

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ПРИВОЛЖСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Эделев Иван Сергеевич

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ПОСМЕРТНОЙ
ДИАГНОСТИКИ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРЕМОРТАЛЬНОГО ПЕРИОДА**

14.03.05 Судебная медицина

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Кандидат медицинских наук,

доцент Воробьев В.Г.

Нижний Новгород

2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Глава 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ОЦЕНКИ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРЕМОРТАЛЬНОГО ПЕРИОДА	13
1.1. Понятия смерти и момента ее наступления.....	13
1.2. Определение типа танатогенеза.....	14
1.3. Взаимосвязь процессов умирания и оксидантного стресса.....	22
1.4. Вещества низкой и средней молекулярной массы – маркер экзогенной и эндогенной интоксикации.....	24
1.5. Миоглобин - тканевый транспортер кислорода.....	27
1.6. Методы определения веществ низкой и средней молекулярной массы и миоглобина.....	29
1.7. Влияние искажающих факторов на результаты лабораторных исследований.....	30
1.8. Разработка программных продуктов.....	33
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	35
2.1. Материалы исследования.....	35
2.2. Методы исследования.....	39
2.2.1. Метод определения веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче.....	39
2.2.2. Газохроматографическое определение этанола.....	40
2.2.3. Методы определения миоглобина.....	41
2.2.4. Судебно-гистологическое исследование.....	43
2.2.5. Методика статистической обработки данных.....	46
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ БИОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ТРУПНОЙ КРОВИ И МОЧИ С ЦЕЛЮ УСТАНОВЛЕНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ПРЕМОРТАЛЬНОГО ПЕРИОДА.....	48

3.1. Определение содержания веществ низкой и средней молекулярной массы крови и мочи в зависимости от продолжительности премортального периода	48
3.2. Влияние наличия этанола на уровень содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в моче и крови трупов.....	59
3.3. Изучение уровня содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче в зависимости от продолжительности и температуры хранения.....	69
3.4. Изучение уровня содержания миоглобина в трупной крови в зависимости от продолжительности и температуры хранения.....	78
Заключение.....	92
Выводы.....	101
Практические рекомендации.....	102
Обозначения и сокращения.....	103
Список литературы	104
Приложение	126

ВВЕДЕНИЕ

Изучение процесса умирания человека, определение особенностей премортального периода, оценка его продолжительности являются приоритетными задачами судебно-медицинской танатологии. Решение данных проблем имеет большое значение в экспертной практике и необходимо для судебно-следственных органов при установлении возможности совершать потерпевшим перед смертью активные целенаправленные действия и решения вопросов о своевременности и полноте проведенных лечебных и реанимационных мероприятий в делах профессиональных правонарушений медицинских работников [75, 115, 124, 172]. Использование для этих целей макро- и микроморфологических исследований недостаточно [65, 67, 82, 101, 131, 132], поскольку, нередко организм не успевает отреагировать на фатальное воздействие на тканевом и клеточном уровнях (например, в случае мгновенно наступившей смерти, практически без премортального периода), что исключает возможность получения необходимых данных [8, 84].

Биохимические методы позволяют регистрировать изменения на молекулярном уровне, предшествующие морфологическим нарушениям [3]. Они могут служить маркерами конкретных патологических состояний организма, расширяя возможности экспертных исследований, позволяя выделить в процессе умирания более короткие временные промежутки.

Биохимические исследования, в силу их высокой точности и возможности регистрации опережающих изменений, при различных состояниях организма все чаще применяются в судебно-медицинской практике [10, 74, 76, 167]. Явления интоксикации, сопровождающие практически любые патологические состояния, приводят к нарушению работы ферментов с гистотоксическими последствиями и усилению апоптоза и цитолиза [45]. Одним из факторов, определяющих развитие интоксикации независимо от причины, является активация свободнорадикальных процессов [86, 127]. Составная часть пула веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) – маркера интоксикации, является продуктами

катаболизма белков под действием свободнорадикального окисления. При развитии повреждений мышечных тканей любого генеза (в результате механических травм или аутолитических процессов), в кровь попадает миоглобин - белок сердечной и скелетных мышц позвоночных животных и человека, связывающий кислород и передающий его окислительным системам клетки. Содержание этих веществ может быть использовано для характеристики особенностей премортального периода [95, 113]. Однако, изучение биохимических показателей трупного материала в значительной степени ограничено тем, что в постмортальном периоде происходят существенные искажения их значений, поэтому получение достоверных результатов невозможно без учета изменений, связанных с посмертными процессами, выраженность и скорость течения которых, зависит от внешних условий, а также прижизненного воздействия биологически и химически активных веществ [71].

Все вышеизложенное свидетельствует, что проблема совершенствования судебно-медицинской посмертной диагностики особенностей премортального периода является актуальной и имеет большую практическую значимость, а использование биохимических методов исследования перспективным в установлении новых диагностических критериев, что и позволило поставить цель исследования, сформулировать его задачи, определить научную новизну, теоретическую и практическую значимость, а так же разработать положения выносимые на защиту.

Цель исследования

Разработать критерии повышения эффективности судебно-медицинской диагностики продолжительности премортального периода по биохимическим показателям крови и мочи.

Задачи исследования

1. Определить динамику содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче в зависимости от продолжительности премортального периода.

2. Разработать способ определения продолжительности премортального периода по соотношению содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче.

3. Оценить влияние наличия этанола на уровень содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче.

4. Изучить изменения содержание веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче и миоглобина в крови в зависимости от температуры и продолжительности хранения биологических объектов.

5. С помощью математической основы разработать программы для повышения эффективности диагностики продолжительности премортального периода по содержанию веществ низкой и средней молекулярной массы и миоглобина в крови, с учетом влияния температуры и продолжительности хранения биологических объектов.

Научная новизна

Впервые установлена возможность использования соотношения уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче трупов в качестве маркера продолжительности премортального периода (Способ посмертного определения факта мгновенно наступившей смерти // Патент РФ на изобретение № 2676700 от 10.01.2019).

Изучено влияние этанола на концентрацию веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче.

Получены новые данные о влиянии длительности и температуры хранения трупной крови и мочи на уровень веществ низкой и средней молекулярной массы, и миоглобина. Установлены предельные сроки продолжительности хранения крови и мочи для определения содержания ВНСММ и миоглобина.

Оценены диагностические возможности результатов использования методов эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста для определения уровня содержания миоглобина в крови трупа.

Разработана специальная сетка для подсчета морфологических структур и очаговых изменений в гистологических препаратах органов и тканей (Патент РФ на полезную модель № 127935 от 10.05.2013).

Разработаны компьютерные программы «Продолжительность предсмертного периода» (Свидетельство РФ о государственной регистрации программы для ЭВМ №2018617510 от 25.06.18) и «Эксперт миоглобин» (Свидетельство РФ о государственной регистрации программы для ЭВМ, №2017611128 от 19.01.2017).

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявленные закономерности динамики содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче трупов дают новую, научно-обоснованную базу использования результатов биохимических реакций, для установления продолжительности премортального периода.

Разработанный способ посмертного определения продолжительности премортального периода расширяет возможности и повышает объективность и доказательную значимость экспертных выводов при выполнении соответствующих экспертиз.

Полученные данные позволяют оценить влияние внешних условий на уровень веществ низкой и средней молекулярной массы и миоглобина в крови и моче трупов.

С помощью математической основы разработаны программы, позволяющие по биохимическим показателям уровня веществ низкой и средней молекулярной

массы и миоглобина, с учетом искажающих факторов на получаемые результаты, определять продолжительность премортального периода, повышая доказательственную значимость судебно-медицинских экспертных исследований.

Полученные основные результаты исследования рекомендованы для чтения лекций и проведения занятий по теме «судебно-медицинская экспертиза трупа» на кафедрах судебной медицины.

Методология и методы исследования

В работе целенаправленно, планомерно и последовательно использовались эмпирические и теоретические, а также общенаучные методы сравнительного изучения данных (анализ, обобщение, дедукция, классификация и др.), полученных в ходе изучения документации, морфологических, гистологических и биохимических исследований биоматериала. Результаты подвергались математико-статистической обработке и комплексному анализу с использованием компьютерных технологий и оригинальных программных продуктов.

Основные результаты исследования отражены в 9 научных публикациях (8 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, из них 2 – индексируемых в международной базе цитирования SCOPUS) и доложены на научных конференциях.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. Уровень содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче дает возможность его использования для определения продолжительности премортального периода.

2. Наличие этанола влияет на содержание веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной моче. Изменений в крови не выявлено.

3. Сохранность содержания ВНСММ и миоглобина в трупной крови и моче зависит от температуры и продолжительности их хранения.

4. Разработанные компьютерные программы позволяют ускорить и повысить точность установления продолжительности премортального периода, автоматизируя оценку результатов биохимического исследования крови, с учетом

влияния температуры и продолжительности хранения.

Связь работы с научными программами и планами

Диссертационное исследование выполнено на базе:

1. Кафедры клинической судебной медицины ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России в соответствии с перечнем приоритетных направлений научных исследований ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, утвержденных приказом № 342 от 19.10.2018 г.

2. ГБУЗ, НО «Нижегородское областное бюро судебно-медицинской экспертизы».

Тема диссертационного исследования утверждена Ученым советом ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (протокол №12 от 01.12.2017 г.).

Диссертационное исследование на тему: «Совершенствование судебно-медицинской посмертной диагностики особенностей премортального периода» одобрено Комитетом по этике ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (протокол №4 от 13.03.2019 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационного исследования, его цели, задачи и результаты полностью соответствуют паспорту научной специальности 14.03.05 – «Судебная медицина» (медицинские науки) по пункту 1 – изучение различных причин смерти, механизмов ее наступления, процесса умирания, посмертных процессов при разных видах насильственной и ненасильственной смерти, разработка методов установления давности наступления смерти, и по пункту 5 – изучение причин и танатогенеза внезапной смерти, совершенствование методов ее диагностики и профилактики.

Личное участие автора

Личное участие автора осуществлялось на всех этапах диссертационной работы и заключалось в планировании, организации и проведении научного

исследования по всем разделам диссертации, включая аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме.

Автором самостоятельно обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель, задачи и направления научного исследования, проводился анализ предварительных сведений об обстоятельствах наступлений смерти и следственных материалов, осуществлялся забор биоматериала от трупов, его подготовка и участие в лабораторных исследованиях, последующая оценка полученных данных, с использованием современных методов статистического анализа и интерпретация результатов.

Автором разработаны методические рекомендации, с внедрением в практику полученных в ходе диссертационного исследования данных.

Степень достоверности исследования

Достоверность полученных результатов достигается комплексным и корректным подходом к использованию теоретических и исследовательских данных, достаточным числом наблюдений, объективностью полученных результатов и верным статистическим анализом.

Первичная документация и материалы статистической обработки проверены и признаны достоверными.

Выводы логичны и адекватно отражают содержание диссертационной работы, соответствуют поставленным задачам. Основные результаты опубликованы в научных изданиях, в том числе в рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Апробация диссертации

Диссертация апробирована и рекомендована к защите на заседании проблемной комиссии «Биомедицинские науки» ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (протокол № 6 от 28.05.2019 г.).

Основные положения диссертационного исследования доложены и обсуждены на: Всероссийской научно-практической конференции с

международным участием студентов, ординаторов, аспирантов, молодых ученых «Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы» (Пермь, 2015, 2016, 2017); Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы» (Н. Новгород, 2016); Межрегиональном научно-практическом симпозиуме «Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы» (Суздаль, 2017); Всероссийской конференции ПИМУ «Молодые ученые» (Нижний Новгород, 2017-2018); Международной конференции «Medicine Pressing Questions» Баку, Азербайджан (2017, 2018); Межрегиональном научно-практическом симпозиуме «Вопросы организации и производства судебно-медицинской экспертизы» (Саранск 2018); Круглом столе в рамках межрегиональной научно-практической конференции «Организационно-правовые вопросы судебно-медицинской экспертизы» (Н. Новгород, 2018); VIII Всероссийском съезде судебных медиков с международным участием «Достижения российской судебно-медицинской науки XX-XXI столетия: к столетию со дня образования современных судебно-экспертных школ» (Москва, 2018); На производственных совещаниях коллектива ГБУЗ НО «Нижегородское областное бюро судебно-медицинской экспертизы» № 567, 568, 580 (Н. Новгород, 2018, 2019); Международной научной конференции «Международные и национальные тенденции и перспективы развития судебной экспертизы» (Н. Новгород, 2019).

Внедрение результатов исследования

Результаты и методические рекомендации внедрены в работу следующих экспертных учреждений: ГБУЗ НО «Нижегородское областное бюро судебно-медицинской экспертизы», ГБУЗОТ ВО "Бюро судебно-медицинской экспертизы"(Владимирская область), ГБУЗ "Волгоградское областное бюро судебно-медицинской экспертизы», ГКУЗ РМ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы» (Республика Мордовия), а так же в учебные программы подготовки студентов, ординаторов и повышения квалификации судебно-

медицинских экспертов на кафедре клинической судебной медицины ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 9 работ, из них 8 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки России, в том числе 2 – индексируемых в международной базе цитирования SCOPUS, получены 1 патент на изобретение, 1 - на полезную модель, 2 свидетельства на программы для ЭВМ.

Объем и структура диссертации.

Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, указателя литературы, включающего 122 отечественных и 52 иностранных источника и приложения.

Диссертация иллюстрирована 36 таблицами, 25 рисунками, 4 приложениями.

Глава 1

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ОЦЕНКИ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРЕМОРТАЛЬНОГО ПЕРИОДА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Понятие смерти и момента ее наступления

В судебно-медицинской танатологии одними из важных вопросов являются: установление времени и факта наступления смерти человека, а также продолжительности периода, прошедшего с момента фатального воздействия до смерти [104]. Для правоохранительных органов эти сведения очень важны, а решение представляет значительные трудности и требует использования четкой и однозначной терминологии и научно обоснованного выделения основных стадий с определением их критериев.

Понятия смерти и момента ее наступления трактуются по-разному. Федеральный закон от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации" в статье № 66 определяет момент смерти как «...момент смерти мозга человека или биологической смерти (необратимой гибели человека) ...». При этом смерть мозга регистрируется консилиумом врачей на основании полной и необратимой утраты всех его функций. В свою очередь, биологическая смерть человека может быть установлена при развитии ранних или поздних трупных явлений [61]. С.С. Самищенко использует другое определение, предложенное Организацией Объединенных Наций, согласно которому "Смерть - это полное прекращение всех жизненных функций организма". В данном случае определение момента смерти сводится к регистрации момента прекращения проявлений всех жизненных процессов. Близким по смыслу является биологическое понятие смерти: "Смерть - это прекращение жизнедеятельности организма и гибель индивидуума как обособленной живой системы, сопровождающаяся разложением белков и других биополимеров, являющихся основным материальным субстратом жизни" [89]. Ю.И. Пиголкиным [102]

используется определение вегетативной смерти, как состояния, которое характеризует «...стойкое и необратимое прекращение отправления основных функций организма, обеспечивающих постоянство основных гомеостатических параметров...». Он считает, что «Смерть человека — это процесс необратимого прекращения деятельности коры головного мозга». В данном случае смерть расценивается как явление, имеющее протяженность во времени, а также указывается на биосоциальную сущность человека.

В ходе работы международного конгресса по этическим вопросам трансплантации органов, проводимом в г. Мюнхене, Л.Б. Лихтерманом [48] указывается на отсутствие единого подхода к регистрации момента смерти.

С юридической точки зрения смерть человека трактуется как событие, сопровождающееся возникновением новых, изменением или прекращением действовавших юридических прав и обязанностей, относящееся к числу актов гражданского состояния и в соответствии с законодательством подлежащее государственной регистрации [40].

Отсутствие единого научно обоснованного подхода к определению момента смерти человека свидетельствует об актуальности разработки критериев, позволяющих оценить динамику и продолжительность периода умирания и установить четкую грань, определяющую конец этого периода.

1.2. Определение типа танатогенеза

Танатогенез (thanatos - смерть + genesis - зарождение, происхождение) — динамика клинических, биохимических и морфологических изменений в процессе умирания [11].

