

А.М.Біляков

Національний медичний
університет імені
О.О.Богомольця, Київ

Ключові слова: холестерин, смертельна травма, наднирники.

Надійшла: 23.07.2013

Прийнята: 14.09.2013

УДК 81'42:616-091-051

ВМІСТ ХОЛЕСТЕРИНУ В ТКАНИНІ НАДНИРНИКІВ ЛЮДИНИ ПРИ РІЗНІЙ ТРИВАЛОСТІ ПЕРЕБІГУ СМЕРТЕЛЬНОЇ ТРАВМИ

Реферат. Серед системних змін при травмі першочергове значення має активація гіпоталамус-гіпофіз-наднирникової системи, яка проявляється у підвищенні синтезу гормонів, зокрема, глюкокортикоїдів. Попередником для синтезу стероїдних гормонів є вільних холестерин наднирників. Мета – провести кількісний аналіз холестерину (вільного та мембранного) у тканині наднирників у різний час після отримання травми. Наднирники померлих від дії травматичних факторів розділяли на три групи: 1-ша - померлі безпосередньо після травми, 2-га – померлі за короткий проміжок часу після травми (від декількох до десятків хвилин), 3-тя – померлі через 1-2 години. Вміст холестерину визначався після гомогенізації тканини та обробки петролейним ефіром. Встановлено, що вміст холестерину у наднирниках померлих відрізняється у залежності від тривалості перебігу смертельної механічної травми. У порівнянні з групою контролю (померлі внаслідок раптової смерті), вміст холестерину в тканині наднирників осіб першої та третьої груп не відрізнявся ($p > 0,05$), але відрізнявся у осіб другої групи ($p < 0,001$). При порівнянні вмісту холестерину у померлих внаслідок насильницької смерті встановлено, що він відрізняється у осіб першої та другої групи ($p < 0,01$), першої та третьої групи ($p < 0,05$), а також другої і третьої групи ($p < 0,001$). Отримані результати можуть бути використані у криміналістиці для встановлення тривалості перебігу травми перед настанням смерті.

Morphologia. – 2013. – Т. VII, № 3. – С. 23-26.

© А.М.Біляков, 2013

Bilyakov A.M. Cholesterol contents in human adrenal tissue in case of different duration of a lethal trauma.

ABSTRACT. Background. Among the systemic changes in trauma the primary importance has the activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal system, and increase in hormones synthesis, such as glucocorticoids. Precursor for the synthesis of steroid hormones is the adrenal free cholesterol. **Objective.** To determine the quantitative cholesterol (free and membrane) content in adrenal tissue at different times after injury. **Methods.** Adrenal glands of people who died at different times after injury were divided into three groups: 1st – death immediately after the injury, 2nd – in a short period of time (from several to tens of minutes), and 3rd – after 1-2 hours. Cholesterol content was estimated after tissue homogenization with the help of petroleum ether. **Results.** It is determined that the amount of cholesterol in human adrenal tissue differs depending on duration of a lethal mechanical trauma. In comparison with a control group (those who died as a result of a sudden death) the cholesterol content in adrenal tissue of persons of the 1st and 3rd groups did not differ ($p > 0,05$), but differs for the 2nd group ($p < 0,001$). While comparing the cholesterol content in those who died as a result of a violent death it was revealed that it is different in persons of the 1st and 2nd groups ($p < 0,01$), 1st and 3rd groups ($p < 0,05$), and 2nd and 3rd groups ($p < 0,001$). **Conclusion.** Obtained results could be used in criminalistics for determination the duration of trauma before death.

Key words: cholesterol, lethal trauma, adrenal glands.

Citation:

Bilyakov AM. [Cholesterol contents in human adrenal tissue in case of different duration of a lethal trauma]. *Morphologia*. 2013; 7(3):23-6. Ukrainian.

Вступ

При дії смертельного травматичного фактору визначення тривалості вмирання людини, або ж тривалості перебігу смертельної механічної травми, має важливе значення для слідства. Її можна визначати, як за локальними проявами, що є характерними для певного виду ушкоджень, зокрема, гістологічними для ушкодження м'яких тканин та внутрішніх органів, морфометричними при тупій механічній травмі м'яких тканин,

гістологічними та фактографічними при переломах ребер, так і за системними змінами в організмі [1].

Серед системних змін при травмі першочергове значення має активація гіпоталамус-гіпофіз-наднирникової системи, яка проявляється у підвищенні синтезу гормонів, зокрема, глюкокортикоїдів [2]. Попередником для синтезу стероїдних гормонів у наднирниках є холестерин [3]. У клітині наявні два фонди холестерину – мем-

бранний та естерифікований (ліпопротеїдний). Кількість мембранного холестерину є відносно постійною і фактично не приймає участь в біосинтезі гормонів. Гормони синтезуються з вільного холестерину, який утворюється з естерифікованого по мірі необхідності [4].

