, базальні епідермоцити здобувають горизонтальну орієнтацію, ядра стають темними та дрібними. Через 1 год після травми ці епідермоцити десквамуються, що, мабуть, є одним з моментів вторинної альтерациї, зумовленої дією лізуючих ферментів первинно ушкоджених, зруйнованих клітин (рис. 1).

Крім того, в термін 15 хв після травми по периферії ушкодження ділянки епідермісу з ознаками вторинної альтерациї, що починається, відбувається запуск регенераторної гіперпроліферації епідермоцитів і шар епідермісу потовстішає у зв'язку зі збільшенням кількості епідермоцитів, причому їхні ядра великі, світлі. У наступний термін (3, 4 та 5 год) все більш широка ділянка шкіри поズбавлена епідермісу, по периферії епідерміс стоншений, ще далі по периферії – регенераторна гіперпроліферація епідермоцитів. Виражені зміни м'язових волокон в ушкодженні відмічені через 30 хв після травми – зникає поперечна смугастість, ядра стають пікнотичні. У наступний термін ядра м'язових волокон лізуються, а саркоплазма забарвлюється слабкіше. Набряк дерми швидко наростає до 30 хв після травми, потім підсилюється повільно. Міграція та нагромадження в тканині шкіри нейтрофілів добре помітна вже в термін 1 год після травми.

Проаналізувавши цитофотометричні показники ШІК-реакції в саркоплазмі м'язових волокон у неушкодженої кінцівці експериментальних тварин, ми дійшли висновку, що морфофункціональний стан скелетного м'яза у різних щурів сильно розрізняється. Однак можна побачити в зміні цитофотометричного

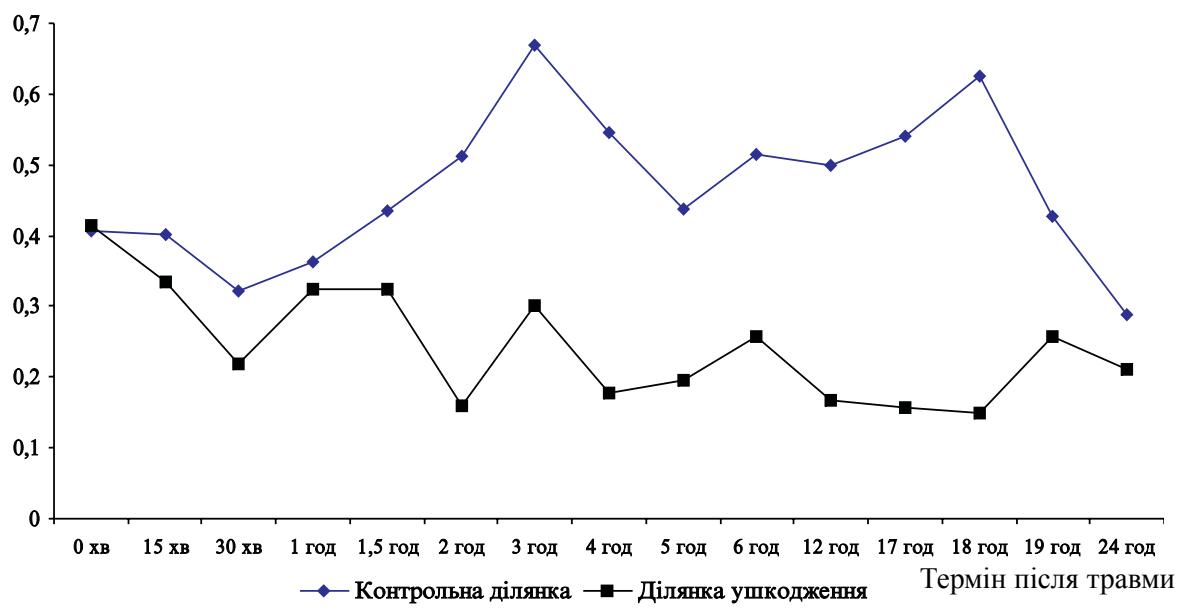


Рис. 1. Оптична щільність саркоплазми скелетного м'яза експериментальної тварини в у. о. опт. щільності (ШІК-реакція)