Механизм смерти (танатогенез) — это «...последовательность структурно-функциональных нарушений, вызванных взаимодействием организма с повреждающими факторами, которая приводит к смерти...». В соответствии с органом или системой, повреждения которых вызвали необратимые процессы и повлекли смерть, производится классификация видов танатогенеза. Основные

варианты танатогенеза включают: мозговой, сердечный, легочный, печеночный, почечный, коагулопатический и эпинефральный. Ведущим звеном механизма умирания может стать также недостаточная или избыточная функция любого эндокринного органа, кроме половых желез. Если имеет место сочетание нескольких подобных поражений, то говорят о комбинированном танатогенезе [99]. Д.В. Богомолковым и др. [101] предложена методика определения типа танатогенеза, основанная на вычислении танатогенетических коэффициентов, наличие и значение которых производится путем оценки площади патологических процессов во внутренних органах, которые явились несовместимыми с жизнью. Определение площади поражения органа осуществляется при гистологическом исследовании.

По мнению Ю.В. Збруевой [26] и Г.К. Гуссейнова [20] изменение типа танатогенеза зависит от длительности посттравматического периода. Так, в течение 1-х суток наблюдается преимущественно комбинированный танатогенез, который проявляется в сочетании отека легких, мозга, малокровия внутренних органов, травматического шока. По наступлению 2-х, 3-х суток тип танатогенеза изменяется на коагулопатический и сопровождается признаками ДВС - синдрома или идет по пути легочного с развитием респираторного дистресс-синдрома взрослых (РДСВ) и переходом в пневмонию. В более поздние сроки посттравматического периода преобладают гнойные процессы в легочной, печеночной ткани или ткани мозга с поражением оболочек.

Вышеописанные методы определения типа танатогенеза дают возможность подойти патогенетически к установлению причины смерти, но не позволяют решать вопросы, связанные с продолжительностью премортального (предсмертного) периода.

Премортальный период — (pre – предшествующий; mortal – смертный) это отрезок времени, прошедший между фатальным травматическим или иным воздействием и моментом смерти, или «последний период жизни больного» [75, 58].

В качестве аналога термина «преморальный период» используют «агональный период». Агония (agonia — борьба): предсмертное состояние организма; перенесенное состояние чего-нибудь перед концом, гибелью [42].

И.В. Тимофеев в своей работе «Патология лечения. Руководство для врачей» [106] под преморальным понимает отрезок болезни «...факультативно или облигатно предшествующий наступлению момента клинической или биологической смерти». А.Р. Поздеев [75] характеризует преморальный период возникновением такого клинического состояния, коррекция которого невозможна без интенсивного лечения, направленного на восстановление нарушенного гомеостаза.

Особенности момента начала и течения преморального периода очень переменчивы — неизбежность наступления смерти оказывается очевидной только после ее наступления, поэтому, в клинической практике, использование термина преморальный период, предполагает ретроспективное изучение данной переходной стадии у умершего больного [107].

Преморальный период заслуживает пристального внимания и детального изучения, даже когда имеется полная информация об обстоятельствах и клиническом течении травмы или заболевания.

Паспортом научной специальности 14.03.05 «Судебная медицина» определены области исследований, и в частности это «...изучение различных причин смерти, механизмов ее наступления, процесса умирания...» «изучение причин и танатогенеза внезапной смерти, совершенствование методов ее диагностики и профилактики», что свидетельствует о важном научном и практическом значении критериев продолжительности преморального периода и методов, позволяющих судить о динамике умирания.

Положениями приказа МЗ РФ №73 «...по определению критериев и порядка определения момента смерти человека, прекращения реанимационных мероприятий» регламентировано, что: «В процессе умирания выделяют стадии: агонию, клиническую смерть, смерть мозга и биологическую смерть» [62].

С позиции реаниматологии [59], процесс умирания носит название «терминальное состояние» и включает в себя следующие стадии: предагональное состояние, терминальная пауза, агония, клиническая и биологическая смерть. Стадия агонии трактуется как последний этап умирания, характеризующийся нарастанием активности компенсаторных механизмов, в борьбе с угасанием жизненных сил организма, а длительность умирания характеризуется продолжительностью агонального периода и периода клинической смерти. При различных причинах смерти продолжительность агонии и проявления ее могут различаться. Так, при умирании от травматического шока или кровопотери период агонии может продолжаться от 2 — 3 до 15 — 20 минут. В свою очередь механическую асфиксию сопровождает период агонии, составляющий 5 — 10 минут. При внезапной остановке сердца агональное дыхание может регистрироваться в течение 5 — 10 минут после прекращения кровообращения.

Ряд состояний (раковая кахексия, сепсис, перитонит) сопровождаются длительной интоксикацией, и агония развивается постепенно, часто без терминальной паузы и может продолжаться длительно — от нескольких часов до нескольких суток [59, 103].

В свою очередь, О.В. Калмин и О.И. Федулов [33] выделяют в процессе умирания 3 этапа: предагональное состояние, терминальная пауза и агония, исключая из понятия «Терминальных состояний» и процесса умирания, клиническую и биологическую смерть.

М.И. Авдеев считает, что быстрая смерть, какими бы причинами она ни была обусловлена, сопровождается одинаковой морфологической картиной [1], отмечая, что быстро наступившая смерть характеризуется наличием жидкой крови в полостях сердца и крупных кровеносных сосудов. Выявление красных свертков крови также свидетельствует о коротком агональном периоде.

А.Г. Резник указывает [84], что при быстрой смерти от острых форм ишемической болезни сердца, как правило, отсутствуют выраженные макроскопические изменения. Это затрудняет использование макроскопической

картины для определения темпа умирания, поскольку не дает возможности оперировать каким-либо конкретным временным интервалом.

В судебно-медицинской литературе установлению давности наступления смерти и темпа умирания посвящено большое количество работ: Ю.В. Збруева и др. [27], П.Г. Джувалаев и др. [65], Ю.И. Пиголкин и др. [115], Е.М. Кильдюшов [36] и др.

В методических рекомендациях «Определение длительности и темпа умирания по морфологическим признакам» [67] по результатам комплексной оценки макро - и микроморфологических и иммуногистохимических изменений определены 5 основных вариантов темпа наступления смерти:

- 1) молниеносный темп (агональный период не превышает 15-30 минут);
- 2) быстрый темп (агональный период более 30 минут и до 2 часов);
- 3) средний темп (агональный период более 2 часов и до 6 часов);
- 4) медленный темп (агональный период более 6 часов и до 12 часов);
- 5) длительный темп (агональный период более 12 часов).

Установление продолжительности агонального периода в настоящее время осуществляется путем проведения комплексного морфологического, макро- и микроскопического исследования, включающего анализ секционной картины, результатов гистологического исследования и данных, полученных иммуногистохимическими методами [65, 67, 68, 82, 101]. В.А. Путинцев и Д.В. Богомоллов рекомендуют методики, основанные на совокупной оценке макроскопических и микроскопических признаков, выявляемых в ходе секционного и последующего гистологического исследования [67, 68, 81]. Авторы указывают, если агональный период не превышает 15-30 минут вне зависимости от причины смерти, наблюдается полное отсутствие отека легких и мозга или незначительная его выраженность. Гистологическое исследование позволяет выявить полнокровие капиллярного русла внутренних органов, в особенности легких и коры почек, свежие кровоизлияния в ткани легких без реактивных изменений. В ткани ретикулярной формации головного мозга выявляется

набухание нейронов с очаговым реактивным кариолизом и цитолизом при отсутствии глиальной реакции. В своей другой своей работе В.А. Путинцев [80] отмечает, что первые минимальные гистологические проявления могут развиваться еще раньше – при смерти без агонии, или, когда ее продолжительность не превышает 15 минут, в виде минимальных проявлений отека, преимущественно перицеллюлярного, а также набухания магноцитов ретикулярной формации и клеток Пуркинье мозжечка.

В миокарде определяются признаки сердечного танатогенеза в виде диффузной фрагментации и цитолиза, регистрируется волнообразная извитость кардиомиоцитов. Признаки ДВС – синдрома, как правило, полностью отсутствуют (микротромбы не выявляются, или встречаются только в одном органе) и отсутствуют проявления респираторного дистресс-синдрома. Признаков шоковой перестройки гемодинамики в виде наличия первичной мочи в капсулах почечных клубочков не регистрируется, а специализированные замыкающие артерии легких и мозга указывают на наличие спазма. В следующий временной интервал от 30 минут до 12 часов отмечаются макроскопические признаки развития отека головного мозга, а при гистологическом исследовании в коре головного мозга обнаруживается преобладание ишемических изменений пирамидных нейронов, явления сателлитоза и очаговой нейронофагии клеточных элементов с признаками кариолиза в стволе головного мозга. В почках появляются признаки централизации кровообращения. В составе интраальвеолярного транссудата в легких отмечается примесь фибрина, что, вероятно, свидетельствует о развитии респираторного дистресс-синдрома взрослых. По прошествии 8 часов в легких возникают интравенулярные и интракапиллярные лейкостазы, а затем происходит выход лейкоцитов в альвеолы даже при интактных бронхах. В надпочечниках на этих сроках диагностируются зоны делипоидизации в сетчатой зоне [53, 67, 68, 82]. По мнению Ю.И. Пиголкина [99] гипертрофия с последующей делипоидизацией коры надпочечников встречается в исходе длительно текущих тяжелых повреждений как проявление стресс-реакции.

Основными признаками временного промежутка от 12 часов до суток являются изменения в легких, где кроме выявляемой ранее примеси фибрина к альвеолярному транссудату, встречаются очаговые интраальвеолярные или панбронхиальные скопления лейкоцитов, свидетельствующие о развитии гнойно-фибринозной пневмонии. Фибрин приобретает эозинофильную окраску, становится плотным, утрачивает сетчатую структуру, местами идет формирование гиалиновых мембран. Нарастают явления отека в ткани мозга и на месте погибших нейронов образуются гиалиновые узелки смешанного строения. В надпочечниках зоны делипоидизации появляются в пучковой зоне и становятся обширными в сетчатой, встречаются участки цитолиза. На более поздних сроках картина висцеральных поражений определяется конкретным типом танатогенеза, а также характером и последовательностью составляющих его синдромов. Обобщенные признаки достоверно не могут быть определены [67, 68].

Период в 1 месяц Д.В. Богомоллов с соавторами выделяют в отдельную группу поздней смерти. В этой группе возникают патологические изменения, сходные с проявлениями синдрома гнойно-резорбтивной лихорадки:

- отмечается малокровие внутренних органов, кровоизлияния отсутствуют;
- гипотелектатические, реже ателектатические изменения выявляются в легких;
- отек легких выражен слабо или умеренно, фибрин в альвеолах обнаруживается редко, гиалиновых мембран не наблюдается;
- сердце, как правило, с явлениями отека стромы и атрофии кардиомиоцитов;
- перисинусоидальные пространства печени чаще расширены.

Иные изменения мозга и сердца переменны и зависят в основном от варианта танатогенеза [68].

Предложенные иммуногистохимические методы определения темпа умирания, безусловно, обладают достаточной информативностью и специфичностью, но на достоверность результатов большое влияние оказывают

посмертные процессы, техника забора и фиксации тканей [67]. George L. Kumar и др. [32] отмечают, что фиксация формалином и заливка в парафин остаются стандартными методами подготовки объектов, но они отрицательно сказываются на антигенных свойствах молекул-мишеней в ткани до неизвестных степеней и способствуют плохой воспроизводимости результатов.

Деградация органов и тканей начинается сразу после смерти, а время до начала фиксации объекта очень часто становится критичным. Поэтому в практической деятельности судебно-медицинских гистологических лабораторий иммуногистохимические методы в настоящее время не решают полностью поставленную задачу [109, 111].

Обзорный анализ методов определения темпа умирания свидетельствует об отсутствии единого подхода в оценке макроскопических и микроскопических признаков, позволяющих четко разграничить стадии данного процесса. Так, по мнению Е.С. Тучика и др. [112] и А.А. Чертовских [119] классификация основных темпов умирания, основанная на макро - и микроморфологических изменениях дает слишком протяженные интервалы, особенно в начальном периоде. Это не позволяет выделить случаи, когда смерть наступает в течение нескольких десятков секунд – минут от момента фатального воздействия, поскольку для развития тканевых и клеточных изменений требуется достаточно продолжительное время.

На настоящий момент остается актуальной разработка специфичных и достоверных лабораторных методов, в том числе – биохимических, позволяющих выделить более короткие промежутки в процессе умирания и обладающих достаточной воспроизводимостью и надежностью.

Динамика биохимических показателей при отдельных видах смерти демонстрирует тонкие и глубокие нарушения обменных процессов в тканях [21].

Т.А. Дежинова и др. [21] и В. Madea [156] отмечают, что биохимические исследования в танатологии - особый раздел биохимии, содержащий научные

сведения о закономерностях развития метаболических процессов, корреляции прижизненных и постмортальных маркеров танатогенеза.

1.3. Взаимосвязь процессов умирания и оксидантного стресса

На основе анализа литературы по биологии смерти, проведенном S. Coyle и др. [155] с использованием 3360 статей из базы данных Embase и 2661 статьи из базы данных Medline, сделан вывод об исключительной малоизученности этого процесса и отсутствии работ, перспективно исследующих биохимические изменения во время процесса смерти. Авторами выявлены только единичные работы, посвященные биохимическим показателям агонального статуса. Так, E.K. Perry и др. [161] показали, что при увеличении скорости умирания наблюдается достоверное снижение активности глутаматдекарбоксилазы, фосфофруктокиназы, рН; и увеличение содержания таких аминокислот как фенилаланин, лизин, лейцин и триптофан в тканях головного мозга. L. Tran [173] в своих исследованиях установил отсутствие влияния продолжительности премортального периода на уровень IgE в сыворотке крови. H. Kadhim и др. [165] выявили изменение содержания интерлейкина-2 в ткани головного мозга в агональный период у пожилых людей и грудных детей, однако высказали сомнения в полученных результатах, поскольку размер выборки для пожилых был очень небольшим (2 человека). Более широко представлены работы, посвященные умиранию при отдельных причинах смерти. Так, V.L. Reid и др. [126] провели поиск прогностических биомаркеров умирания при онкологических заболеваниях с использованием трех баз данных «Medline», «Scopus», «Cochrane» с окончательной обработкой и использованием модифицированной доказательной системы «GRADE». В качестве предполагаемых биохимических показателей танатогенеза были предложены сывороточный альбумин, натрий, С-реактивный белок, мочевины, мочевая кислота, активность щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы и интерлейкин-6. Однако

различия данных параметров, в зависимости от длительности агонального периода, не изучались.

По мнению В.И. Первушина и др. [73] и L.V. Andersen [146] биохимическим показателем, который позволяет оценивать вышеперечисленное, является концентрация молочной кислоты (лактата).

На примере 236 пациентов А.М. Dell'Anna и др. [162] было продемонстрировано, что повышенная концентрация лактата была связана со смертью в результате остановки сердца. Кратковременная агония (внезапная остановка системного кровообращения) и связанная с этим острая аноксия/гипоксия вызывает активацию процессов анаэробного гликолиза [164], в результате чего в крови может появиться значительное количество лактата. В.В. Зарубина полагает, что состояние гипоксии в случаях продолжительного классического механизма утопления обуславливает менее значительную интенсификацию анаэробного гликолиза. Приведенные данные подтверждаются высокой активностью 5-изоформы лактатдегидрогеназы при случаях смерти, с наличием скоротечного агонального периода [31]. А.Ю. Власова [14] установила, что терминальные состояния характеризуются нарушением деятельности ЦНС, сердечно-сосудистой системы, расстройством дыхания, что обуславливает кислородное голодание тканей и тканевой ацидоз. В агональном периоде происходят нарушения энергообразующих процессов, сопровождающихся, при неполном восстановлении кислорода, образованием высокорепреактивных свободных радикалов. С другой стороны, E. Gutjahr и др. [150] считают, что для некоторых видов смерти (например, механическая асфиксия) характерным является значительная концентрация в крови катехоламинов (адреналина и норадреналина), а также гистамина, ацетилхолина и серотонина. В агональный период резко возрастает содержание катехоламинов и гистамина, если смертельному исходу предшествовала бурная реакция со стороны системы кровообращения (асфиксия, эмболия, поражение электрическим током, инфаркт миокарда с быстро наступившим смертельным исходом). Повышение уровня

биогенных аминов не наблюдается в случаях, когда смерти предшествовала очень краткая агония, особенно если остановка сердца произошла рефлекторным путем.

