

# СУДОВА МЕДИЦИНА

© Біляков А. М.

УДК 340. 6:616. 839:577. 175. 522:616-001-036. 08

**Біляков А. М.**

## ВИКОРИСТАННЯ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ТРИВАЛОСТІ ПЕРЕБІГУ СТРЕС – РЕАКЦІЇ ПРИ ДИНАМІЧНОМУ РОЗВИТКУ СМЕРТЕЛЬНОЇ МЕХАНІЧНОЇ ТРАВМИ

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця (Київ)

Данная работа является фрагментом НИР «Судово-медичне обґрунтування тривалості перебігу смертельної механічної травми за метаболічними змінами в організмі в ранній термін антемортально-ного періоду», № 0112U008603.

**Вступ.** Встановлення часу нанесення травми постраждалому та тривалості перебігу антемортального періоду в випадках смертельного травмування є ключовим завданням для судово-медичного експерта [1]. Як свідчить аналіз наукової літератури, дане питання намагалися вирішити з позиції визначення як локальної реакції організму на травму, так і системних змін в тканинах та рідинах тіла. Відомо, що після смертельного травмування не залежно від виду дії травмуючого фактору організм людини знаходиться в стресовому стані [2]. В судово-медичній практиці експерт при визначенні наявності стресу базується, перш за все, на морфологічних критеріях [3]. Однак, дані критерії не дозволяють достовірно визначити тривалість перебігу стресового стану, який пов'язаний із давністю травми, а тому досить перспективним напрямком для досліджень є вивчення біохімічних показників, особливо тих, що стосуються гормонального гомеостазу [4].

Зрив компенсаторних механізмів в організмі, як складової патологічного процесу, завжди супроводжується зміненням якісно та кількісно метаболізмом. Це означає, що після смерте визначення стану основних інгредієнтів вуглеводного, ліпідного, мінерального обмінів, дозволяють судити про біохімічні зміни, що передують смерті. Отже, можна знайти біохімічні маркери, що характеризують певні патологічні стани і з їх допомогою проводити диференційну діагностику між різними причинами смерті, визначити давність настання травми [5].

Вцілому, стрес супроводжується морфофункціональними змінами, особливо в нейроендокринній системі, що пов'язано, перш за все, з активацією

ГГНС [6]. Глюкокортикоїди є своєрідним маркером стресового стану, саме тому їх кількість змінюється в залежності від тривалості перебігу травматичної хвороби, а між рівнем АКТГ у плазмі крові та 11-оксикортикостероїдів, кортизолом та кортизоном в сечі існує прямий кореляційний зв'язок зі ступенем ушкодження, тяжкістю стану та тривалістю життя хворого [7].

Відомо, що за результатами гістологічних досліджень у осіб, смерть яких настала безпосередньо після травми, або через 20-30 хвилин, або через 1-2 години, були відмічені різні зміни, що свідчили про різний ступінь реакції ендокринних залоз на дію травматичного фактору [8].

**Метою даного дослідження** було визначення можливості використання надниркових залоз в якості діагностичного об'єкту для визначення тривалості перебігу стрес – реакції при динамічному розвитку смертельної механічної травми шляхом визначення кількісного вмісту кортизолу, кортизону та коефіцієнту їх співвідношення в тканині залоз.

**Об'єкт і методи дослідження.** Об'єктом дослідження стали частини надниркових залоз, які вилучали під час судово-медичної експертизи від трупів, смерть яких настала внаслідок смертельної дії травматичних факторів. Дані об'єкти було об'єднано в залежності від тривалості вмирання людей: померлі безпосередньо після травми – 10 осіб, померлі в короткий проміжок часу – 10 осіб, померлі через 1-2 години – 10 осіб. Групою порівняння були особи, смерть яких настала від гострої та хронічної 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

Таблиця 1

**Кількісний вміст кортизолу в тканині  
наднирникових залоз померлих внаслідок  
травми та раптової смерті**

Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Кортизол нг/100 мг сухої тканини, $M \pm m$	P
Ішемічна хвороба серця	Раптова смерть	15	741,2 $\pm$ 47,67	P1-P2 > 0,05 P1-P3 < 0,001 P1-P4 < 0,01
Травма	Безпосередньо після травми	11	780,7 $\pm$ 62,67	P2-P3 < 0,01 P2-P4 < 0,05
Травма	За короткий проміжок часу після травми	10	1037,3 $\pm$ 59,8	P3-P4 > 0,05
Травма	1-2 години після травми	10	975,6 $\pm$ 65,98	

**Примітка:** P1, P2, P3, P4 – досягнутий рівень значущості в випадках: раптової смерті, смерті безпосередньо після травми, смерті за короткий проміжок часу після травми, смерті через 1-2 години після травми.

