

А.М.Біляков

Національний медичний
університет імені
О.О.Богомольця,
м. Київ

Ключові слова: ефіри
холестерину, смертельна
травма, наднирники.

Надійшла: 26.09.2013

Прийнята: 29.11.2013

УДК 81'42:616-091-051

ЗМІНА ВМІСТУ ЕФІРІВ ХОЛЕСТЕРИНУ В ТКАНИНІ НАДНИРНИКІВ ЛЮДИНИ В РАННІЙ ТЕРМІН АНТЕМОРТАЛЬНОГО ПЕРІОДУ

Реферат. Встановлено, що в залежності від тривалості перебігу смертельної травми вміст ефірів холестерину в тканині наднирників людини відрізняється. Якщо порівнювати його вміст з групою контролю (померлі внаслідок раптової смерті), то у осіб, які померли безпосередньо після травмування, він статистично не відрізнявся, але відрізнявся у тих, хто вмер через 1-2 години та мав тенденцію до достовірності різниці у тих, хто помер через десятки хвилин. Якщо групою контролю визначати померлих безпосередньо після смертельного травмування, то у осіб, які померли через десятки хвилин, та у осіб, які померли через 1-2 години, різниця була статистично достовірною.

Morphologia. – 2013. – Т. 7, № 4. – С. 7-10.

© А.М.Біляков, 2013

Bilyakov A.M. Changes of cholesterol ester contents in human adrenal tissue at the early stages of antemortem period.

ABSTRACT. Background. Microscopic and morphometric studies of adrenal tissue showed changes in their morphological and functional activity depending on the duration of fatal injury. Source for the adrenal hormones synthesis is cholesterol released from the esters by the action of the enzyme cholesterol esterase. **Objective.** Quantitative determination of cholesterol esters in the adrenal tissue of people who died in the result of traumatic factors in different time intervals: immediately after the injury, in a short period of time (from several to tens of minutes), after 1-2 hours. **Methods.** There were 40 studies conducted, 30 of which - for the determination of cholesterol esters in the adrenal tissue in early antemortem period in violent death, and 10 - in those who died from coronary heart disease (sudden death). Quantitative content of cholesterol esters was determined with the help of the original program and patented process. **Results.** The content of cholesterol esters in human adrenal tissue differs depending on the duration of a lethal mechanical trauma. When compared with a control group (those who died in the result of sudden death), its content in the persons who died immediately after the injury were not statistically different ($p>0.05$), but they do differed in the persons who died 1-2 hours after the injury ($p<0.05$), and tended towards statistical significance in those who had died in some tens minutes ($0.05<p<0.1$). Comparing to the group of persons who died immediately after the injury, the difference in the persons who died some tens minutes later ($p<0.05$) and 1-2 hour after the injury ($p<0.001$) is statistically significant. **Conclusion.** The presence of significant differences indicates that content of cholesterol esters in the adrenal tissue can be used to specify the duration of injury.

Key words: cholesterol esters, lethal trauma, adrenal glands.

Citation:

Bilyakov AM. [Changes of cholesterol ester contents in human adrenal tissue at the early stages of antemortem period]. *Morphologia*. 2013;7(4):7-10. Ukrainian.

Вступ

Важливу роль в танатогенезі, в тому числі і при дії смертельних травматичних факторів, відіграє активація гіпоталамус-гіпофіз-наднирникової системи. Синтез наднирниками основного гормону стресу – кортизолу, дія якого полягає в стабілізації оболонки капілярів та всієї оболонкової системи з її ензиматичним вмістом, зниженні молочного ацидозу, переміщенні вправо кривої дисоціації оксигемоглобіну, направлений на стабілізацію гомеостазу [1].

Синтез стероїдів, в тому числі і глюкокортикоїдів, відбувається з одного попередника – холестерину. В клітині наявний вільний холестерин, який входить до складу мембран, та естерифікований (ефіри холестерину), які є його депо в організмі. Джерелом для синтезу гормонів є вивільнений з ефірів холестерин за рахунок дії ферменту холестерол-естерази. Даний холестерин переноситься на внутрішні мембрани мітохондрій, де за допомогою холестериндесмолази та участі цитохрому Р-450 відбува-

ється синтез прегненолону [2; 3]. В самих мітохондріях міститься не більше 50% всього доступного для цитохрому P-450 холестерину і тому синтез гормонів з холестерину – це швидколімітуюча реакція, що обумовлена потраплянням холестерину в активний центр ферменту. Утворений прегненолон потім переноситься в ендоплазматичний ретикулум клітин кори наднирників і вже там підлягає подальшим окисним перетворенням [4].