Согласно мнению О.Н. Шевантаевой и др. [120, 121], при длительном умирании в условиях частичного поступления кислорода большое значение приобретает свободнорадикальное окисление. В доступной литературе была обнаружена только одна работа Г.А. Пашиняна [72], в которой свободнорадикальная активность, определенная методом индуцированной биохемилюминесценции, предлагалась к использованию в судебно-медицинской экспертизе для определения давности и прижизненности механической травмы.

Развитие гипоксии и оксидантного стресса активизирует процессы окислительной модификации белков. Показано, что степень окислительной модификации белков находится в прямой зависимости от тяжести заболевания и не зависит от этиологического фактора. Старение организма, по мнению Т.С. Squier [166], E. Bourdon и др. [136], M.F. Veal [133] сопровождается накоплением в тканях окисленных форм протеинов. Значительное увеличение карбонильных производных выявлено при пневмонии в нейтрофилах [116], в сыворотке крови у больных сахарным диабетом [12], бронхиальной астме [90].

Результаты исследований Е.В. Васильевой и др. [69] показали, что разрушение окисленных белков под действием протеолитических ферментов обуславливает рост содержания молекул средней массы (МСМ). Изучение МСМ все чаще используется в судебно-медицинских исследованиях [13, 25, 69], но не обнаружено работ, посвященных оценке данного показателя при разных типах танатогенеза.

1.4. Вещества низкой и средней молекулярной массы – маркер экзогенной и эндогенной интоксикации

МСМ являются маркером интоксикации организма вне зависимости от ее причин [51, 55, 66, 93, 122]. По мнению А.А. Кишкун [38] небольшие концентрации МСМ присутствуют в биологических жидкостях здоровых людей,

но, результаты исследований Е.В. Карякиной [35] свидетельствуют что, при наличии интоксикации их уровень значительно увеличивается.

МСМ – это разнородная группа соединений различной структуры с молекулярной массой до 5000 Дальтон (Да) [19]. МСМ подразделяют на две большие группы: вещества низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) и олигопептиды (Оп) [54].

При решении вопросов о давности наступления и причине смерти, а также прижизненности, массивности и давности повреждений, в судебно-медицинской практике широко используются биохимические методы исследования. Приказом Министерства Здравоохранения от 21.02.2000 г. № 64 «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований в клинической медицине» [63], а также Приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 12 мая 2010 г. N 346н г. Москва «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации» регламентировано исследование МСМ [64].

ВНСММ - соединения небелковой природы, низкомолекулярные эндотоксины, являются конечными и промежуточными продуктами метаболизма, патологическими продуктами измененного гомеостаза [57]. В состав ВНСММ входят: мочевины, мочевая кислота, креатинин, олигосахариды, лактат и другие органические кислоты, аминокислоты, жирные кислоты, билирубин, холестерол, фосфолипиды и их производные, продукты свободнорадикального окисления, спирты, альдегиды, карбоновые кислоты и токсические компоненты полостных сред (фенол, скатол, индол, путресцин, кадаверин и др.) [51].

В общем спектре ВНСММ различают катаболический и анаболический пулы [51]. Катаболический пул ВНСММ, который определяют на длинах волн 238 – 258 нм, свидетельствует об активности процессов распада белков в организме [23]. Согласно данным М.Я. Малаховой и др. [50, 51], диапазон длин волн 220–255 нм — спектр поглощения неароматических серосодержащих

аминокислот (цистина, цистеина, метионина); 250–256 нм — характерен для пуриновых азотистых оснований (аденин, гуанин). В диапазоне длины волн 238–242 нм регистрируются вещества катаболического происхождения, ксенобиотики, продукты распада клеток, тканей, микробные токсины. В диапазоне длин волн 238–244 нм находятся максимумы поглощения мочевины, мочевой кислоты, креатинина. В этой же области спектра поглощают продукты деградации альбумина, фибриногена, незэтерифицированных жирных кислот. Длина волны 258 нм — спектр максимального поглощения аденозинтрифосфата (АДФ), аденозинмонофосфата (АМФ), аденина, L-валина, L-фенилаланина. Интервал длин волн 258 —260 нм связывают с поглощением АДФ, АМФ, аденина, L-валина, L-фенилаланина [50].

Е.В. Волчкова и др. [18] считает, что анаболический пул, который определяют на длинах волн 262 – 302 нм, демонстрирует активацию процессов восстановления и синтеза клеток и тканей. На длине волны 280 нм анализируют поглощение ароматическими соединениями — фенолами, тирозином, триптофаном, фенилаланином, которые важны, как предшественники 5-гидрокситриптамина и катехоламинов, играющих значительную роль в нейрональных процессах, а также увеличение содержания ароматических кислот в сыворотке, что связывают с печеночной недостаточностью.

Многие авторы [24, 25, 66] используют уровень ВНСММ при оценке интенсивности эндогенной интоксикации, возникающей вне зависимости от этиологии и патогенеза развивающегося терминального состояния.

Таким образом, ВНСММ по большей части являются продуктами свободнорадикального окисления и протеолиза, определяются интенсивностью тканевой гипоксии. В тоже время тканевая гипоксия оказывает влияние на белковые структуры, связанные с транспортом кислорода, в частности на миоглобин.

Уровень содержания ВНСММ в значительной степени зависит от характера питания, условий проживания, неблагоприятных экологических условий. При

этом у живых лиц показатели в моче выше, чем в крови независимо от возраста и пола [41, 46, 54]. В литературе нам не встретились работы касающиеся изучения соотношения содержания ВНСММ в трупной крови и моче и использования их как маркера для установления продолжительности премортального периода.

1.5. Миоглобин - тканевый транспортер кислорода

N.L. Batalis и др. [170] указывают на большое диагностическое значение определения, в постмортальной диагностике, миоглобина в сыворотке крови и в моче трупов. Отмечается важность исследования концентрации миоглобина для дифференциальной диагностики различных видов сердечной смерти [15, 148, 168, 171, 174]. В литературе имеются указания на использование показателей креатинкиназы и других ферментов, а также уровня миоглобина, миозина, натрийуретического пептида, альбумина в качестве эффективных маркеров при различных видах патологии сердца [129, 135, 142, 144, 149].

О.Г. Асташкина, Е.С. Тучик [9] отмечали важность комплексного биохимического исследования миоглобина, тропонина и глюкозы в крови, перикардальной жидкости и оценку активности лактатдегидрогеназы в дифференциальной диагностике видов внезапной сердечной смерти. Н.В. Дзик и др. [22] указывают на возможность использования миоглобина как маркера при различных заболеваниях сердца.

Показатели содержания миоглобина являются не только маркерами повреждения миокарда и скелетных мышц при заболеваниях и механических повреждениях [30, 125], но и показателями продолжительности премортального периода, прижизненности и сроков возникновения повреждений [95, 112, 113].

Миоглобин – цитозольный белок, связывающий кислород и передающий его окислительным системам клетки, локализованный в основном в клетках скелетной и сердечной мышечной ткани и в меньшей степени – гладкой мускулатуре сосудов позвоночных животных и человека [43, 83, 137].

Миоглобин состоит из одной полипептидной цепи с молекулярной массой 17000 (глобина) и протетической группы (гема) [139] и является, по мнению U.V. Hendgen-Cotta и др., одним из ключевых соединений, определяющих высокую интенсивность окислительного метаболизма в мышечных клетках [151].

Функции миоглобина описаны многими авторами [43, 44, 135, 140, 147, 157], его уровень определяется гипоксией [17] и признан универсальным маркером гипоксического состояния тканей [152, 158, 159].

Одним из основных параметров, определяемых механизмом умирания, является длительность и интенсивность гипоксии [101, 104], при этом различные терминальные состояния влияют на параметры кислород-зависимых процессов и уровень интоксикации, определяя содержание ВНСММ в крови и моче и миоглобина в крови, и могут служить маркерами установления особенностей агонального периода (рисунок 1).

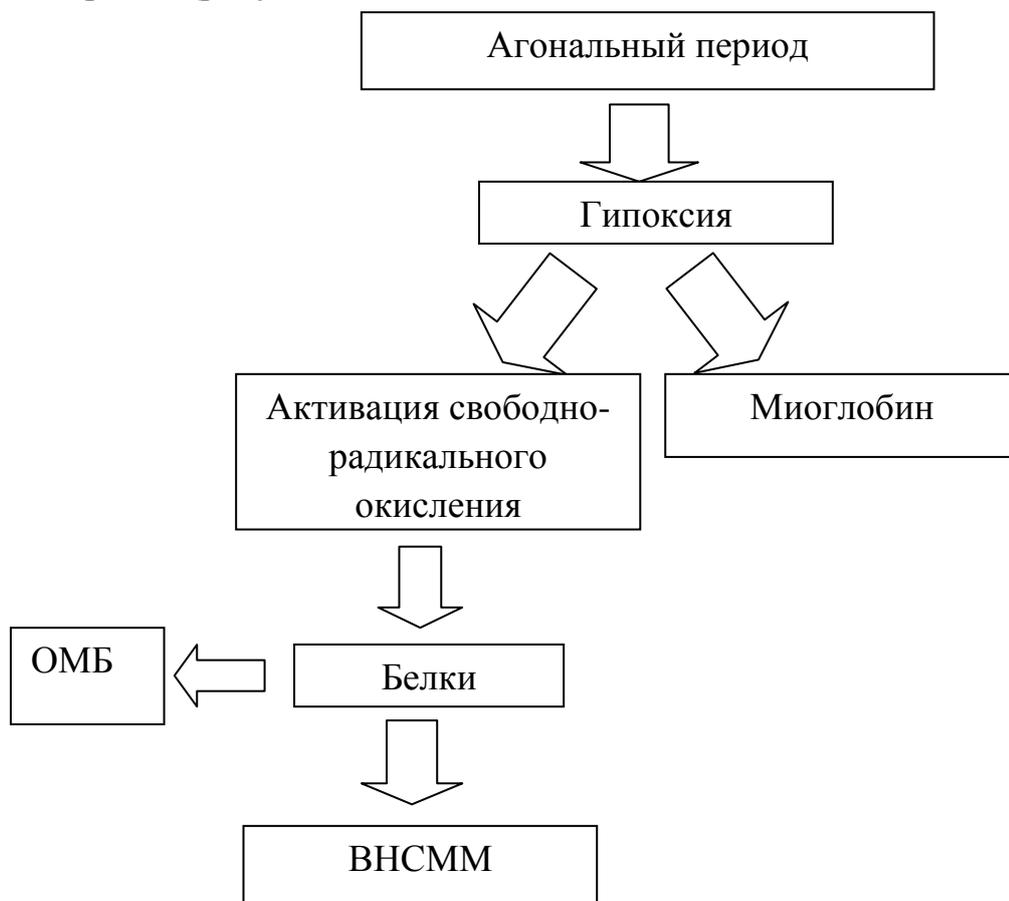


Рисунок 1 - Взаимосвязь агонального периода с кислород - зависимыми свободнорадикальными процессами, уровнем ВНСММ и миоглобина.

1.6. Методы определения веществ низкой и средней молекулярной массы и миоглобина

В настоящее время для биохимических лабораторий промышленно выпускается большое количество разнообразных реагентов и наборов. При этом методики обладают разной чувствительностью, специфичностью, а также возможностями оценки полученных результатов.

Клиницисты отмечают, что нормативные показатели для всех этих групп методов анализа сильно различаются между собой, что необходимо учитывать при оценке результатов лабораторных исследований.

Для исследования ВНСММ используются различные методы: ультрафильтрации с помощью мембран, с четко определенным размером пор; методы, основанные на гель-фильтрации, с помощью различных носителей; методы жидкостной хроматографии под высоким давлением; методы спектрометрии [114], основанные на определении пула ВНСММ и Оп, сохраняющиеся в исследуемом растворе после осаждения крупномолекулярных веществ, по методике, предложенной Н.И. Габриэлян [92].

При определении миоглобина можно выделить 3 основные группы методов, основанные на «жидкой» химии:

1. Турбодиметрические и нефелометрические методы [78];
2. Методы радиоиммунологического анализа (РИА);
3. Иммунофлюоресцентное исследование.

Метод радиоиммунологического анализа (РИА), по мнению В.В. Рошке [88], не нашел широкого применения в медицинской практике, так как требовал дорогостоящего оборудования, длительного времени для проведения анализа, обученного персонала, а также особых условий, связанных с использованием радиоактивных материалов.

Последние годы для определения миоглобина производятся бесприборные экспресс-тесты, для этого выпускаются различные аналитические наборы, в частности ДС-Эритро-миоглобин [47].

В клинической практике О.Н. Соловьевым [94] используется метод «сухой химии», для чего применяются индикаторные тест – полоски различных производителей (в частности General Medical Systems), имеющие реагентные зоны, на которые нанесены сухие реагенты, при контакте с ними определенных метаболитов биологических жидкостей изменяется окраска индикаторной зоны.

В анализе уровня миоглобина в крови трупов следует учитывать, что при посмертном аутолизе в кровь поступает миоглобин за счет разрушения клеток тканей. Поэтому, нормальное значение миоглобина будет превышать таковое у живых лиц. В цельной крови у живых лиц референсные значения миоглобина в норме до 85-92 мкг/л. Концентрация миоглобина в крови трупов в норме по данным бюро судебно-медицинской экспертизы департамента города Москвы составляет от 6000 до 10000 мкг/л. [4]. Однако, использованию показателей концентрации миоглобина в крови при решении соответствующих задач препятствуют их изменения, происходящие в постмортальном периоде в зависимости от ряда факторов, в том числе от длительности премортального периода, а также особенностей забора, условий и длительности хранения биоматериала. Без учета этих процессов невозможно правильно оценить полученные результаты исследования и использовать их в экспертной практике.

Требования получения четких критериев, а также методов регистрации характеристик, изъятых и направленных в лабораторию проб, обуславливают поиск новых методов и методик.

1.7. Влияние искажающих факторов на результаты лабораторных исследований

Как справедливо отмечает В.А. Павлюшина [71], успех лабораторных исследований во многом зависит от правильности и своевременности изъятия необходимых объектов, от соблюдения продиктованных инструктивными материалами требований к их консервации, хранению и транспортировке в лабораторию.

Для получения достоверных результатов любого из существующих на сегодняшний день методов лабораторных исследований, по мнению Л.В. Кудрявцевой и др. [77], необходимо учитывать факторы, оказывающие негативное влияние на его результаты.

Д.П. Пискунов и др. указывают, что при исследовании в клинической практике нужно учитывать влияние характера объекта, в частности - цельной крови и крови без форменных элементов на биохимические показатели [16], что диктует необходимость использования специальных контейнеров с консервантами и транспортных сред для временного хранения, а также условия транспортировки биологического материала в лабораторию (соблюдение температурного режима и влажности).

Опубликованные в журнале «Clinical Chemistry» клинические данные, показали влияние длительности хранения и температурных условий на биохимические свойства объекта [169].

В клинической медицине для оценки выраженности патологических процессов широко используются биохимические методы исследования, которые расширяют возможности установления различных нарушений в органах и тканях. При этом условия сохранения материала, взятого для лабораторного изучения от пациентов, как правило, не влияют на результаты, поскольку его забор регламентируется ГОСТ Р 53079.4-2008 и осуществляется в стандартизованных условиях лечебно-профилактических учреждений, а анализы цельной крови в клинических лабораториях осуществляются в пределах 1 часа после забора [105].

Однако, многие исследователи [29, 47, 103, 128] считают, что, клинические нормативы не всегда приемлемы для трупного материала, поскольку премортальный период вызывает бурные процессы в погибающем организме, грубо искажающие основные клинические константы и приводящие к нарушению гомеостаза. Кроме того, серьезные изменения в основных биохимических параметрах возникают в посмертном периоде и на этапах забора и хранения биологического материала [160]. Отмечается значительное влияние на

биохимические показатели употребление этилового алкоголя [5, 28, 52, 118, 123, 163], ведущего к существенным изменениям обменных процессов организма [39, 97, 117, 123] и являющегося одним из факторов риска наступления смерти [2, 56, 91, 108].

Рядом иностранных авторов [134, 138, 143, 145, 153] моделировались и изучались процессы гибели и посмертного изменения биохимических характеристик биологических объектов, изъятых от экспериментальных животных, однако, как указывают В. Ehfeller и др. [130], в применении полученных данных в судебно-медицинской практике возникают серьезные трудности и ограничения.