Таблиця 2

**Кількісний вміст кортизону в тканині  
наднирникових залоз померлих внаслідок  
травми та раптової смерті**

Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Кортизон нг/100 мг сухої тканини, ( $M \pm m$ )	P
Ішемічна хвороба серця	Раптова смерть	10	410,77 $\pm$ 30,34	P1-P2 > 0,05 P1-P3 < 0,02 P1-P4 < 0,01
Травма	Безпосередньо після травми	10	448,52 $\pm$ 37,0	0,05 > P2- P3 < 0,1 P2-P4 < 0,05
Травма	За короткий проміжок часу після травми	10	537,83 $\pm$ 34,45	P3-P4 > 0,05
Травма	1-2 години після травми	10	559,1 $\pm$ 33,04	

**Примітка:** P1, P2, P3, P4 – досягнутий рівень значущості в випадках: раптової смерті, смерті безпосередньо після травми, смерті за короткий проміжок часу після травми, смерті через 1-2 години після травми.

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. До метанольної фази додавали рівний об'єм метиленхлориду, струшували 5 хвилин, центрифугували 3 хв та відділяли метиленхлорид. Цей цикл повторювали двічі з аналогічним об'ємом метиленхлориду. Зібраний метиленхлорид упарювали в потоці теплого повітря, додавали 0,1 мл етилацетату та кількісно переносили на хроматографічну пластину Sorbifil. Хроматографування проводили в системі хлороформ-метанол (97:3) зі стандартом кортизолу у кількості 320 нг та кортизону у кількості 1000 нг. 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 [9]. Таким чином, загалом було проведено 80 досліджень, з яких 60 для визначення вмісту кортизолу та кортизону при насильницькій смерті та 20 у померлих від ішемічної хвороби серця.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Результати вивчення показали, що вміст кортизолу та кортизону в тканині наднирників змінюється в залежності від тривалості перебігу травматичного процесу, що представлено в **табл. 1 та 2.**

Результати дослідження вказують, що вміст кортизолу статистично достовірно вищий у тих, хто помер через десятки хвилин ( $p < 0,001$ ) та через 1-2 години після травмування ( $p < 0,01$ ) порівняно з групою порівняння і не відрізняється у тих, хто помер відразу після травмування ( $p > 0,05$ ). Порівняння його вмісту в групах з різною тривалістю перебігу травми показало, що він також вищий у тих, хто помер через короткий проміжок часу ( $p < 0,01$ ) та через 1-2 години ( $p < 0,05$ ) порівняно з тими, хто помер відразу після травми.

При статистичному порівнянні кількісного вмісту кортизону було встановлено, що він не відрізнявся ( $p > 0,05$ ) у тих, хто помер відразу після травмування та був більший ( $p < 0,02$ ) у тих, хто помер через десятки хвилин та через 1-2 години ( $p < 0,01$ ) після травмування. Порівняння його вмісту в групах з різною тривалістю перебігу травми показало, що він дещо більший ( $0,05 > p < 0,1$ ) у померлих через короткий проміжок часу та значно більший у тих ( $p < 0,05$ ), хто помер через 1-2 години після травмування.

Коефіцієнт кортизол/кортизон в тканині наднирників представлено в **табл. 3.**

Аналіз коефіцієнту кортизол/кортизон в тканині наднирників показав, що він змінюється в залежності від тривалості вмирання. Однак достовірно значущі різниці існують лише при порівнянні між собою груп смертельно травмованих осіб, що дозволяє його використовувати для визначення тривалості перебігу антемортального періоду при умові, що немає сумнівів в травматичному генезі смерті.

**Висновки.** Аналіз результатів дослідження показав, що при травмі в тканині надниркових залоз змінюється кількісний вміст кортизолу, кортизону та коефіцієнту їх співвідношення, однак значне підвищення спостерігається у померлих через десятки хвилин та години,