Метою нашого дослідження було визначення кількісного вмісту холестерину (мембранного та вільного) в тканині наднирників 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 від дії різних травматичних факторів, під час проведення судово-медичного дослідження вилучали частини наднирників. У залежності від тривалості перебігу травми 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 хронічної та гострої ішемічної хвороби серця – 10 осіб (раптова смерть).

1 г вологої тканини наднирників висушували при температурі 60°C, 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 товчачик 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 перенесли 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 (патент на корисну модель №54582, зареєстрований 10.11.2010 року), при якому програмно автоматично визначається площа плями досліджуваної речовини на хроматограмі після її сканування в порівнянні з площею плями стандарту [5].

Таким чином, загалом було проведено 40 досліджень, з яких 30 для визначення вмісту холестерину (мембранного та вільного) 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 холестерину в тканині наднирників у осіб, які померли внаслідок травми, представлено в таблиці 1.

Таблиця 1

Кількісний вміст холестерину в тканині наднирників

№	Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Холестерин мкг/100 мг сухої тканини, $X \pm x$	P
1	Ішемічна хвороба серця	Раптова (швидкоплинна смерть)	10	406±38	P1-P2 > 0,05 P1-P3 < 0,001 P1-P4 > 0,05
2	Травма	Безпосередньо після травми	10	500±30	P2-P3 < 0,01 P2-P4 < 0,05
3	Травма	За короткий проміжок часу після травми	10	670±45	P3-P4 < 0,001
4	Травма	1-2 години після травми	10	400±34	

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

Результати коливання кількісного вмісту холестерину в тканині наднирників у осіб, які померли внаслідок травми та в групі контролю, представлено в таблиці 2.

При аналізі результатів визначення кількісного вмісту холестерину в тканині наднирників, які наведені в таблиці 1, було встановлено, що в порівнянні з групою контролю (померлі внаслідок раптової смерті), вміст холестерину у осіб,

які померли безпосередньо після травмування та через 1-2 години статистично не відрізнявся ($p > 0,05$), але відрізнявся у тих, хто вмирав від декількох до десятків хвилин ($p < 0,001$). Порівнюючи його вміст у померлих внаслідок насильницької смерті, де групою контролю були випадки померлих безпосередньо після травми, встановлено, що він відрізняється у осіб, які померли безпосередньо після травмування та через десят-

ки хвилин ($p < 0,01$), у осіб, які померли безпосередньо після травмування та через 1-2 години

($p < 0,05$) а також у осіб, які померли через десятки хвилин та 1-2 години ($p < 0,001$).

Коливання кількісного вмісту холестерину в тканині наднирників

Таблиця 2

№	Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Холестерин мкг/100 мг сухої тканини
1	Ішемічна хвороба серця	Раптова (швидкоплинна смерть)	10	230-530
2	Травма	Безпосередньо після травми	10	380-650
3	Травма	За короткий проміжок часу після травми	10	500-880
4	Травма	1-2 години після травми	10	250-560

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.

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

Таблиця 3

№	Причина смерті	Тривалість вмирання	n	Холестерин мкг/100 мг сухої тканини, $X \pm x$	X-2 σ	X+2 σ
1	Ішемічна хвороба серця	Раптова (швидкоплинна смерть) контроль	10	406 \pm 38	166	646
2	Травма	Безпосередньо після травми	10	500 \pm 30	306	694
3	Травма	За короткий проміжок часу після травми	10	670 \pm 45	390	950
4	Травма	1-2 години після травми	10	400 \pm 34	188	612

Приймаючи до уваги межі коливання кількісного вмісту холестерину в групах осіб, смерть яких настала внаслідок травмування, слід зазначити, що вміст холестерину в тканині наднирників трупів людей в межах від 188 до 950 мкг/100 мг сухої тканини вказує, що смерть настала внаслідок травмування. Однак, діагностично значимі межі коливання кількісного вмісту холестерину в групі контролю від 166 до 646 мкг/100 мг сухої тканини виключає даний, як діагностично значимий, а тому лише виявлення вмісту холестерину в межах від 646 до 950 мкг/100 мг сухої тканини вказує, що смерть настала внаслідок травмування. Поряд з цим, виявлення кількісного вмісту холестерину від 166 до 188 мкг/100 мг сухої тканини вказує, що причиною смерті є раптова смерть. Однак, вузькі межі даного показника не дозволяють його розцінювати, як надійний критерій діагностики раптової смерті.