Согласно приказу Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 12 мая 2010 г., № 346-н п. 88.3. порядок судебно-биохимических исследований регламентирует взятие крови трупов, сроки и температуру хранения: «...Кровь из трупа необходимо брать не позднее 24 часов после наступления смерти и направлять сразу же на биохимическое исследование. При невозможности направить кровь на анализ сразу же после ее взятия кровь можно хранить в холодильнике при температуре 4°C – 8°C в течение 10 суток (биохимические показатели стабильны при хранении крови в холодильнике в герметически закупоренной посуде) ...» [64].

Между тем, процесс хранения и сроки транспортировки объектов в судебно-медицинской практике трудно стандартизировать, поскольку на него оказывает влияние комплекс внешних факторов, обусловленный процессуальными ограничениями и организационными трудностями в передаче биоматериала в лабораторию из районных и межрайонных экспертных подразделений. А.Ф. Кинле отмечает, что нередко с момента изъятия объектов до их исследования проходит значительное время, обусловленное необходимостью их доставки в лабораторию [37]. Доставка осуществляется сотрудниками правоохранительных органов, назначившими экспертизу [60, 64].

В доступной литературе мы не нашли сведения о влиянии давности забора и температуры хранения трупной крови и мочи на показатели содержания ВНСММ и крови на показатели миоглобина.

Вышеизложенное свидетельствует о важности изучения влияния и оценки комплекса искажающих факторов на результаты проводимых лабораторных биохимических исследований.

1.8. Разработка программных продуктов

Е.С. Тучик и О.Г. Асташкина в своих работах показали насущную необходимость проведения стандартизации судебно-биохимических технологий, в ходе которой, требуется разработка единого подхода к порядку забора материала на анализ, единых требований к хранению и транспортировке биологического материала, общего порядка оценки результатов и единых нормативных значений. Также необходим способ автоматизированной оценки полученных данных с помощью унифицированных систем учета, реализованных в рамках удобного программного продукта [6, 110].

В клинических лабораториях в настоящее время вводится в работу целое семейство программных продуктов типа ЛИМС или ЛИС различных разработчиков, позволяющих вносить и хранить разнообразные структурированные и неструктурированные данные, образующиеся при выполнении экспериментов или лабораторных процедур. Так, для этой цели В.В. Ронжиным [87] предлагаются такие программные продукты как «Электронный лабораторный журнал (программа NG8) компании Waters, приложение «LabWare ELN», разработанный компанией LabWare, электронный лабораторный журнал «STARLIMS ELN», и другие.

Следует отметить, что вышеперечисленные программные средства, как правило, ориентированы на конкретные комплекты лабораторного оборудования, интерфейс их перегружен, поскольку ориентирован на клиническую лабораторию, требует участие квалифицированного подготовленного персонала и

не соответствует требованиям, возникающим при необходимости анализа данных при выполнении судебно-медицинских экспертиз [36, 79].

Все это указывает на необходимость разработки и внедрения в практику программных продуктов, специально ориентированных на проведение судебно-медицинских исследований и способных оказать помощь в сборе и автоматизированном анализе лабораторных данных судебно-медицинскому эксперту.

Представленный анализ литературы свидетельствует о том, что проблема установления особенностей премортального периода полностью не разрешена, остается актуальной, требует дальнейшего всестороннего изучения и имеет большое значение для судебно-медицинской практики, что явилось основанием для проведения данного научного исследования.

Глава 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

Исследование выполнено на практическом судебно-медицинском материале Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Нижегородской области «Нижегородское областное бюро судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Нижегородской области. Материалом послужили акты судебно-медицинского исследования 650 трупов, 467 мужчин и 183 женщин, возрастом от 13 до 98 лет, умерших в период с 2015-2019 гг., от различных видов насильственной и ненасильственной смерти, включая результаты судебно-гистологического и судебно-химического исследований, трупная кровь и моча, в которых определялось содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) и миоглобина, а также сопроводительная документация (следственные и медицинские данные). Трупы отбирались с заведомо установленными обстоятельствами смерти и давностью наступления смерти не более одних суток. Количественная характеристика трупов по категориям смерти [99] представлена в таблице 1.

Таблица 1 - Количественная характеристика трупного материала по категориям смерти.

№	Категория смерти	Количество трупов		Итого
		Мужчины	Женщины	
1	Насильственная смерть	320 (49,23%)	89 (13,69%)	409 (62,92%)
2	Ненасильственная смерть	147 (22,62%)	94 (14,46%)	241 (37,08%)
Итого		467 (71,85%)	183(28,15%)	650 (100%)

Из представленной таблицы видно, что среди трупов преобладают лица мужского пола (71,85%). При этом насильственная смерть составляет 320 наблюдений (49,23%) у мужчин, и 89 (13,69%) у женщин. В свою очередь общее количество и процент ненасильственной смерти также оказывается более высоким у мужчин 147 случаев (22,62%) по сравнению, с выявленными у женщин 94 случаями (14,46%) соответственно.

Распределение трупов в зависимости от вида смерти представлено в таблице 2.

Таблица 2 - Распределение трупов по видам смерти

№	Вид смерти	мужчины	женщины	Итого	
1	Механическая травма:				
	а	Транспортная травма (автомобильная, рельсовая)	43 (6,62%)	20 (3,08%)	63 (9,69%)
	б	Падения	75 (11,54%)	26 (4%)	101 (15,54%)
	в	Тупыми предметами	37 (5,69%)	15 (2,31%)	52 (8%)
	г	Острыми орудиями	40 (6,15%)	4 (0,62%)	44(6,77%)
	д	Огнестрельная травма	15 (2,31%)	2 (0,31%)	17 (2,62%)
2	Механическая асфиксия (повешение, утопление)		56 (8,62%)	9 (1,38%)	65 (10%)
3	Отравления (этанолом, угарным газом, металлическими ядами, лекарственными веществами)		47 (7,23%)	11 (1,69%)	58 (8,92%)
4	Крайние температуры		7 (1,08%)	2 (0,3%)	9 (1,38%)

5	Болезни системы кровообращения:				
	а	Острый инфаркт миокарда	11 (1,69%)	11 (1,69%)	22 (3,38%)
	б	Хроническая ишемическая болезнь сердца	66 (10,15%)	54 (8,31%)	120 (18,46%)
6	Новообразования		15 (2,31%)	8 (1,23%)	23 (3,54%)
7	Прочие виды ненасильственной смерти		55 (8,46%)	21 (3,23%)	76 (11,69%)
Итого			467 (71,85%)	183 (28,15%)	650 (100%)

В структуре исследованного материала преобладает механическая травма, составляя совокупно 32,31% у мужчин и 10,31% у женщин. Среди видов ненасильственной смерти наибольший процент представлен болезнями системы кровообращения – 21,85%, при этом преимущественно вследствие хронической ишемической болезни сердца 18,46%.

В зависимости от поставленных задач полученные в ходе биохимических исследований числовые значения были разделены на 4 группы (таблица 3).

Таблица 3 - Количественная характеристика анализируемых числовых значений в зависимости от задач исследования

№	Задачи исследования	Количество анализируемых числовых значений
1	Определить динамику содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче в зависимости от продолжительности премортального периода	648

Продолжение таблицы 3

2	Оценить влияние наличия этанола на уровень содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче	778
3	Изучить изменения содержание веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче в зависимости от продолжительности и температуры хранения биологических объектов	270
4	Изучить изменения миоглобина в крови в зависимости от продолжительности и температуры хранения биологических объектов	338

Исследование проводилось в 5 этапов:

- На первом этапе проводился анализ сведений об обстоятельствах наступлений смерти и следственных данных (протокол осмотра места происшествия, показания свидетелей, имеющаяся медицинская документация), секционной картины, результатов судебно-медицинских исследований трупа, включая судебно-гистологическое и судебно-химическое исследование, в ходе которого определялась продолжительность премортального периода.

- На втором этапе осуществлялся забор крови и мочи для лабораторных исследований. Забор производился во время вскрытия трупа на секционном столе сухим стерильным шприцом крови из бедренной вены, мочи из мочевого пузыря. Трупы подбирались с давностью наступления смерти не более 1 суток. Изъятые кровь и моча помещались в стерильные стеклянные флаконы, которые доверху заполнялись и плотно закрывались резиновыми пробками и в дальнейшем хранились при различных условиях.

При заборе материала велся протокол с указанием номера судебно-медицинского исследования трупа, паспортных данных, даты смерти и вскрытия, причины смерти, результатов гистологического, химического и биохимического исследований.

- На третьем этапе выполнялись биохимические исследования веществ низкой и средней молекулярной массы, и миоглобина в трупной крови и моче.

Содержание ВНСММ определялось по методу В.Я. Малаховой в модификации Т.В. Копытовой.

Миоглобин исследовался с помощью двух методов: эритроцитарного диагностикума «ДС - ЭРИТРО-МИОГЛОБИН» и иммунотурбидиметрического теста при помощи наборов «DiaSys Diagnostic Systems GmbH».

- На четвертом этапе проводился анализ полученных данных и статистическая обработка с помощью статистического пакета STADIA.

- На пятом этапе – на базе многофакторного анализа количественных результатов, с учетом влияния на них температуры и давности хранения биоматериала, разрабатывались компьютерные программы.

2.2 Методы исследования

2.2.1. Метод определения веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче

Вещества низкой и средней молекулярной массы определяли по методу В.Я. Малаховой в модификации Т.В. Копытовой [46, 50].

Метод основан на осаждении крупномолекулярных белков в биологических жидкостях раствором 15% трихлоруксусной кислоты, в результате чего они подвергаются денатурации.

К 1мл сыворотки крови и мочи добавлялось 0,5 мл 15% раствора трихлоруксусной кислоты. Пробы тщательно встряхивались и инкубировались при комнатной температуре 5 минут, затем центрифугировались 30 минут при 3000 об/мин. К 0,5 мл полученного супернатанта добавлялось 4,5 мл дистиллированной воды. Пробы встряхивались и исследовались на сканирующем спектрофотометре (СПЕКС ССП-765) (Рисунок 2), при длинах волн 238-298 нм, не позднее 2 часов после растворения.

Расчет конечного результата проводили путем интегрального измерения площади фигуры, образованной полученными значениями экстинкции, путем умножения суммы полученных значений на шаг длины волны – 4 нм.

Суммарное содержание веществ низкой и средней молекулярной массы ($\Sigma \text{ВНСММ}$) = $(E_{238} + E_{242} + E_{246} + \dots + E_{298}) \times 4$ (условные единицы).

В общем спектре выделяются два пула: катаболический пул (от 238 до 258 нм), куда в основном входят вещества патологического обмена, и анаболический пул (от 262 до 298 нм), куда входят вещества нормального метаболизма.



Рисунок 2 - Спектрофотометр, сканирующий СПЕКС ССП-765

2.2.2. Газохроматографическое определение этанола

Концентрация этанола измерялась алкилнитритным методом на газовом хроматографе «Хромос ГХ-1000».

Условия газохроматографического разделения: хроматограф «Хромос ГХ-1000», колонка металлическая 300x0,2 см с сорбентом: 15% жидкой фазы сквалана, нанесенной на твердый носитель хроматон N. Температура: колонки

90°C, испарителя 65°C. Расход газа-носителя (азота) 45мл/мин. Детектор-катарометр.

Во флакон на 10 мл наливалось 0,5 мл 50% раствора трихлоруксусной кислоты и 0,5 мл крови, герметично закрывалось, тщательно перемешивалось. Во флакон шприцом вводилось 0,3 мл 30% раствора нитрита натрия, тщательно перемешивалось. Из флакона отбирался 1 мл газовой фазы и вводился в испаритель хроматографа, при этом на хроматограмме идентифицировался пик этилнитрита. 2 мл 3% раствора пропилового спирта (внутренний стандарт) смешивалось с 2 мл крови. 1 мл смеси помещался во флакон на 10 мл, содержащий 0,5 мл раствора трихлоруксусной кислоты. Флакон герметично закрывался, содержимое флакона тщательно перемешивалось. Шприцом вводилось 0,3 мл 30% раствора нитрита натрия, тщательно взбалтывалось. Через минуту из флакона отбирался 1 мл газовой фазы и вводился в испаритель хроматографа, при этом площадь пиков этилнитрита равна 2,5 2,39, площадь пиков пропиленнитрита равна 3,14 3,89. По вышеописанной методике строился калибровочный график, при его построении использовались 0,15-6% водные растворы этанола. Коэффициент пересчета для количественного определения этанола в крови 0,82. При описанных выше условиях коэффициент пропорциональности составил 1,0042. Исследование проводилось с использованием программы сбора и обработки хроматографических данных «Хромос».

2.2.3. Методы определения миоглобина

Исследование миоглобина в жидкой трупной крови проводилось двумя методами: 1 – с использованием эритроцитарного диагностикума (полуколичественного) и 2 – с использованием иммунотурбидиметрического теста (количественного).

1. С использованием эритроцитарного диагностикума «ДС - ЭРИТРО-МИОГЛОБИН» НПО «Диагностические системы». Исследования проводились по

следующей методике [7, 95, 96]. В 24 лунки полистиролового планшета вносили по 50 мкл 0,9% раствора хлорида натрия. Затем в первую лунку добавляли 50 мкл разведенной в 10 раз крови и последовательно переносили 50 мкл раствора образца из лунки в лунку, в результате чего были получены разведения 1:2; 1:4; 1:8 и т.д. Последняя лунка являлась контрольной, куда образец крови не добавлялся. Затем в каждую лунку последовательно вносили по 25 мкл тщательно ресуспензированной взвеси формализированных эритроцитов, сенсibilизированных антителами против миоглобина. Содержимое лунок перемешивалось и инкубировалось в течение 30 минут, после чего проводился учет результатов. Полуколичественный учет результатов осуществлялся на основании визуальной оценки наличия гемагглютинации в зависимости от степени разведения исследуемого образца с использованием таблицы соответствия количества миоглобина и величины титра.

2. С использованием иммунотурбидиметрического теста [49, 141] при помощи наборов «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Рисунок 3), принцип определения которого основан на фотометрическом измерении реакции антиген–антитело между антителами против человеческого миоглобина, иммобилизованными на латексных частицах и присутствующем в образце миоглобине. Исследование проводилось по следующей методике: 0,1 мл цельной крови, разведенной в 20 раз дистиллированной водой (доводился до общего объема 2 мл добавлением 1,9 мл дистиллированной воды). К 60 мкл крови, разведенной в 20 раз, добавляли 1800 мкл реагента 1, содержащего 1,5% раствор глицина в буфере рН8,3, после чего тщательно перемешивали и инкубировали на водяной бане 5 минут. Затем добавляли 600 мкл реагента 2, содержащего латексные частицы, покрытые антителами к миоглобину, в 1,5% растворе глицина в буфере рН 7,3, тщательно перемешивали, в течение 30 секунд и измеряли оптическую плотность. Далее инкубировали на водяной бане 5 минут и снова измеряли оптическую плотность. Концентрация миоглобина в исследуемом образце определялась по разности значений пробы до и после инкубации с

использованием калибровочной кривой, построенной по четырем калибраторам различных уровней TruCal Myoglobin и изотонического раствора NaCl (0,9%) для определения нулевого значения.



Рисунок 3 - Набор «DiaSys Diagnostic Systems GmbH»

2.2.4. Судебно-гистологическое исследование

Для верификации причины смерти и выявления патологических процессов проводился анализ заключений экспертов – гистологов. Трупный материал был исследован на базе судебно-гистологического отделения ГБУЗ НО «НОБСМЭ».

Используемые приборы (средства):

- биологический микроскоп XSZ-147E;
- гистопроцессор Thermo Scientific STP 120;
- станция заливки ESD-2800;
- микротом HM – 325 Thermo Scientific;
- мультистейнер Thermo Scientific Gemini AS.

Исследование проводилось следующим образом.

Объекты исследования закладывались в пластиковые одноразовые кассеты и промывались в этиловом спирте и далее в проточной воде 24 часа.

После промывки кассеты закладывались в гистопроцессор и пропускались через обезвоживающий реагент — изопропиловый спирт.

Таким образом, из тканей удалялась вода, далее, использовался гидрофобный осветлитель-ксилол, вытесняющий спирт, ткань осветлялась и пропитывалась парафином (процесс обезвоживания и пропитки парафином длится 19 часов).

Далее проводилась заливка кассет с объектами в станции заливки ESD-2800 для последующего этапа микротомии.