Мікроскопічні та морфометричні дослідження тканини наднирникових залоз показали зміну їх морфофункціональної активності в залежності від тривалості перебігу смертельної травми. Збільшення розміру ядра у спонгіоцитах, нейроендокриноцитах, пінеалоцитах і просвітлення хроматину, виражений апоптоз паренхіматозних клітин свідчать про активацію синтезу гормонів [5].

Мета роботи

Метою дослідження було визначення кількісного вмісту ефірів холестерину в тканині наднирників людей, які померли внаслідок травматичної дії факторів в різні проміжки часу: безпосередньо після травми, за короткий проміжок часу (від декількох до десятків хвилин), через 1-2 години.

Матеріали та методи

З трупів осіб, які померли внаслідок травмування, під час проведення судово-медичного дослідження вилучали частини наднирникових залоз. Їх об'єднували в групи: померлі безпосередньо після травми – 10 осіб, за короткий проміжок часу – 10 осіб, через 1-2 години – 10 осіб. Групою контролю були особи, смерть яких настала від ішемічної хвороби серця – 10 осіб (раптова смерть).

Один грам вологої тканини наднирників висушували при температурі 60 градусів, повторно зважували для визначення вмісту вологи та використовували весь матеріал для подальшого дослідження. Тканину гомогенізували тричі з 2

мл етилацетату, гомогенат зливали в окрему пробірку та обмивали товкачик 1 мл етилацетату. Зібраний надосад етилацетату повністю упарювали в потоці теплого повітря та додавали 5 мл 70% метанолу. В пробірку додавали 5 мл петролейного ефіру, струшували 5 хвилин, центрифугували 3 хв та відділяли ефірну фазу в окрему пробірку. Цей цикл повторювали двічі з аналогічним об'ємом петролейного ефіру. В подальшому в ефірній фазі визначали вміст холестерину. В ефірній фазі визначали її об'єм, відбирали 1 мл, повністю упарювали в потоці теплого повітря, розчиняли в 0,2 мл петролейного ефіру та кількісно переносили на хроматографічну пластину Sorbifil. Хроматографування проводили в системі петролейний-диетиловий ефір (4:1) зі стандартом холестерину у кількості 2,65 мкг. Проявлення проводили розчином оцтовокислої міді на розведеній ортофосфорній кислоті. Після проявлення хроматограму сканували, а кількісний вміст визначали за допомогою розробленої нами програми та запатентованого способу, при якому програмно автоматично визначається площа плями досліджуваної речовини на хроматограмі після її сканування в порівнянні з площею плями стандарту [6]. Зважаючи на різноманітність ефірів холестерину, їх кількісний вміст визначали відносно стандарту холестерину.

Таким чином, загалом було проведено 40 досліджень, з яких 30 – для визначення вмісту ефірів холестерину при насильницькій смерті та 10 – у померлих від ішемічної хвороби серця. Результати досліджень обробляли статистично за Стьюдентом. Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез у даному дослідженні приймали рівним 0,05.

Результати та їх обговорення

Результати визначення вмісту ефірів холестерину в тканині наднирників у осіб, які померли внаслідок травматичної дії факторів в різні проміжки часу, представлено в таблиці 1.

Таблиця 1

Кількісний вміст ефірів холестерину в тканині наднирників

№	Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Ефіри холестерину мкг/100 мг сухої тканини ($\bar{X} \pm x$)	P
1	Ішемічна хвороба серця	Раптова (швидкоплинна смерть)	10	1062±97	P1-P2 > 0.05 0.1 < P1-P3 > 0.05 P1-P4 < 0.05
2	Травма	Безпосередньо після травми	10	1107±71	P2-P3 < 0.05 P2-P4 < 0.001
3	Травма	За короткий проміжок часу після травми	10	900±57	0.1 < P3-P4 > 0.05
4	Травма	1-2 години після травми	10	773±34	

Примітка: P – вірогідність різниці кількісного вмісту між групами дослідження.