показника саркоплазми в неушкодженій кінцевці при постановленні ШІК-реакції протягом доби після травмування деяку закономірність, що відображує активацію внутрішньоклітинних синтетичних процесів у м'язах неушкодженої кінцевки у відповідь на ушкодження іншої кінцевки: через 1,5; 2; 3 і далі до 18 год після травми цей показник виявився вище, ніж відразу після нанесення травми, а у 24 год після травми – різко знизився, можливо, у зв'язку із загальною травматичною інтоксикацією та інфікуванням ушкодження.

При дослідженні стану колагену I типу в дермі в ушкодженні також встановлено закономірну зміну інтенсивності люмінесцентного свічення протягом першої доби. Спостерігається більш інтенсивне свічення через 15 хв після травми у порівнянні з таким у нульові терміни, однакове – через 1,5 год, потім послідовне зниження до кінця першої доби. Деякий підйом інтенсивності свічення колагену I типу протягом першої години після травми, напевно, зумовлений скороченням, ущільненням колагенових волокон (рис. 2).

В неушкодженій шкірі протягом перших трьох годин відбувається зниження показника інтенсивності люмінесцентного свічення, а потім послідовне його зростання до кінця 1-ї доби, ймовірно, у зв'язку з початком компенсаторного колагенсинтетичного процесу.

Використання ВПЛС дозволяє виділити чотири періоди (таблиця):

I – травма в момент смерті: ВПЛС дорівнює 1;

II – від 15 хв до 1,5 год: ВПЛС підвищений до 1,3;

III – від 2 до 5 год: ВПЛС знижується до 0,6;

IV – 2-га половина першої доби: ВПЛС знижується до 0,3.

Середні показники індексу ВПЛС залежно від часу після травми

Час, який минув після травми	Період	n	Індекс ВПЛС
0 хв	I	3	1,0
Від 15 хв до 1,5 год	II	6	1,3
Від 2 до 5 год	III	9	0,6
Від 12 до 24 год	IV	9	0,3

Загальна мікроскопічна картина посттравматичного запалення зі зміною ВПЛС, що відображає зміну вмісту протеїнів у саркоплазмі м'язових волокон та колагену I типу в дермі, така. Якщо по краю ушкодження епідермоцити збереглися, а в базальному шарі розташовуються перпендикулярно базальній мембрانі, м'язові волокна зберегли поперечну смугастість, а ВПЛС близький до 1, то смерть наступила відразу після травмування. При наявності сплющеного епідермісу з дрібними