**Таблиця 3**

**Коефіцієнт кортизол/кортизон в тканині надниркових залоз померлих внаслідок травми та раптової смерті**

Тривалість вмирання	n	Кортизол/кортизон (діапазон значень)	U	U <sub>max</sub>	P
Раптова смерть	20	Від 1,7 до 1,9	U (1-2) – 29 U (1-3) – 29 U (1-3) – 54	27	P1-P2 > 0,05 P1-P3 > 0,05 P1-P4 > 0,05
Безпосередньо після травми	20	Від 1,6 до 1,8	U (2-3) – 18	27	P2-P3 < 0,05
За короткий проміжок часу після травми	20	Від 1,7 до 2,2	U (3-4) – 27	27	P3-P4 < 0,05
1-2 години після травми	20	Від 1,6 до 2,1	U (2-4) – 26	27	P2-P4 < 0,05

**Примітка:** U – непараметричний критерій Вілкоксона-Манна-Уїтні; U<sub>max</sub> – максимальне число інверсій, при якому відмінності між групами досліджень можна вважати статистично достовірними; P – вірогідність різниці між групами досліджень.

порівняно з померлими відразу після травми та групою порівняння.

Таким чином, надниркові залози можуть бути використані для визначення тривалості перебігу стрес – реакції при динамічному розвитку смертельної механічної травми.

**Перспективи подальших досліджень.** Виявлення закономірностей між тривалістю перебігу смертельної механічної травми та кількісним вмістом кортикостероїдів в тканині надниркових залоз потребує більш ретельного вивчення щодо можливості встановлення виду травмуючого фактору.

**Література**

1. Авходиев Г. И. К вопросу о диагностике стресса, предшествующего смерти / Г. И. Авходиев, О. В. Кузьмина // Суд.-мед. экспертиза. – 2003. – № 2. – С. 13-16.
2. Біляков А. М. Програмна обробка результатів тонкошарової хроматографії. Матеріали всеукраїнської конференції «Актуальні питання судово-медичної науки, освіти і практики» / А. М. Біляков. – Алушта, 2012. – С. 92-94.
3. Кассиль Г. Н. Симпато-адреналовая система при стрессе / Г. Н. Кассиль, Э. Ш. Матлина // Стресс и его патогенетические механизмы. Сб. статей. – Кишинев, 1973. – С. 25.
4. Соседко Ю. И. Судебно-медицинская диагностика давности повреждений при тяжелой тупой травме / Ю. И. Соседко // Суд.-мсд. эксп. – 1984. – № 2. – С. 15-18.
5. Шеданія В. О. Ендокринно-вегетативні кореляції експериментального стресу / В. О. Шеданія, Н. І. Пандікідіс // Фізіол. журнал. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 117.
6. Яковцова А. Ф. Динамика участия гипофиза, эпифиза и надпочечников в организации стресс-реакции при смертельной травме / А. Ф. Яковцова Г. И. Губина-Вакулик, В. Д. Марковский // Патология. – 2005. – Т. 2, № 3. – С. 35.
7. Cogen H. The relevance of differential response to trauma in an animal model of posttraumatic stress disorder / H. Cogen, J. Zohar, M. Matar // Biol. Psychiatry. – 2003. – Vol. 53, № 6. – P. 463-473.
8. Offner P. J. The adrenal response after severe trauma / P. J. Offner, E. E. Moore, D. Ciesla // Am. J. Surg. – 2002. – Vol. 184, № 6. – P. 649-653.
9. Zhu B. L. Evaluation of postmortem serum calcium and magnesium levels in relation to causes of death in forensic autopsy / B. L. Zhu, T. Ishikama, L. Quan [et al.] // Forensic. Sci. Int. – 2005. – Vol. 155, № 1. – P. 18-23.

УДК 340. 6:616. 839:577. 175. 522:616-001-036. 08

**ВИКОРИСТАННЯ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ТРИВАЛОСТІ ПЕРЕБІГУ СТРЕС-РЕАКЦІЇ ПРИ ДИНАМІЧНОМУ РОЗВИТКУ СМЕРТЕЛЬНОЇ МЕХАНІЧНОЇ ТРАВМИ**

**Біляков А. М.**

**Резюме.** Метою дослідження стало визначення можливості використання надниркових залоз в якості діагностичного об'єкту для визначення тривалості перебігу стрес – реакції при динамічному розвитку смертельної механічної травми шляхом визначення кількісного вмісту кортизолу, кортизону та коефіцієнту їх співвідношення в тканині залоз.

Результати вивчення показали, що при травмі в тканині надниркових залоз діагностично значимо змінюється кількісний вміст кортизолу, кортизону та коефіцієнту їх співвідношення, однак значне підвищення спостерігається у померлих через десятки хвилин та години, порівняно з померлими відразу після травми та групою порівняння. Таким чином, надниркові залози можуть бути використані для визначення тривалості перебігу стрес – реакції при динамічному розвитку смертельної механічної травми.