Станция ESD-2800, состоящая из нагревающего модуля, модуля заливки и модуля охлаждения обеспечивает цепочку безошибочного перенесения и проведения образцов в парафиновый блок. Оборудованные рабочие поверхности, точный контроль температуры и большая ёмкость для парафина обеспечивает обслуживание 120 кассет.

Далее готовились срезы из блоков на микротоме HM – 325 Thermo Scientific, предназначенном для изготовления тонких парафиновых срезов в диапазоне от 0,5 до 60 мкм.

Для получения парафиновых срезов использовались одноразовые лезвия SR – 35. Полученные парафиновые срезы тканей наклеивались на предметное стекло, смазанное смесью белка и глицерина (1:1) и подсушивали на воздухе.

Для окрашивания парафиновых срезов предметные стекла, с наклеенными на них срезами, закладывались в корзины мультитейнера Thermo Scientific Gemini AS.

По заданной программе окраска производилась гематоксилин — эозином в течение 45 минут. Эта окраска является двойной: гематоксилин — основной краситель — окрашивает ядра клеток, эозин — кислый краситель — красит протоплазму клеток и в меньшей степени — различные неклеточные структуры.

Окрашенные стеклопрепараты покрывались полимерной средой, состоящей из полистирола, растворителя и пластификатора, накрывались предметным стеклом, затем маркировались.

С целью решения вопросов о массивности и тяжести имеющихся повреждений, в ходе изучения гистологических препаратов, для оценки подсчета морфологических структур и очаговых изменений использовалась специальная сетка (Патент РФ на полезную модель №127935 от 10.05.13) (приложение А). Сетка представляет собой фрагмент пленки для лазерных принтеров и копировальных аппаратов формата А4, на которую с помощью средств вычислительной и множительной техники (например, с помощью принтера CANON LBP 2900) нанесена разметка, образующая сетку с размером ячейки 0,3x0,3 см. Фрагмент пленки, используемой для гистологического исследования, прямоугольной формы, размерами 6x2,5 см и соответствует величине предметного стекла гистологического препарата (рисунок 4). Особенностью данной пленки является то, что при фиксации ее к поверхности гистологического препарата она не деформируется, не искажает изображение гистологических объектов при микроскопическом исследовании.

Предложенная модель работает следующим образом. На готовом гистологическом препарате размещают и закрепляют вышеописанную пленку с нанесенной на нее сеткой. При микроскопическом исследовании материала на малом увеличении ведут подсчет количества гистологических объектов, полностью убранных в одну клетку сетки. Если объект располагается в клетке менее чем на $1/3$, то его не подсчитывают. Таким образом, предложенное устройство позволяет стандартизировать методику подсчета объектов в гистологических препаратах, кроме того, оно удобно в применении (так как его легко фиксировать к предметному стеклу с помощью канцелярского скотча), дешево в изготовлении, допускается многократное использование пленки, не требуется дополнительного оборудования и не требуется от эксперта специальных навыков и умений для использования данной сетки.

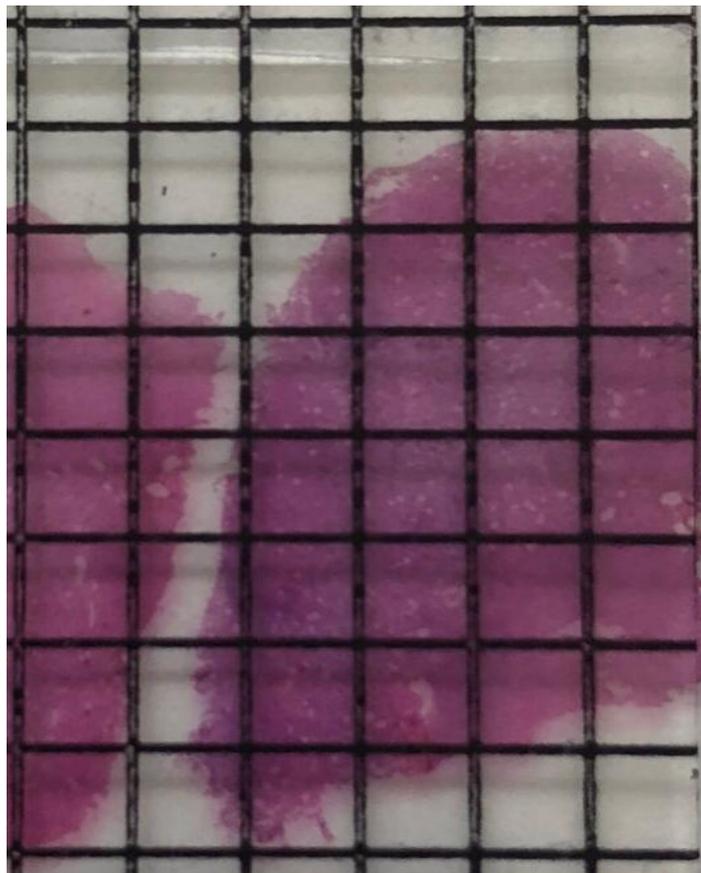


Рисунок 4 - Препарат почки с использованием предложенной сетки

2.2.5. Методика статистической обработки данных

Обработка данных производилась с помощью статистического пакета STADIA.

Анализировались распределения исследуемых признаков на близость к нормальному распределению (распределению Гаусса).

Для тех выборок (признаков), распределения которых отличны от нормального ($\neq N$), сравнение данных выполнялось с помощью непараметрических методов статистики (сравнивались медианы): для непарных выборок – с помощью критериев Вилкоксона и Ван дер Вардена, для парных выборок – с помощью критерия Вилкоксона и критерия знаков. В тех случаях, когда распределения сравниваемых выборок были практически нормальными (N), сравнение выполнялось с помощью критерия Стьюдента (сравнивались средние значения).

Результаты сравнения представлены в таблицах соответствующих глав работы. В графе «Различие» указывался результат сравнения: есть различие или нет, а также уровень значимости, при котором проверялась Но-гипотеза (нет различия в сравниваемых величинах).

Если изучаемый признак имел практически нормальное распределение, то он описывался с помощью среднего (M), стандартной ошибки (m) и стандартного отклонения (σ). Если же признак имел отличное от нормального распределение, то он описывался с помощью медианы (Me) и межквартильного размаха. Все необходимые для описания признака данные, содержатся в таблицах описательных статистик. Детальные описания методик статистической обработки изложены в соответствующих разделах Главы 3 «Результаты биохимического исследования трупной крови и мочи с целью установления продолжительности премортального периода».

Глава 3

РЕЗУЛЬТАТЫ БИОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ТРУПНОЙ КРОВИ И МОЧИ С ЦЕЛЬЮ УСТАНОВЛЕНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ПРЕМОРТАЛЬНОГО ПЕРИОДА

3.1. Определение содержания веществ низкой и средней молекулярной массы крови и мочи в зависимости от продолжительности премортального периода

Для определения содержания веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) в зависимости от продолжительности премортального периода изучены их показатели в трупной крови и моче у 324 трупов. Получено 648 числовых показателей.

Результаты проведенных экспериментов показали, что суммарное содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (Σ ВНСММ) в трупной крови (M_k) было больше, чем в трупной моче (M_m), то есть $\frac{M_k}{M_m} > 1$ (таблица 4), при этом известно, что у живых лиц показатели в моче выше, чем в крови (с. 26-27).

Изменение соотношения веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче трупов, по сравнению с живыми лицами, обусловлено процессами, происходящими в премортальном периоде, ведущими к нарастанию эндогенной интоксикации, вызывающей увеличение количества ВНСММ в крови на фоне снижения или полного прекращения фильтрационной функции почек.

По результатам опытов изучения уровня ВНСММ в крови и моче трупов рассчитывались описательные статистики: среднее значение по выборке, среднеквадратичное отклонение, стандартная ошибка выборочного среднего, медиана, межквартильный размах, эмпирическое распределение выборки, которые представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Описательные статистики уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и в моче

Обознач. выборки	Объект исслед.	М (усл.ед.)	σ	m	Me	Межкв. размах	Распределение
X1	кровь	52,31	26,37	1,77	47	35 - 62	$\neq N$
X2	моча	18,42	11,94	0,8	16	9 - 26	$\neq N$

Учитывая, что распределение выборок крови и мочи было отличное от нормального, дальнейшее сравнение проводилось по медианам.

В таблице 5 представлены результаты сравнения уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче.

Таблица 5 - Сравнение уровня ВНСММ в крови и моче трупов

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие
X1-X2	есть	<0,001	в медианах

Для выборок X1 (кровь) и X2 (моча), сравниваемых по медианам, имеющиеся различия оказались статистически значимы, с уровнем значимости ($P < 0,001$).

Проведенный статистический анализ подтверждает, что количество веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови больше, чем в моче.

Вышеизложенное иллюстрируют спектрограммы содержания ВНСММ в крови и моче трупа (причина смерти – механическая странгуляционная асфиксия) (рисунок 5) и спектрограммы содержания ВНСММ в крови и моче живого лица (рисунок 6).

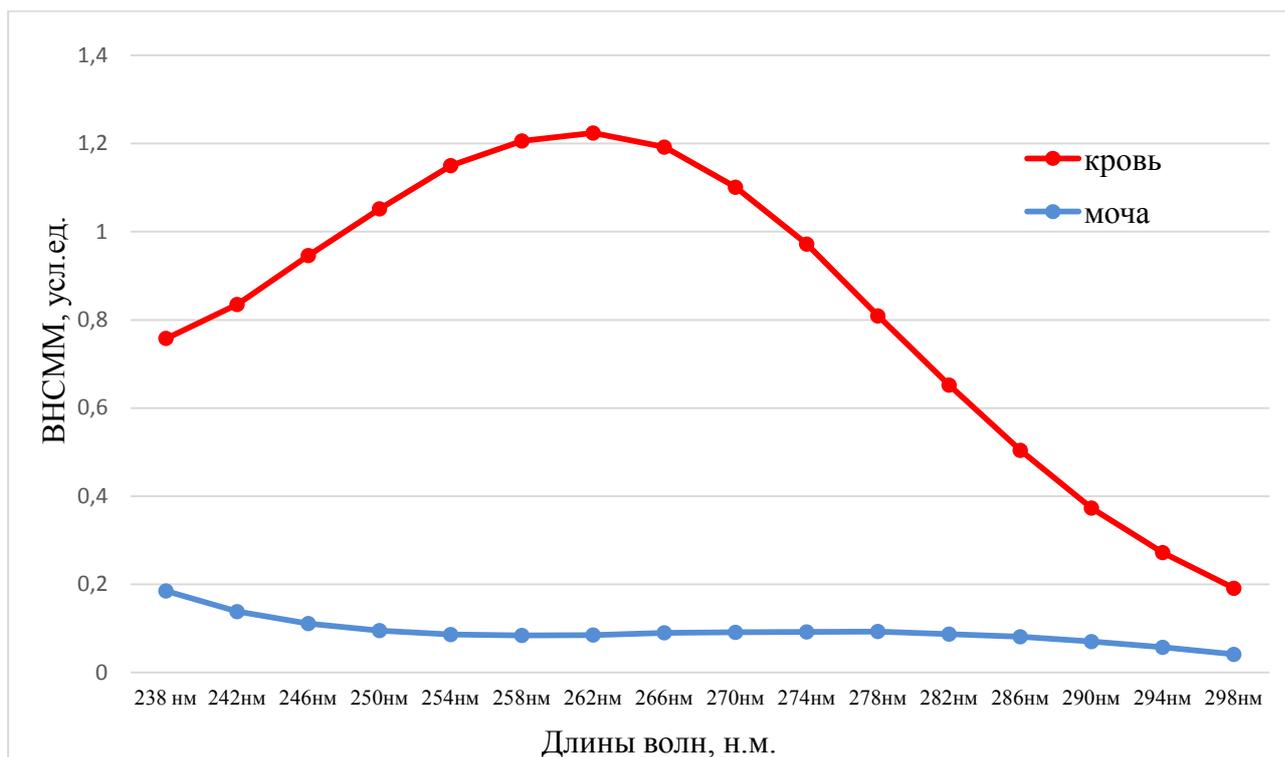


Рисунок - 5 Спектрограммы содержания ВНСММ в крови и моче трупа

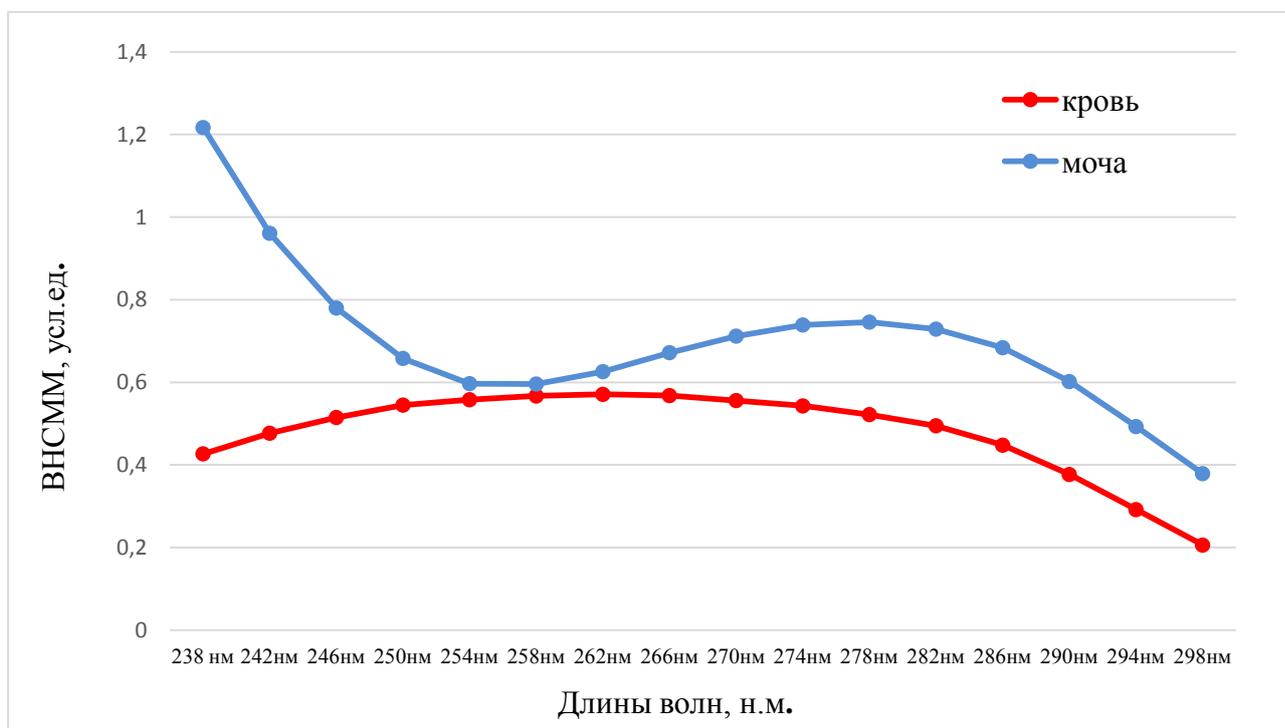


Рисунок 6 - Спектрограммы содержания ВНСММ в крови и моче живого лица

Далее, в ходе анализа и сопоставления данных, было установлено, что из всех 324 трупов, у 294 (90,74%) Σ ВНСММ в крови (M_k) было больше, чем в моче (M_m) – $\frac{M_k}{M_m} > 1$, а у 30 трупов (9,26%) наоборот, значение Σ ВНСММ больше в моче (M_m) – $\frac{M_k}{M_m} < 1$, то есть, как у живых. При этом, наблюдалась следующая закономерность: в первой группе ($\frac{M_k}{M_m} > 1$) процесс умирания сопровождался выраженным премортальным периодом (причины смерти: хроническая ишемическая болезнь сердца, новообразования, отравления, механическая асфиксия), а во второй – ($\frac{M_k}{M_m} < 1$) в результате мгновенной остановки системного кровообращения в момент воздействия повреждающих факторов (массивная сочетанная тупая травма тела, транспортная травма, падение с большой высоты, острый инфаркта миокарда, огнестрельная травма и др.), пермортальный период практически отсутствовал. В эту группу вошел единственный случай со смертью от механической странгуляционной асфиксии. По всей видимости, смерть здесь наступила мгновенно от рефлекторной остановки сердца [36, 85, 98, 112], остальные случаи смерти от механической странгуляционной асфиксии, обычно сопровождающейся выраженным премортальным периодом (41 труп), вошли в первую группу, где $\frac{M_k}{M_m} > 1$.