Результати коливання кількісного вмісту ефірів холестерину в тканині наднирників у

осіб, які померли внаслідок травми та в групі контролю, представлено в таблиці 2.

Таблиця 2

Коливання кількісного вмісту ефірів холестерину в тканині наднирників

№	Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Ефіри холестерину мкг/100 мг сухої тканини
1	Ішемічна хвороба серця	Раптова (швидкоплинна смерть)	10	530-1380
2	Травма	Безпосередньо після травми	10	800-1500
3	Травма	За короткий проміжок часу після травми	10	700-1200
4	Травма	1-2 години після травми	10	500-1100

Аналіз результатів показав, що в порівнянні з раптово померлими (контроль) вміст ефірів холестерину у осіб, які померли безпосередньо після травмування, статистично не відрізнявся ($p > 0,05$). В той же час його вміст відрізнявся у тих, хто вмер через 1-2 години ($p < 0,05$) та мав тенденцію до достовірності різниці у тих, хто помер через десятки хвилин ($0,1 < p < 0,05$). Якщо групою контролю вважати померлих безпосередньо після травми, то у осіб, які померли через

десятки хвилин ($p < 0,05$) та у осіб, які померли через 1-2 години ($p < 0,001$) різниця була статистично достовірною.

Діагностично значимі межі коливання кількісного вмісту холестерину в тканині наднирників у осіб, які померли внаслідок травми та в групі контролю ($X \pm 2\sigma$), представлено в таблиці 3.

Таблиця 3

Межі коливання кількісного вмісту ефірів холестерину в тканині наднирників ($X \pm 2\sigma$)

№	Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Ефіри холестерину мкг/100 мг сухої тканини ($X \pm x$)	X-2σ	X+2σ
1	Ішемічна хвороба серця	Раптова (швидкоплинна смерть)	10	1062±97	442	1682
2	Травма	Безпосередньо після травми	10	1107±71	659	1555
3	Травма	За короткий проміжок часу після травми	10	900±57	542	1258
4	Травма	1-2 години після травми	10	773±34	373	1173

В усіх групах померлих внаслідок дії травматичного фактору, верхня межа кількісного вмісту ефірів холестерину не перевищила 1555 мкг/100 мг сухої тканини. Однак в групі контролю, зважаючи на значні коливання вмісту ефірів холестерину, вона склала 1682 мкг/100 мг сухої тканини, тобто перевищила показник основних груп досліджень. Виявлення кількісного вмісту ефірів холестерину від 1555 до 1682 мкг/100 мг сухої тканини вказує, що причиною смерті є раптова смерть. Вміст ефірів холестерину від 373 до 442 мкг/100 мг сухої тканини вказує, що причиною смерті є травма, тривалість якої складає 1-2 години. Однак, вузькі межі даних показників не дозволяють їх розцінювати, як надійні критерії діагностики раптової смерті та даної травми.

Зважаючи на наявність діапазонів кількісного вмісту ефірів холестерину які не перетинаються в групах осіб, смерть яких настала внаслідок травмування, можна стверджувати, що за умови беззаперечного травматичного генезу смерті, ефіри холестерину можуть бути використані, які діагностичні критерії визначення її давності.

Таким чином, зниження вмісту ефірів холестерину в залежності від тривалості вмирання можна пояснити підвищенням синтезу стероїдів, зокрема, кортизолу, для участі в стабілізації показників гомеостазу. Причому, відсутність достовірної різниці між групою контролю та померлими безпосередньо після травми пояснюється швидкоплинністю вмирання, коли наднирники ще не встигають відреагувати, а подальша ди-

наміка зменшення його кількості вказує на активацію стероїдогенезу.