**Ключові слова:** надниркові залози, кортизол, кортизон, смертельна травма.

УДК 340. 6:616. 839:577. 175. 522:616-001-036. 08

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАДПОЧЕЧНИКОВЫХ ЖЕЛЕЗ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ТЕЧЕНИЯ СТРЕСС-РЕАКЦИИ ПРИ ДИНАМИЧЕСКОМ РАЗВИТИИ СМЕРТЕЛЬНОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ**

**Біляков А. Н.**

**Резюме.** Целью исследования стало определение возможности использования надпочечниковых желез в качестве диагностического объекта для определения длительности течения стресс – реакции при

динамическом развитии смертельной механической травмы путем определения количественного содержания кортизола, кортизона и коэффициента их соотношения в ткани желез.

Результаты исследования показали, что при травме в ткани надпочечниковых желез диагностически значительно изменяется количественное содержание кортизола, кортизона и коэффициента их соотношения, однако, значительное повышение наблюдается у умерших через десятки минут и несколько часов в сравнении с умершими сразу после травмы и группой сравнения. Таким образом, надпочечниковые железы могут быть использованы для определения длительности течения стресс – реакции при динамическом развитии смертельной механической травмы.

**Ключевые слова:** надпочечниковые железы, кортизол, кортизон, смертельная травма.

UDC 340. 6:616. 839:577. 175. 522:616-001-036. 08

### **Use of Adrenal Glands to Determine the Duration of Stress Reaction with Dynamic Development of a Lethal Mechanical Injury**

**Bilyakov A. M.**

**Abstract.** A key objective for a forensic expert is to determine the time of injury and the duration of ante mortem period in case of lethal traumas. After a lethal trauma a human body is in a stress state, and when determining its duration an expert is guided by certain morphological criteria. However, they do not allow precise determination of the stress state duration. Stress is accompanied by morphological and functional changes, especially in the neuro-endocrinal system, and glucocorticoids serve as markers of the stress state as their quantity changes depending on the duration of a traumatic disease.

The research aimed at defining the possibilities of using adrenal glands as a diagnostic object when determining the duration of stress reaction with dynamic development of a lethal mechanical injury by measuring the quantity content of cortisol, cortisone and their ratio in the gland tissue.

The object under research was adrenal gland samples of the bodies that had died as a result of a lethal trauma with different duration of dying: those who had died immediately after the injury – 10 persons; those who had died within a short period of time – 10 persons; those who had died 1 to 2 hours later – 10 persons. The reference group included persons who had died as a result of acute or chronic ischemic heart disease – 10 persons (sudden death).

Using thin-layer chromatography with further processing of the results of spot scanning with the help of specially designed software the quantity content of cortisol and cortisone in relation to their standard was measured. In general 80 tests were performed, of which 60 intended to measure the amount of cortisol and cortisone in the bodies that had died as a result of violent death, and in 20 other tests tissue samples from the persons were used whose death had been caused by ischemic heart disease.

The examination results demonstrate that the quantity of cortisol and cortisone in adrenal tissue changes depending on the duration of the traumatic process. In particular, the content of cortisol and cortisone is evidently higher in those who died within tens of minutes ( $p < 0.001$ )  $1037.3 \pm 59.8$  ng/100 mg and ( $p < 0.02$ )  $537.83 \pm 34.45$  ng/100 mg respectively, and in those who died 1 to 2 hours after the injury ( $p < 0.01$ )  $975.6 \pm 65.98$  ng/100 mg and ( $p < 0.01$ )  $559.1 \pm 33.04$  ng/100 mg respectively. This parameter does not differ in those who died immediately after the injury ( $p > 0.05$ ). Comparison of the content of these substances in the groups with different duration of dying shows that it is also higher in those who died within a short period of time ( $p < 0.01$ ) and ( $0.05 > p < 0.1$ ) respectively, and 1 to 2 hours later ( $p < 0.05$ ) than in those who died immediately after getting traumatized.

Analysis of cortisol/cortisone ratio in adrenal tissue shows that evidently significant differences exist only when comparing the groups of persons with lethal injuries. Consequently, this ratio can be used in order to determine the duration of ante mortem period provided the traumatic genesis of death arouses no doubts.

Thus, adrenal glands can be used to determine the duration of stress reaction with dynamic development of a lethal mechanical injury.

**Keywords:** adrenal glands, cortisol, cortisone, lethal injury.

*Рецензент – проф. Мішалов В. Д.*

*Стаття надійшла 28. 01. 2015 р.*