Таким образом, результаты выполненных экспериментов показали, что соотношение Σ ВНСММ в крови и моче трупа при $\frac{M_k}{M_m} < 1$ характерно для смерти, наступившей практически без премортального периода, в результате мгновенной остановки системного кровообращения в момент воздействия повреждающих факторов.

Выявленные закономерности обусловлены тем, что при этих условиях, образующиеся ВНСММ в процессе умирания не успевают элиминироваться в кровеносное русло вследствие быстрого прекращения кровообращения в органах и поэтому их концентрация в крови определяется на близком к прижизненному уровне (живых лиц), а прекращение при этом фильтрационной функции почек

обуславливает сохранение близких к прижизненным показателям ВНСММ в моче.

На основании вышеизложенного нами было предложено использовать соотношение $\frac{M_k}{M_m} < 1$ в качестве маркера мгновенно смерти, наступившей практически без премортального периода. (Патент РФ на изобретение № 2676700 от 10.01.2019) (приложение Б).

Приведем результаты исследований конкретных практических случаев:

Случай №1

На судебно-медицинское исследование поступило два трупа мужского пола, гр. К, 1979 г.р. и гр. А, 1965 г.р. которые получили одномоментно массивную тупую травму тела в результате падения на них бетонной строительной плиты. Гр. К скончался на месте происшествия сразу после травмы (зафиксировано свидетелями). Гр. А после травмы жил несколько минут и скончался от полученных повреждений до оказания медицинской помощи (зафиксировано свидетелями). У обоих мужчин на вскрытии были обнаружены примерно одинаковые множественные повреждения внутренних органов, несовместимые с жизнью.

В ходе биохимических исследований установлено что, у гр. К содержанию Σ ВНСММ в крови (Mк) составляет 32,34 усл.ед., в моче (Mм) - 40,92 усл.ед. (таблица 6, рисунок 7).

Таблица 6 - Содержание ВНСММ в диапазоне длин волн 238-298 нм в крови и моче гр. К.

18 ч	238	242	246	250	254	258	262	274	278	282	290	294	298	сумма
кровь	0,4	0,53	0,62	0,68	0,7	0,7	0,68	0,54	0,48	0,43	0,29	0,22	0,16	32,3
моча	0,6	0,6	0,58	0,58	0,59	0,62	0,66	0,77	0,77	0,75	0,61	0,5	0,39	40,9

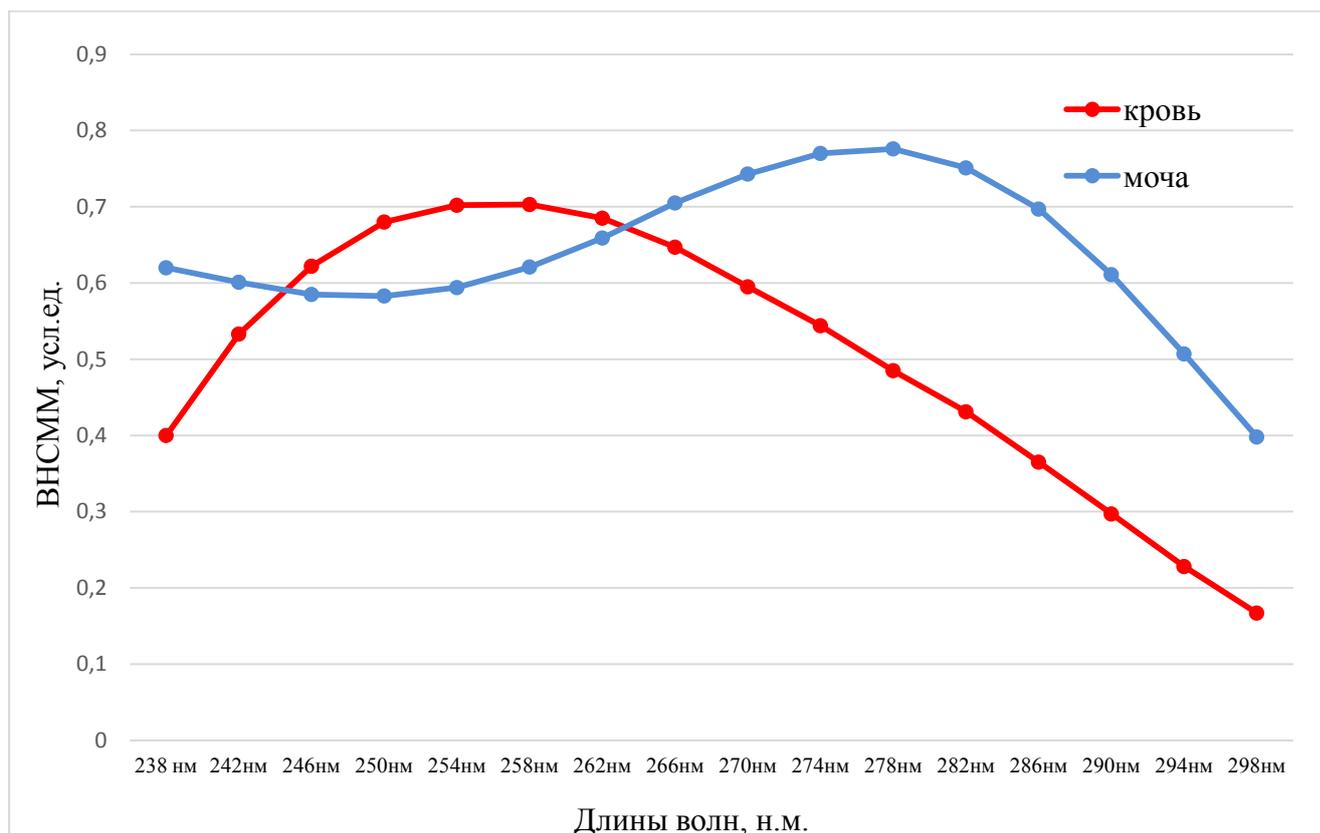


Рисунок 7 - Спектрограммы содержания ВНСММ в крови и моче гр. К

Как видно из представленных данных, соотношение $\sum \text{ВНСММ} \frac{M_k}{M_m} = 32,34/40,92 = 0,79$, т.е. < 1 , что характерно для смерти практически без премортального периода.

В крови (Мк) трупа гр. А содержание $\sum \text{ВНСММ}$ составило 74,51 усл.ед., а в моче (Мм) 23,81 усл.ед. (таблица 7, рисунок 8).

Таблица 7 - Содержание ВНСММ в диапазоне длин волн 238-298 нм в крови и моче гр. А

15 ч	238	242	246	250	254	270	274	278	282	286	294	298	сумма
кровь	1,3	1,43	1,52	1,57	1,57	1,24	1,13	1,02	0,93	0,82	0,56	0,42	74,51
моча	0,59	0,51	0,46	0,43	0,41	0,37	0,36	0,35	0,32	0,29	0,202	0,15	23,81

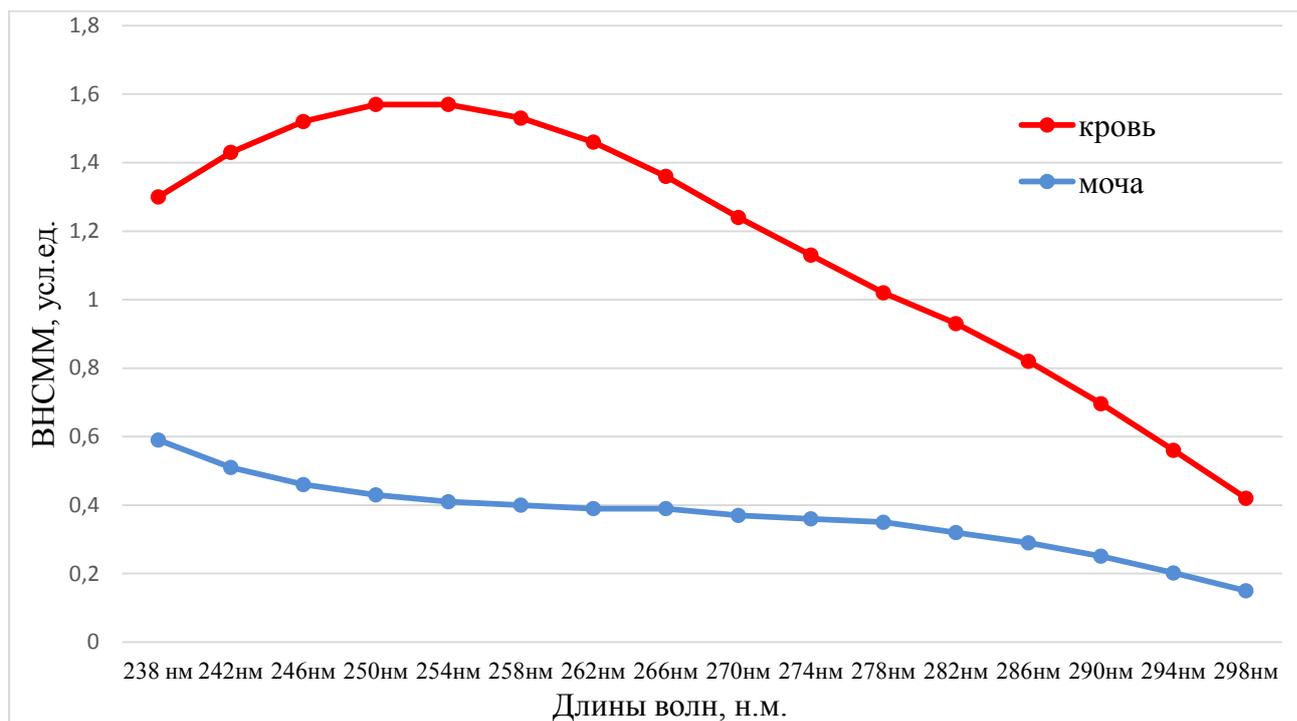


Рисунок 8 - Спектрограммы содержания ВНСММ в крови и моче гр. А

Из представленных данных следует, что соотношение $\sum \text{ВНСММ} \frac{M_k}{M_m} = 74,51/23,81 = 3,12$, т.е. > 1 , что характерно для смерти с наличием выраженного премортального периода.

Случай №2

На судебно-медицинское исследование поступил труп гр. Г, 1993 г.р., причина смерти - сочетанная тупая травма тела (транспортная травма), смерть наступила мгновенно (зафиксировано свидетелями).

В крови (Мк) трупа гр. Г содержание $\sum \text{ВНСММ}$ составило 19,91 усл.ед., а в моче (Мм) 37,98 усл.ед. (таблица 8, рисунок 9).

Таблица 8 - Содержание ВНСММ в диапазоне длин волн 238-298 нм в крови и моче гр. Г

24ч	238	242	246	250	254	258	270	274	278	282	290	294	298	Сумма
кровь	0,26	0,31	0,35	0,36	0,37	0,37	0,35	0,34	0,33	0,32	0,24	0,18	0,13	19,91
моча	0,96	0,78	0,65	0,58	0,54	0,54	0,62	0,63	0,62	0,6	0,49	0,39	0,3	37,98

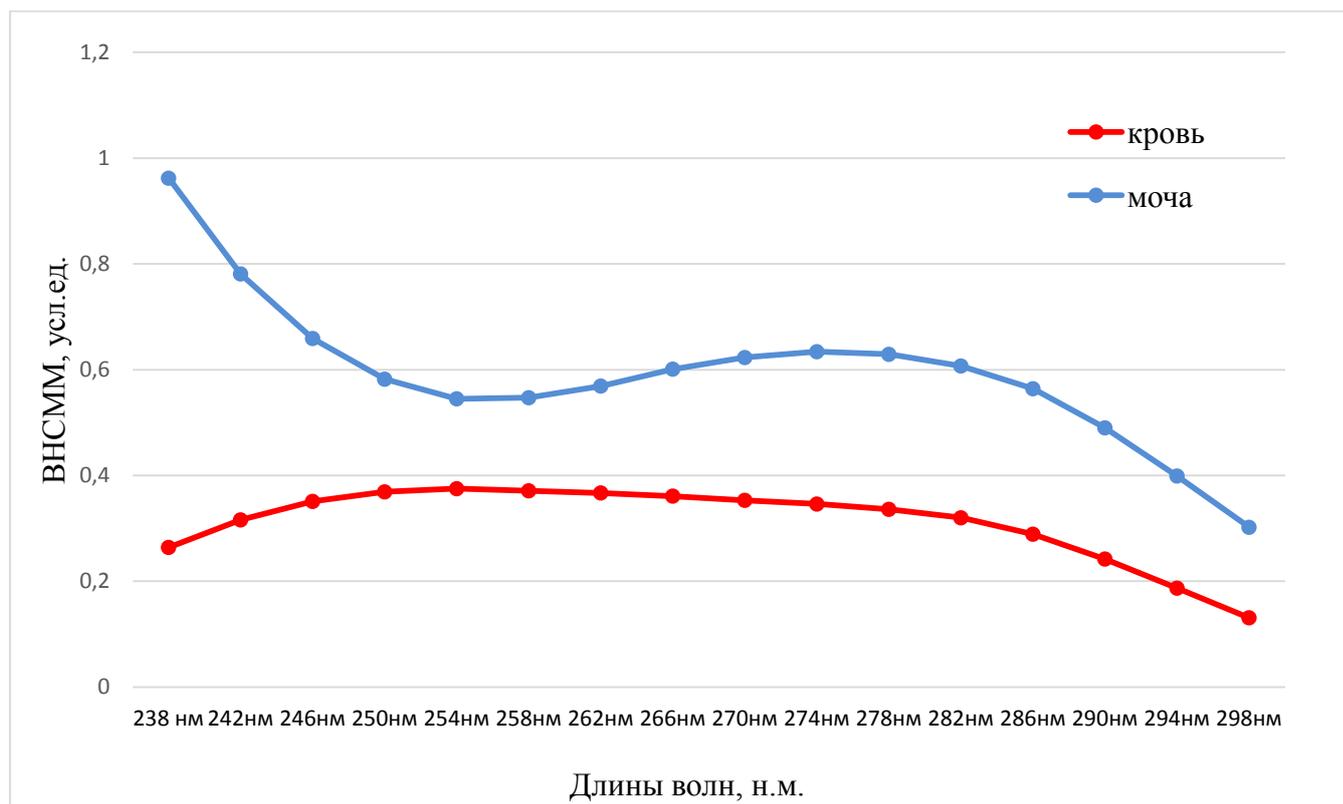


Рисунок 9 - Спектрограммы содержания ВНСММ в крови и моче гр. Г

Соотношение $\sum \text{ВНСММ} \frac{M_{\text{к}}}{M_{\text{м}}} = 19,91/37,98 = 0,52$, т.е. < 1 , что характерно для смерти практически без премортального периода.

Случай №3

На судебно-медицинское исследование поступил труп гр. Д, 1961 г.р., причина смерти - механическая странгуляционная асфиксия, установлена данными судебно-медицинского исследования и подтверждена «обстоятельствами дела».

В крови (Мк) трупа гр. Д, содержание $\sum \text{ВНСММ}$ составило 45,65 усл.ед., а в моче (Мм) 9,8 усл.ед. (таблица 9, рисунок 10)

Таблица 9 - Содержание ВНСММ в диапазоне длин волн 238-298 нм в крови и моче гр. Д.