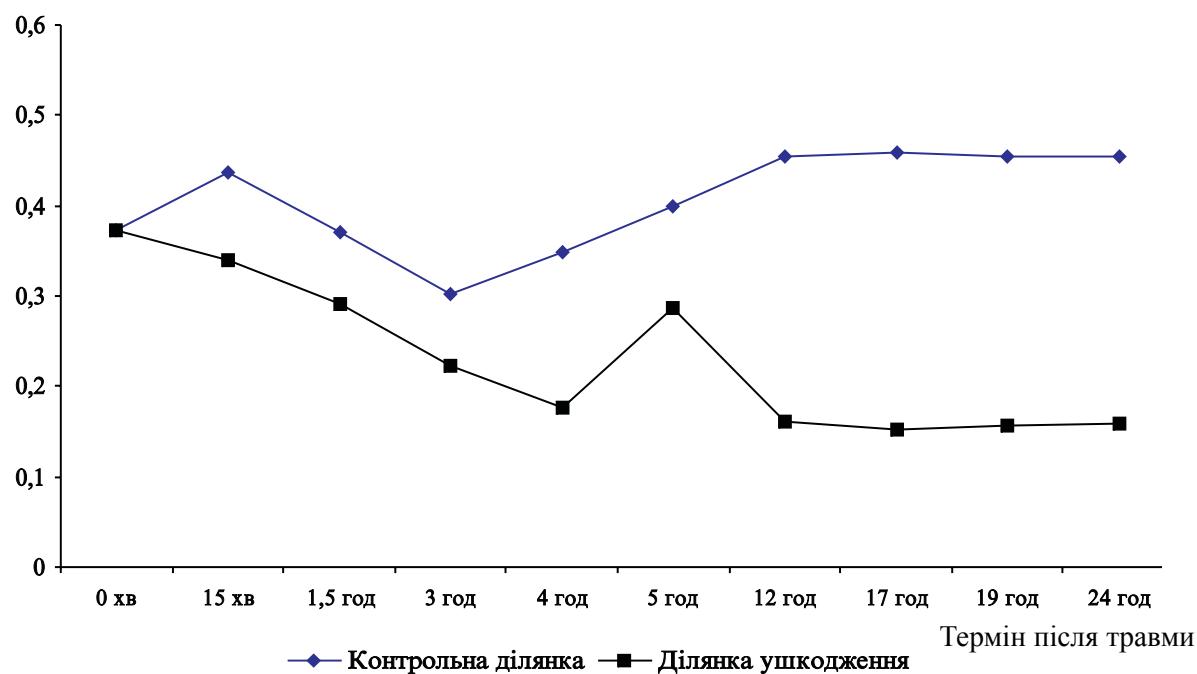


Рис. 2. Інтенсивність свічення колагену I типу в дермі експериментальних тварин

темними ядрами по краю ушкодження, а по периферії – ділянки гіперпроліферації епідермісу, якщо в м'язових волокнах по краю ушкодження немає поперечної смугастості, а ядра – пікнотичні, ВПЛС – підвищений, то смерть наступила в межах 1–1,5 год після травмування.

При менш виражених змінах епідермісу та м'язових волокон і мало підвищеного ВПЛС час смерті можна визначити як раніше 1 год після травмування (рис. 3). Поява в ушкодженні тканинного детриту, а в навколошкірній тканині – нейтрофілів на тлі близько-

За результатами проведено розрахунок середнього індексу ушкодження. На графіку (рис. 3) на вісь координат, що являє собою давність нанесення травми, опускають перпендикуляр і відповідно до пересечіння з віссю абсцис визначають давність після-травматичного періоду. Застосування цього графіка дозволяє оцінювати динаміку після-травматичного процесу та встановлювати давність нанесення травми згідно з величиною розробленого відносного показника – середнього індексу інтенсивності люмінесцентного свічення колагену шкіри (ВПЛС).

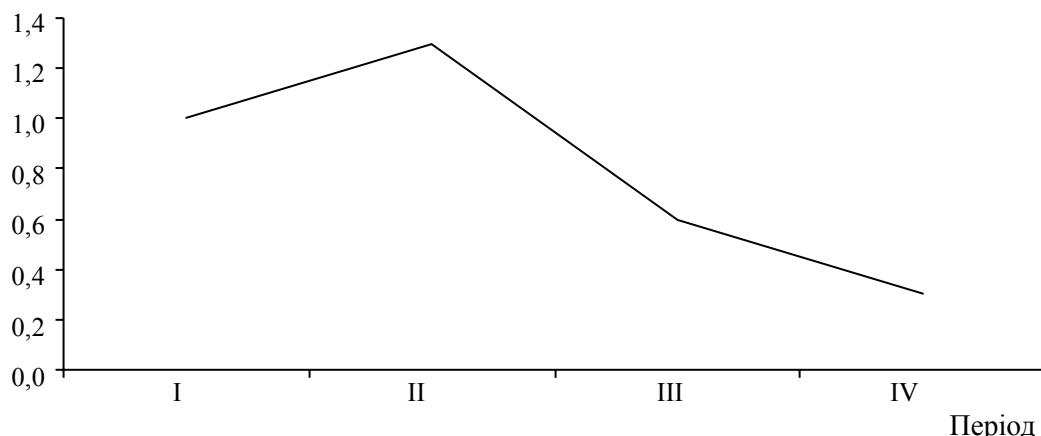


Рис. 3. Зміни середнього індексу інтенсивності люмінесцентного свічення колагену шкіри в динаміці післятравматичного процесу