Зміну кількісного вмісту холестерину в залежності від тривалості вмирання можна пояснити тим, що при травмах в наднирниках відбувається його вивільнення з естерифікованого для подальшого синтезу гормонів, які приймають участь в стрес-реакції. Однак, зважаючи на різну тривалість вмирання, він не завжди встигає гід-

роксилюватися на етапі синтезу прегненолону [1]. Якщо ж вмирання людини займає тривалий час (години), то кількість холестерину зменшується до рівня, що характерний для його вмісту в наднирниках померлих внаслідок ішемічної хвороби серця (група контролю), що обумовлене максимальним використанням вільного холестерину для синтезу гормонів.

Зважаючи на граничні межі коливання вмісту холестерину в групі осіб, смерть яких настала за короткий проміжок часу після травми в межах від 694 до 950 мкг/100 мг та відсутність перехрещення даного діапазону з іншими групами досліджень, можна стверджувати, що за даним показником можуть бути розроблені діагностично значимі критерії для визначення тривалості перебігу смертельної механічної травми в ранньому терміні антемортального періоду.

Таким чином, вміст холестерину може бути використаний як доказ травматичного генезу смерті в тому випадку, коли тривалість перебігу смертельної механічної травми становить десятки хвилин. Якщо під час розтину наявні ознаки життєвої травми і травматичний генез смерті не викликає сумнівів, вміст холестерину дозволяє віддиференціювати тривалість її перебігу в

різні проміжки часу: безпосередньо після травми, за короткий проміжок часу (від декількох до десятків хвилин), через 1-2 години.

Підсумок

Дослідження показали, що кількість холестерину в тканині наднирників у осіб, які померли безпосередньо після травми та через 1-2 години статистично не відрізняється від групи контролю ($p > 0,05$) і є діагностично значимим для тих, хто вмирав за короткий проміжок часу ($p < 0,001$). Його вміст в наднирниках в групах осіб, причи-

ною смерті яких є травма, статистично відрізняється між собою в різні проміжки часу: безпосередньо після травми, за короткий проміжок часу (від декількох до десятків хвилин), через 1-2 години, що може бути використане для встановлення тривалості перебігу травми.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з аналізом біологічно активних речовин для встановлення тривалості перебігу смертельної механічної травми у різні проміжки часу.

Літературні джерела References

1. Динамика участия гипофиза, эпифиза и надпочечников в организации стресс-реакции при смертельной травме / А. Ф. Яковцова, Г. И. Губина-Вакулик, В. Д. Марковский, И. В. Сорочкина // Патология. – 2005. – Т. 2, № 3. – С. 35.

Yakovtseva AF, Gubina-Vakulik GI, Markovskiy VD, Sorokina IV. [The dynamics of participation of pituitary, pineal gland and the adrenal glands in the organization of the stress response in the fatal injury]. Pathologiya [Pathologia]. 2005;2(3):35. Russian.

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

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

3. Ахрем А. А. Полный синтез стероидов / А. А. Ахрем, Ю. А. Титов. – М. : Медицина, 1967. – 306 с.

Akhrem AA, Titov YuA. Polniy sintez steroidov [Total

synthesis of steroids]. Moscow: Nauka; 1967. 306 p. Russian.

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. 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. Содержание холестерина в ткани надпочечников человека при различной длительности течения смертельной травмы.

Реферат. Среди системных изменений при травме первостепенное значение имеет активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, которая проявляется в повышении синтеза гормонов, в частности, глюкокортикоидов. Предшественником синтеза стероидных гормонов выступает свободный холестерин надпочечников. Цель – провести количественный анализ холестерина (свободного и мембранного) в ткани надпочечников в разное время после получения травмы. Надпочечники умерших от действия травматических факторов разделяли на три группы: 1 -я - умершие непосредственно после травмы, 2-я - умершие за короткий промежуток времени после травмы (от нескольких до десятков минут), 3-я - умершие через 1-2 часа. Содержание холестерина определялось после гомогенизации ткани и обработки петролевым эфиром. Установлено, что содержание холестерина в надпочечниках умерших отличается в зависимости от длительности течения смертельной механической травмы. По сравнению с группой контроля (умершие вследствие внезапной смерти), содержание холестерина в ткани надпочечников лиц первой и третьей групп не отличалось ($p > 0,05$), но отличалось у лиц второй группы ($p < 0,001$). При сравнении содержания холестерина у умерших вследствие насильственной смерти установлено, что оно отличается у лиц первой и второй группы ($p < 0,01$), первой и третьей группы ($p < 0,05$), а также второй и третьей групп ($p < 0,001$). Полученные результаты могут быть использованы в криминалистике для установления длительности течения травмы перед наступлением смерти.

Ключевые слова: холестерин, смертельная травма, надпочечники.