18 ч	238	242	246	254	258	270	274	278	282	290	294	298	сумма
кровь	0,71	0,84	0,97	1,08	1,07	0,83	0,71	0,59	0,48	0,29	0,223	0,15	45,6
моча	0,17	0,16	0,15	0,15	0,17	0,17	0,17	0,17	0,15	0,12	0,09	0,07	9,8

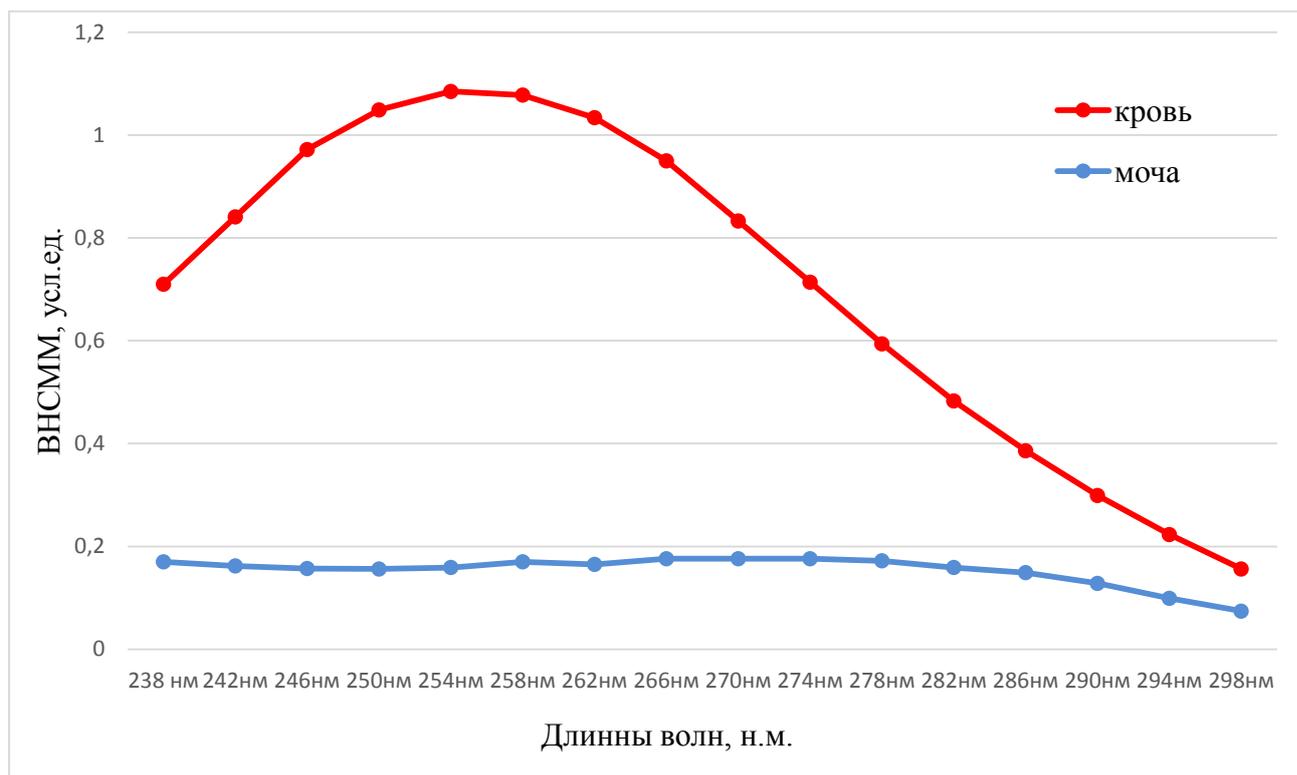


Рисунок 10 - Спектрограммы содержания ВНСММ в крови и моче гр. Д

Соотношение $\frac{M_K}{M_M} = 45,65/9,8 = 4,66$, т.е. > 1 , что характерно для смерти с наличием выраженного премортального периода.

Таким образом, выявленные закономерности изменения количественных показателей ВНСММ и соотношения их в крови и моче могут быть использованы для оценки продолжительности премортального периода. Совершенно очевидно, что эти исследования должны проводиться в комплексе со всеми другими методами и методиками, при этом необходимо учитывать наличие болезненных изменений, особенно со стороны выделительной системы организма, воздействие

биологически и химически активных веществ, а также условия и давность хранения объектов (с. 59-91).

По результатам проведенных исследований была разработана программа для ЭВМ (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2018617510 от 25.06.18) (приложение В), позволяющая сформировать автоматизированный регистр заключений, проведенных судебно-медицинских экспертиз.

В программе имеются экранные формы для ввода исходной информации и для вывода результатов расчетов.

На рисунке 11 изображен интерфейс программы для ЭВМ «Продолжительность предсмертного периода».

Персональные данные	
ФИО	Иванов Иван Иванович
Пол	Мужской
Возраст	45
Номер акта суд-мед экспертизы	XXXXXX

Данные о хранении пробы	
Срок забора материала	19 апреля 2018 г.
Температура хранения	20

Значение пробы ВНСММ=50,45

Продолжительность премертального периода	
Отсутствие	
Наличие	

Возврат в окно поиска

Рисунок 11 - Интерфейс программы «Продолжительность предсмертного периода»

Программа позволяет в кратчайшие сроки по показателю содержания веществ низкой и средней молекулярной массы осуществлять анализ данных для суждения о продолжительности премортального периода, а также в оперативном режиме на основе имеющейся пополняемой базы получать доступ к информации о персональных данных или заключений судебно-медицинских экспертов, занесенных в реестр за любой временной период.

3.2 Влияние этанола на уровень содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в моче и крови трупов

Результаты проведенных исследований показали, что прижизненное наличие этанола, независимо от причины смерти, вызывает статистически значимое снижение в трупной моче как суммарных значений веществ низкой и средней молекулярной массы, так и их значений на отдельных длинах волн, независимо от зоны пула.

В ходе анализа 778 опытов крови и мочи, полученных от 454 трупов, рассчитывались суммарные значения веществ низкой и средней молекулярной массы (Σ ВНСММ), а также с целью установления пула, в зоне которого происходят изменения значений (катаболического или анаболического), снимались параметры ВНСММ на длинах волн 254 нм (катаболический пул) и 274 нм (анаболический пул). Во всех случаях определялось наличие и концентрация этанола в крови. При этом формировались 2 группы: «есть этанол» – содержание $\geq 0,5\%$ (без учета фазы алкогольной интоксикации - резорбции и элиминации и абсолютных значений концентрации этилового алкоголя) - 163 случая и «нет этанола» - этанол не определялся или составлял $<0,5\%$ - 291 случай.

Полученные значения ВНСММ от всех 454 трупов обрабатывались единым блоком, а также, с целью исключения влияния на результаты исследования наличия в выборке различных причин смерти и болезненных изменений, была выделена отдельная группа из 42 трупов без видимых болезненных изменений органов (по секционным данным), с причинной смерти - механическая странгуляционная асфиксия.

В ходе проведенного исследования влияния этанола на уровень содержания ВНСММ в крови и моче получены следующие данные.

Исследование мочи.

В таблице 10 представлены описательные статистики уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче трупов при наличии и отсутствии этанола.

Таблица 10 - Описательные статистики уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче трупов при наличии и отсутствии этанола

Этанол	Обознач. выборки	Название выборки (ВНСММ)	М усл.ед.	σ	m	Me	Межкв. размах	Распределение
есть	X1	Σ	10,6	7,24	0,81	8,8	5,5 - 11,7	$\neq N$
	X2	254нм	0,16	0,1	0,01	0,14	0,1 - 0,19	$\neq N$
	X3	274нм	0,18	0,12	0,01	0,15	0,1 - 0,21	$\neq N$
нет	X4	Σ	24,5	12,2	1,24	21,6	14,5 - 33,2	$\neq N$
	X5	254нм	0,4	0,2	0,02	0,34	0,24 - 0,5	$\neq N$
	X6	274нм	3,8	33,2	3,39	0,36	0,24 - 0,54	$\neq N$

В таблице 11 представлены результаты сравнения выборок уровней содержания Σ ВНСММ и уровня ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче при наличии и отсутствии этанола.

Таблица 11 - Сравнение выборок уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче при наличии и отсутствии этанола

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1-X4	есть	<0,001	в медианах
X2-X5	есть	<0,001	в медианах
X3-X6	есть	<0,001	в медианах

Результаты сравнения (медианы) выборок уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче при наличии и отсутствии этанола представлены на рисунках 12 и 13.

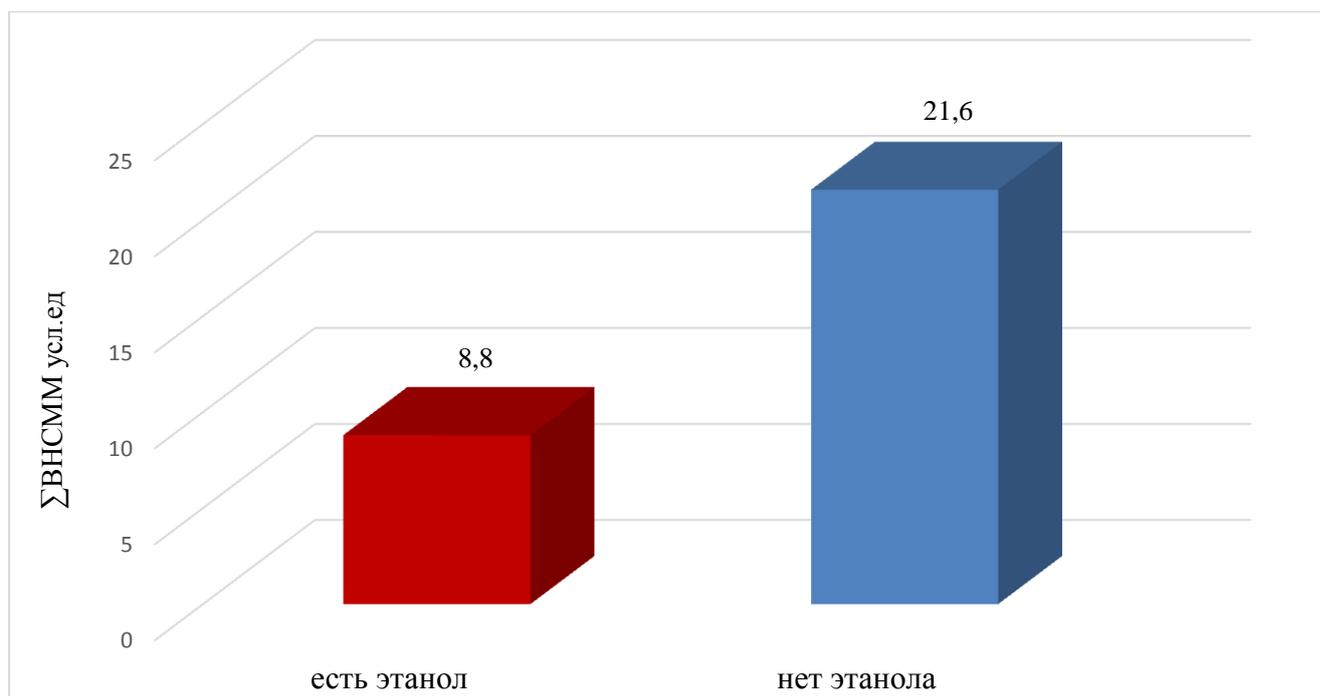


Рисунок 12 - Суммарное содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (Σ ВНСММ) в моче при наличии и отсутствии этанола

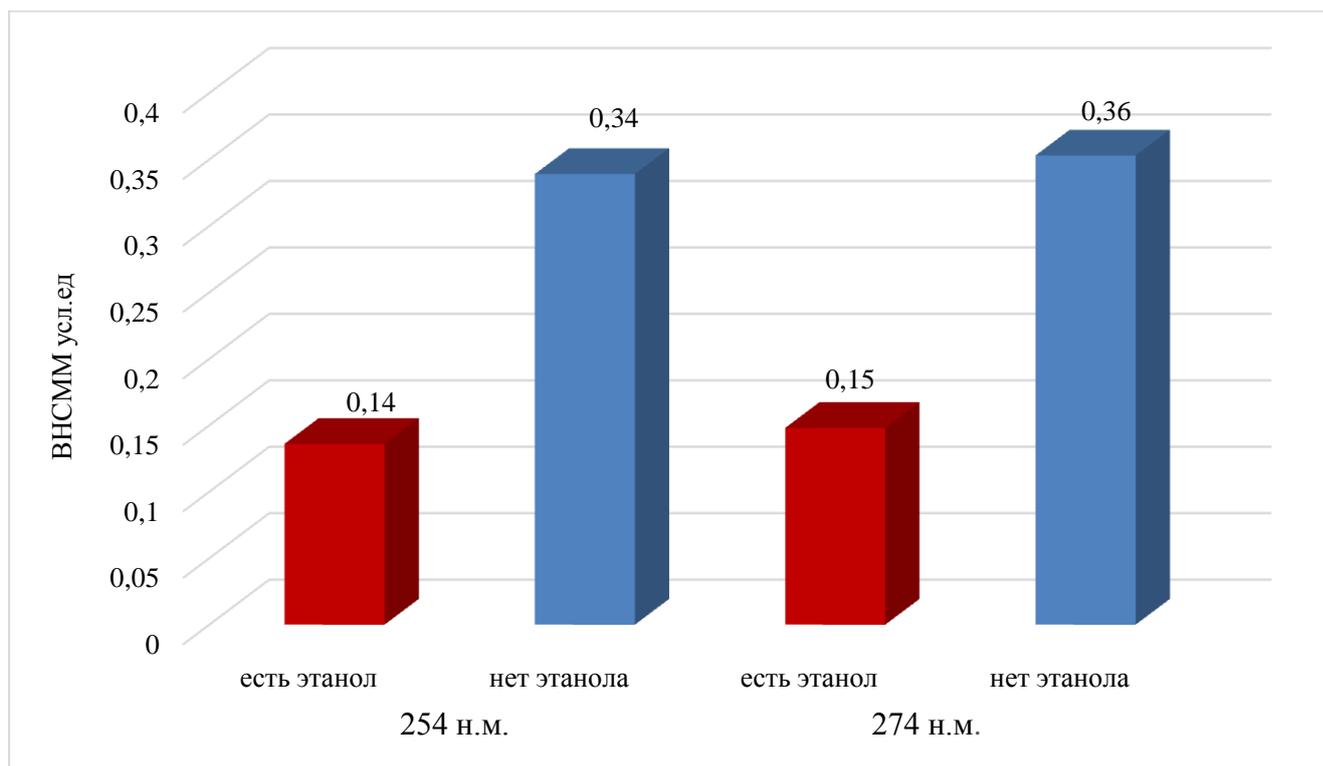


Рисунок 13 – Уровень содержания веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) на длинах волн 254 нм (зона катаболического пула) и 274 нм (зона анаболического пула) в моче трупов при наличии и отсутствии этанола

Проведенные опыты показали, что при наличии в организме этанола происходит статистически значимое снижение как уровня содержания Σ ВНСММ, так и ВНСММ, независимо от зоны пула, на длинах волн 254 нм (катаболический пул) и 274 нм (анаболический пул), в трупной моче.

При дальнейшем исследовании влияния этанола на уровень содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче трупов в случае смерти только от механической странгуляционной асфиксии, получены описательные статистики данных, представленные в таблице 12.

Таблица 12 - Описательные статистики уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче трупов в случае смерти от механической странгуляционной асфиксии при наличии и отсутствии этанола

Этанол	Обознач выборки	Название выборки (ВНСММ)	М усл.ед.	σ	m	Me	Межкв. размах	Распр еделе ние
есть	X1	Σ	9,94	4,3	0,93	8,8	5,4 - 12,02	N
	X2	254нм	0,16	0,06	0,01	0,15	0,11 - 0,19	N
	X3	274нм	0,17	0,07	0,02	0,14	0,09 - 0,20	N
нет	X4	Σ	19,31	10,4	2,52	16,8	11,5 - 28,3	$\neq N$
	X5	254нм	0,3	0,14	0,04	0,25	0,20 - 0,33	$\neq N$
	X6	274нм	0,34	0,26	0,06	0,27	0,17 - 0,43	$\neq N$

В таблице 13 представлены результаты сравнения выборок уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче трупов в случае смерти от механической странгуляционной асфиксии при наличии и отсутствии этанола.

Таблица 13 - Сравнение выборок уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче трупов в случае смерти от механической странгуляционной асфиксии при наличии и отсутствии этанола

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1-X4	есть	<0,001	в медианах
X2-X5	есть	<0,001	в медианах
X3-X6	есть	<0,001	в медианах

Результаты сравнения (медианы) выборок уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в моче при наличии и отсутствии этанола (причина смерти – механическая странгуляционная асфиксия) представлены на рисунках 14 и 15.