Висновки

Дослідження показали, що кількість ефірів холестерину в тканині наднирників у осіб, які померли безпосередньо після травмування статистично не відрізнявся ($p > 0,05$), але відрізнявся у тих, хто вмер через 1-2 години ($p < 0,05$) та мав тенденцію до достовірності різниці у тих, хто помер через десятки хвилин ($0,1 < p < 0,05$). Якщо

групою контролю вважати померлих безпосередньо після травми, то у осіб, які померли через десятки хвилин ($p < 0,05$) та у осіб, які померли через 1-2 години ($p < 0,001$), різниця була статистично достовірною. Наявність достовірної різниці вказує, що кількісний вміст ефірів холестерину в тканині наднирників може бути використаний для встановлення тривалості перебігу травми.

Літературні джерела References

1. Шок / [под ред. И. Теодореску-Эксарку]. – Бухарест, 1980. – С. 177-181.

Teodorescu- Ekzarku I, editor. [Shock]. Bucharest; 1980. p. 177-81. Russian.

2. Churchill P. F. Topological studies of cytochromes P-450sc and P-45011 beta in bovine adrenocortical inner mitochondrial membranes. Effects of controlled tryptic digestion / Churchill P. F., Kimura T. // J. Biol. Chem. – 1979. – Vol. 254, № 20. – P. 10443-10448.

Churchill PF, Kimura T. Topological studies of cytochromes P-450sc and P-45011 beta in bovine adrenocortical inner mitochondrial membranes. Effects of controlled tryptic digestion. J Biol Chem. 1979 Oct 25;254(20):10443-8. Cited in: PubMed; PMID: 489606.

3. Tamaoki B. Steroidogenesis and cell structure. Biochemical pursuit of sites of steroid biosynthesis / Tamaoki B. // J. Steroid. Biochem. – 1973. – Vol. 4, №1. – P. 89-118.

Tamaoki B. Steroidogenesis and cell structure. Biochemical pursuit of sites of steroid biosynthesis. J Steroid Biochem. 1973 Jan;4(1):89-118. Cited in: PubMed; PMID: 4574429.

4. Холестериноз / Ю. М. Лопухин, А. И. Арчаков, Ю. А. Владимиров, Э. М. Коган. - М. : Медицина, 1983. – С. 163-171.

Lopukhin YuM, Archakov AI, Vladimirov YuA, Kogan EM. Kholesterinoz [Cholesterolosis]. Moscow: Meditsina; 1983. p. 163-71. Russian.

5. Пашенко Ю.В. Морфофункциональные критерии продолжительности жизни пострадавшего после механической травмы. //Матеріали ІІІ конференції Харківської обласної клінічної лікарні «Роль сучасних методів діагностики в лікуванні та реабілітації хворих». – Харків, 2004. – С. 50-51.

Paschenko YuV. [Morphological and functional criteria for life duration of injured with mechanical trauma]. In: [Role of modern diagnostic methods in treatment and rehabilitation of patients: Proceedings of the 3rd Conference of Kharkiv regional clinical hospital]; 2004; Kharkiv. Kharkiv: 2004. p. 50-1. Russian.

6. Біляков А. М. Програмна обробка результатів тонкошарової хроматографії / А. М. Біляков // Актуальні питання судово-медичної науки, освіти і практики : мат. всеукр. конф. – Алушта, 2012. – С. 92-94.

Bilyakov AM. [Software processing of the results of thin layer chromatography]. In: [Actual problems forensic science, education and practice: materials of Ukrainian conference]; 2012; Alushta. Alushta; 2012. p. 92-4. Ukrainian.

Біляков А.Н. Изменение содержания эфиров холестерина в ткани надпочечников человека в ранний срок антеморального периода.

Реферат. Установлено, что в зависимости от длительности течения смертельной травмы содержание эфиров холестерина в ткани надпочечников человека отличается. Если сравнить его содержание с группой контроля (умершие вследствие скоропостижной смерти), то у лиц, которые умерли непосредственно после травмирования, он статистически не отличался, но отличался у тех, кто умер через 1-2 часа и имел тенденцию к достоверной разнице у тех, кто умер через десятки минут. Если группой контроля были умершие непосредственно после смертельного травмирования, то у лиц, которые умерли через десятки минут и у лиц, которые умерли через 1-2 часа, разница была статистически достоверной.

Ключевые слова: холестерин, смертельная травма, надпочечники.