го до одиниці ВПЛС дозволяє назвати 2-годинну давність виникнення ушкоджень. Формування в ушкодженні об'ємного ексудату паралельно з низькими значеннями ВПЛС свідчить про давність ушкодження в інтервалі 3–18 год. Наприкінці доби характерним є низьке значення ВПЛС, що відбулось, ймовірно, у зв'язку з дистрофічним станом скелетного м'яза неушкодженої кінцівки, зумовленим загальнотоксичною дією ушкодження, яке розвивається, та зменшенням значення знаменника при обчисленні ВПЛС.

Висновки

Запропоновано судово- медичний критерій, що базується на цитофотометричному визначені зміни вмісту білків у саркоплазмі м'язових волокон (ШІК-реакція) і колагену I типу в дермі ушкодженої шкіри протягом першої доби після травмування. Найбільш чітке диференціювання часових інтервалів можна зробити у перші дві години після травмування, що на сьогодні є звичай дуже складним при проведенні судово- медичної експертизи механічних ушкоджень шкіри та м'язів.

Список літератури

1. Авдеев М. И. Судебно-медицинская экспертиза трупа / М. И. Авдеев. – М. : Медицина, 1976. – 677 с.
2. Акопов В. И. Судебно-медицинская экспертиза повреждений тупыми предметами / В. И. Акопов. – М. : Медицина, 1978. – 112 с.
3. Актуальные и наиболее перспективные научные направления судебной медицины / В. А. Клевно, С. С. Абрамов, Д. В. Богомолов [и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. – 2007. – Т. 50, № 1. – С. 3–8.

4. Пирс Э. Гистохимия (теоретическая и прикладная) / Э. Пирс. – М. : Иностранная литература, 1962. – 962 с.
5. Raekallio J. Histochemical studies on vital and postmortem skin wound. Experimental investigation on medico-legally significant vital reactions in an early phase of wound healing / J. Raekallio // Ann. Med. Exp. Fenn. Suppl. – 1961. – V. 39. – P. 1–105.
6. Raekallio J. Timing of wounds – an introductory review / J. Raekallio // Annals Acad. Med. – 1984. – V. 13, № 1. – P. 77–84.
7. Макарчук О. І. Морфологічна характеристика вікових змін у складі мікроциркуляторного русла шкіри обличчя та шиї / О. І. Макарчук // Морфологія. – 2007. – Т. 1, № 4. – С. 59–62.
8. Lu Q. L. Study of elastic fiber changes of human skin in distinction between antemortem and postmortem wounds / Q. L. Lu // Fa Yi Xue Za Zhi. – 1999. – V. 15, № 1. – P. 7–8.

B.K. Сокол

ЦИТОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ШИК-РЕАКЦИИ В МИОЦИТАХ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Цитофотометрически определена интенсивность ШИК-реакции в миоцитах при повреждении в динамике развития травматического воспаления. Полученные результаты отражают динамику содержания протеидов саркоплазмы. Предложенный относительный показатель – средний индекс интенсивности люминесцентного свечения коллагена кожи – позволяет четко оценивать давность повреждения, что является актуальной задачей современной судебно-медицинской науки.

Ключевые слова: цитофотометрия, повреждения, люминесцентное свечение.

V.K. Sokol

CYTOPHOTOMETRY CERTAIN INTENSITY OF THE PAS-REACTION IN MYOCYTES AT DAMAGE IN THE DYNAMICS OF TRAUMATIC INFLAMMATION

The intensity PAS-reaction in myocytes at damage by cytophotometry is determined in the dynamics of traumatic inflammation. The obtained results reflect the dynamics of the sarcoplasmic proteids content. Proposed relative measure – the average index of the intensity of the luminescence of skin collagen allows prescription clearly assess the damage, which is a topical problem in modern forensic science.

Key words: cytophotometry, injuries, luminescence.

Поступила 24.02.14