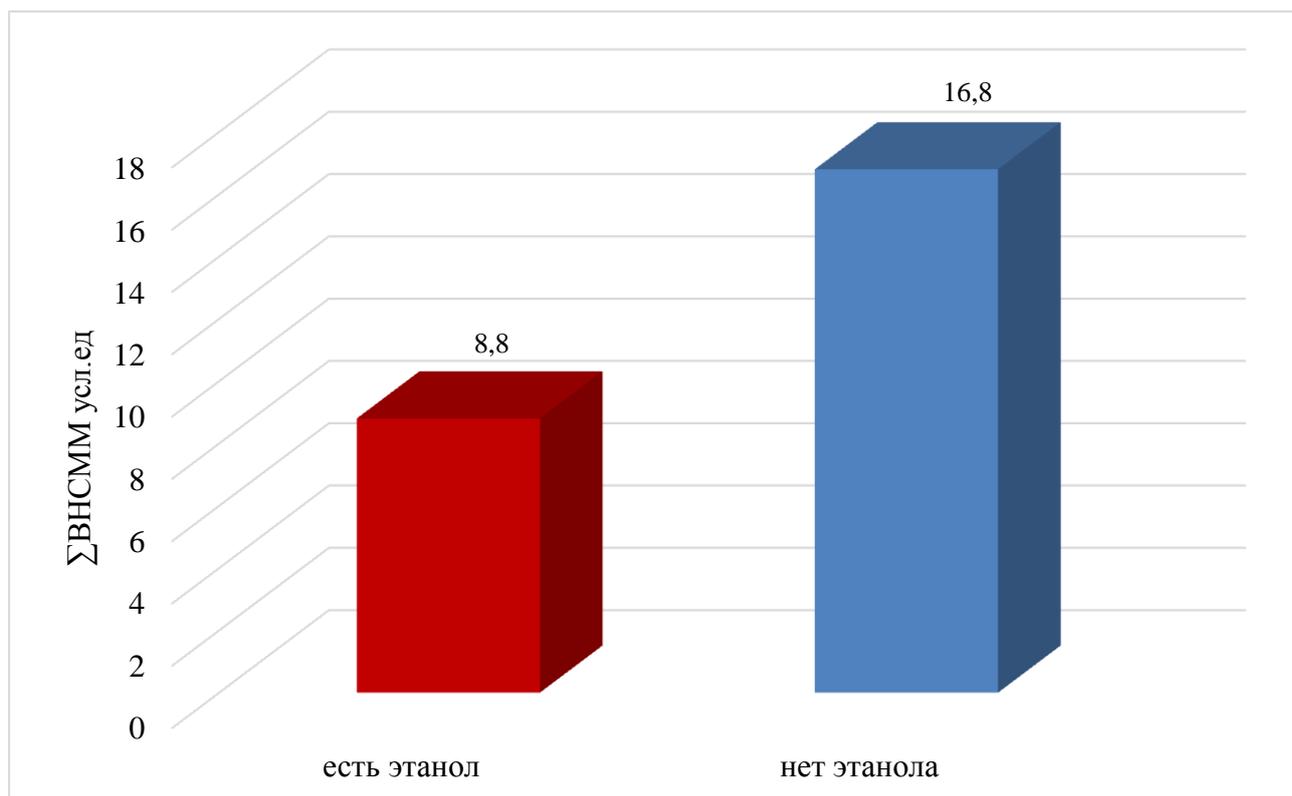


Рисунок 14 – Суммарный уровень содержания веществ низкой и средней молекулярной массы Σ ВНСММ в моче трупов (причина смерти – механическая странгуляционная асфиксия) при наличии и отсутствии этанола

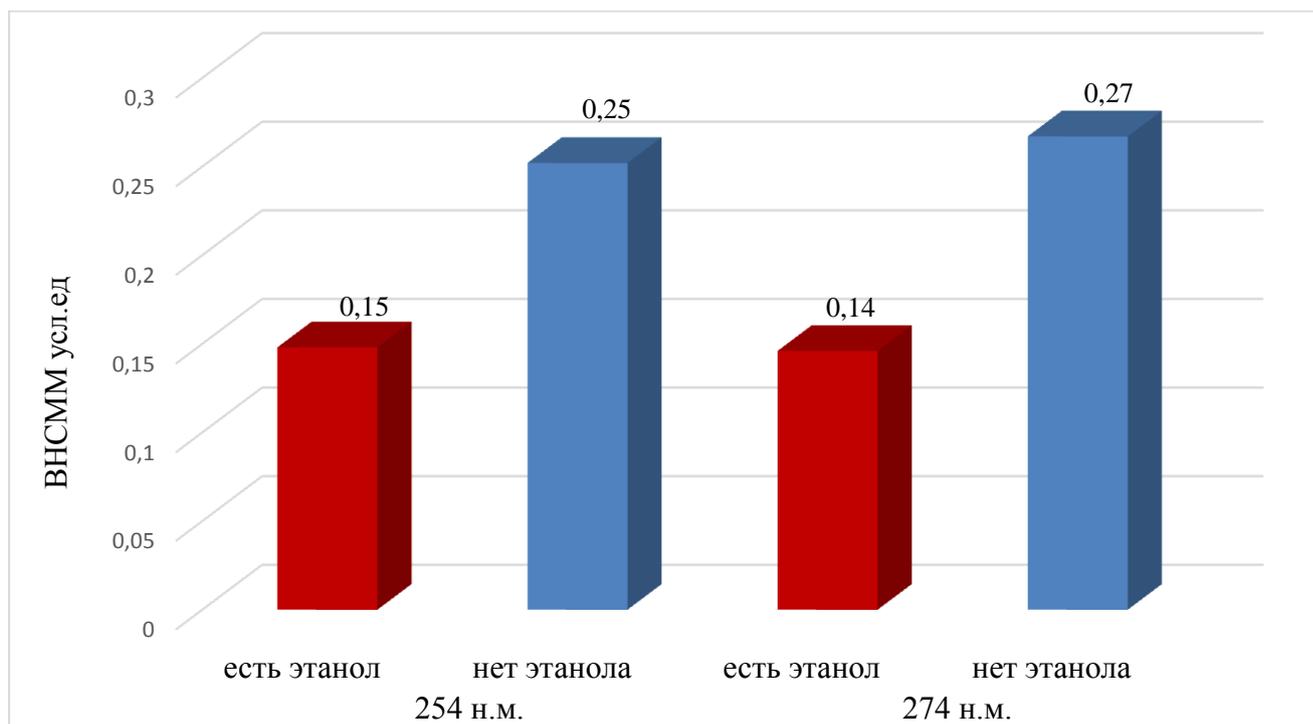


Рисунок 15 – Уровень содержания веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) на длинах волн 254 нм (зона катаболического пула) и 274 нм (зона анаболического пула) в моче трупов при наличии и отсутствии этанола (причина смерти – механическая странгуляционная асфиксия)

Полученные результаты опытов свидетельствуют, что в группе с причиной смерти механическая странгуляционная асфиксия, при наличии этанола отмечается статистически значимое снижение в моче уровней содержания Σ ВНСММ (длины волн 238-298 нм) и ВНСММ, независимо от зоны пула, на длинах волн 254 нм (катаболический пул) и 274 нм (анаболический пул).

Исследование крови.

В таблице 14 представлены описательные статистики уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 в крови трупов при наличии и отсутствии этанола.

Таблица 14 - Описательные статистики уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в крови трупов при наличии и отсутствии этанола

Этанол	Обознач выборки	Название выборки (ВНСММ)	М усл.ед.	σ	m	Me	Межкв. размах	Расп реде лени е
есть	X1	Σ	54,5	23,8	3,2516	54	34,75 - 66	$\neq N$
	X2	254нм	1,186	0,5	0,0761	1,06	0,74 - 1,63	N
	X3	274нм	0,8683	0,4	0,0591	0,74	0,53 - 1,11	$\neq N$
нет	X4	Σ	49,5	16,9	2,1242	47	37 - 60,75	N
	X5	254нм	1,0635	0,36	0,0457	1,09	0,8 - 1,26	N
	X6	274нм	0,7824	0,29	0,037	0,73	0,56 - 0,97	N

Полученные выборки X1, X2, X3 сравнивались с выборками X4, X5, X6.

В таблице 15 представлены результаты сравнения уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в крови трупов при наличии и отсутствии этанола.

Таблица 15 - Сравнение выборок уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в крови трупов при наличии и отсутствии этанола

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1-X4	нет	$>0,05$	в медианах
X2-X5	нет	$>0,05$	в средних
X3-X6	нет	$>0,05$	в средних

В таблице 15 в графе «различие» указывается результат сравнения: есть различие или нет, (в нашем случае различия нет), то есть, статистически значимого различия между выборками нет ($p > 0,05$).

Таким образом, в крови статистически значимых различий, как суммарного уровня содержания веществ низкой и средней молекулярной массы, так и их уровня на отдельных длинах волн (катаболического и анаболического пулов), при наличии и отсутствии этанола не выявлено.

При дальнейшем исследовании влияния этанола на уровни содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в крови трупов, в случае смерти только от механической странгуляционной асфиксии, получены описательные статистики данных, представленные в таблице 16.

Таблица 16 - Описательные статистики уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в крови трупов, при механической странгуляционной асфиксии, при наличии и отсутствии этанола

Этанол	Обознач выборки	Название выборки (ВНСММ)	М усл.ед	σ	m	Me	Межкв. размах	Распреде ление
есть	X1	Σ	56	19,5	4,6	53,5	42,2 - 64,2	N
	X2	254нм	1,29	0,39	0,09	1,25	0,95 - 1,6	$\neq N$
	X3	274нм	0,87	0,38	0,08	0,75	0,62 - 1,07	$\neq N$
нет	X4	Σ	50,5	10,7	4,3	48	41,5 - 60,5	N
	X5	254нм	1,25	0,25	0,1	1,18	1,04 - 1,5	N
	X6	274нм	0,75	0,21	0,08	0,77	0,63 - 1,0	N

В таблице 17 представлены результаты сравнения выборок уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в крови

трупов, в случае смерти от механической странгуляционной асфиксии, при наличии и отсутствии этанола.

Таблица 17 - Сравнение выборок уровней содержания Σ ВНСММ и ВНСММ на длинах волн 254 нм и 274 нм в крови трупов, в случае смерти от механической странгуляционной асфиксии, при наличии и отсутствии этанола

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1-X4	нет	>0,05	в средних
X2-X5	нет	>0,05	в медианах
X3-X6	нет	>0,05	в медианах

Исходя из вышеизложенного следует, что при наличии и отсутствии этанола, статистически значимых различий как суммарного уровня содержания веществ низкой и средней молекулярной массы, так и уровня на отдельных длинах волн (катаболического и анаболического пулов), при причине смерти механическая странгуляционная асфиксия, в трупной крови не выявлено.

В ходе проведенных экспериментов установлено, что при наличии этанола, изменения уровня содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови, на фоне выраженных процессов, не выявляется.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что наличие этанола вызывает статистически значимое снижение уровня содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной моче, что связано с развивающейся интоксикацией этанолом и его метаболитами, приводящей к изменению выделительной функции почек, что следует учитывать при оценке результатов содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в соответствующих биохимических экспертных исследованиях. Статистически значимых изменений их уровня в крови не выявлено.

3.3.1. Изучение показателей содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче в зависимости от продолжительности и температуры хранения

Хранение крови и мочи при температуре +20°C не приводит к статистически значимым различиям показателей веществ низкой и средней молекулярной массы в течение 2 суток, крови - при температуре +4°C и мочи - при температуре +4°C и -18°C до 14 суток включительно (время наблюдения). Хранение крови при температуре – 18°C недопустимо, так как происходит гемолиз эритроцитов, ведущий к искажению результатов показателей веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ).

Исследовалась кровь и моча от 10 трупов. Одна часть объектов содержалась в комнатных условиях при температуре +20°C, другая в холодильной камере при температуре +4°C, моча (дополнительно) при – 18°C.

Содержание концентрации ВНСММ определялось методом М.Я.Малаховой в модификации Т.В. Копытовой в первый час после изъятия и спустя 1,2,3,7,14 суток. Всего получено 270 показателей.

Начальный уровень содержания Σ ВНСММ в крови и моче в зависимости от особенностей премортального периода и причины смерти в каждом отдельном эксперименте был различный. Поэтому в дальнейшем анализировалась разница между его величиной и значениями, полученными спустя 1,2,3,7,14 суток. Для полученных таким образом данных рассчитывались описательные статистики.

Исследование крови.

В таблице 18 представлены описательные статистики уровня содержания Σ ВНСММ в крови при различной продолжительности и температуре хранения +20°C, +4°C представлены в таблице 18.

Таблица 18 - Описательные статистики уровня содержания Σ ВНСММ в крови при различной продолжительности и температуре хранения +20°C, +4°C

Режим хранения	Обозн. выборки	Время хранения	М усл.ед.	σ	m	Me	Межкв. размах	Распределение
20°C	X1	1 сут.	6,96	7,94	2,51	4,94	2,4-13,05	N
	X2	2 сут.	7,39	8,58	2,71	5,44	2,6-13,08	N
	X3	3 сут.	32,18	27,89	8,82	22,7	11,5-57,8	≠N
	X4	7 сут.	36,95	25,3	8	25,3	18,9-60,9	N
	X5	14 сут.	55,18	19,86	6,28	53,5	35,9-79,3	N
4°C	X1	1 сут.	3,85	6,35	2,01	2,08	0,27- 9,8	N
	X2	2 сут.	3,99	6,18	1,95	1,69	0,76 - 10	N
	X3	3 сут.	3,41	5,95	1,88	1,73	-0,4 - 8	N
	X4	7 сут.	5,08	7,04	2,23	3,69	1,38-8,9	≠N
	X5	14 сут.	6,99	8,18	2,59	7,23	1,9-13,25	N

Выборкам в зависимости от времени и температуры хранения присвоены обозначения X1, X2, X3, X4, X5:

— выборка X1 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ крови между первым измерением (после забора) и через 1 сутки при температуре + 20°C и + 4°C.

— выборка X2 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ крови между первым измерением (после забора) и через 2 суток при температуре + 20°C и + 4°C.

— выборка X3 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ крови между первым измерением (после забора) и через 3 суток при температуре + 20°C и + 4°C.

— выборка X4 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ крови между первым измерением (после забора) и через 7 суток при температуре + 20°C и + 4°C.

— выборка X5 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ крови между первым измерением (после забора) и через 14 суток при температуре + 20°C и + 4°C.

Сравнения выполнялись следующим образом: 1 сутки –2 сутки, 1 сутки–3 сутки, 1 сутки –7 сутки, 1 сутки –14 сутки, для того, чтобы определить на каком конкретно временном промежутке начинают происходить искажения уровня содержания ВНСММ в крови.

В таблицах 18.1 и 18.2 представлены результаты сравнения уровня содержания Σ ВНСММ в крови трупов при различной продолжительности и температуре хранения + 20°C и + 4°C.

Таблица 18.1 - Сравнение уровня содержания Σ ВНСММ в крови при различной продолжительности и температуре хранения +20°C

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	нет	>0,05	в средних
X1 - X3	есть	<0,001	в медианах
X1 - X4	есть	<0,001	в средних
X1 - X5	есть	<0,001	в средних

Таблица 18.2 - Сравнение уровня содержания Σ ВНСММ в крови при различной продолжительности и температуре хранения +4°C

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	нет	>0,05	в средних
X1 - X3	нет	>0,05	в средних
X1 - X4	нет	>0,05	в медианах
X1 - X5	нет	>0,05	в средних

Как видно из представленных данных, в случаях хранения жидкой крови при температуре + 20°C статистически значимого различия в уровне содержания Σ ВНСММ не наблюдается в 1 и 2 сутки, однако на 3 сутки видно статистически значимое изменение данных значений.

Хранение при температуре +4°C не приводит к искажению уровня ВНСММ до 14 суток (время наблюдения).

Далее представлены данные изменения уровня содержания Σ ВНСММ в крови в конкретном случае. Труп, гр. М, 1956 г.р. Причиной смерти явилась механическая странгуляционная асфиксия.

В таблице 19 представлена посуточная динамика изменений уровня содержания Σ ВНСММ в крови у гр. М, при различных температурах хранения +20°C и +4°C

Таблица 19 - Посуточная динамика изменений уровня содержания Σ ВНСММ в крови при различных температурах хранения +20°C и +4°C у гр. М.

Время хранения (сутки)	Температура хранения °С	
	+20°C	+4°C
исходные данные	55,9	
1	53,27	53,02
2	53,01	52,21
3	45,95	52,62
7	33,15	49,26
14	26,82	48,75

Посуточная динамика изменений уровня содержания Σ ВНСММ в крови при температурах хранения +20°C и +4°C у гр. М. изображена графически на рисунке 16.

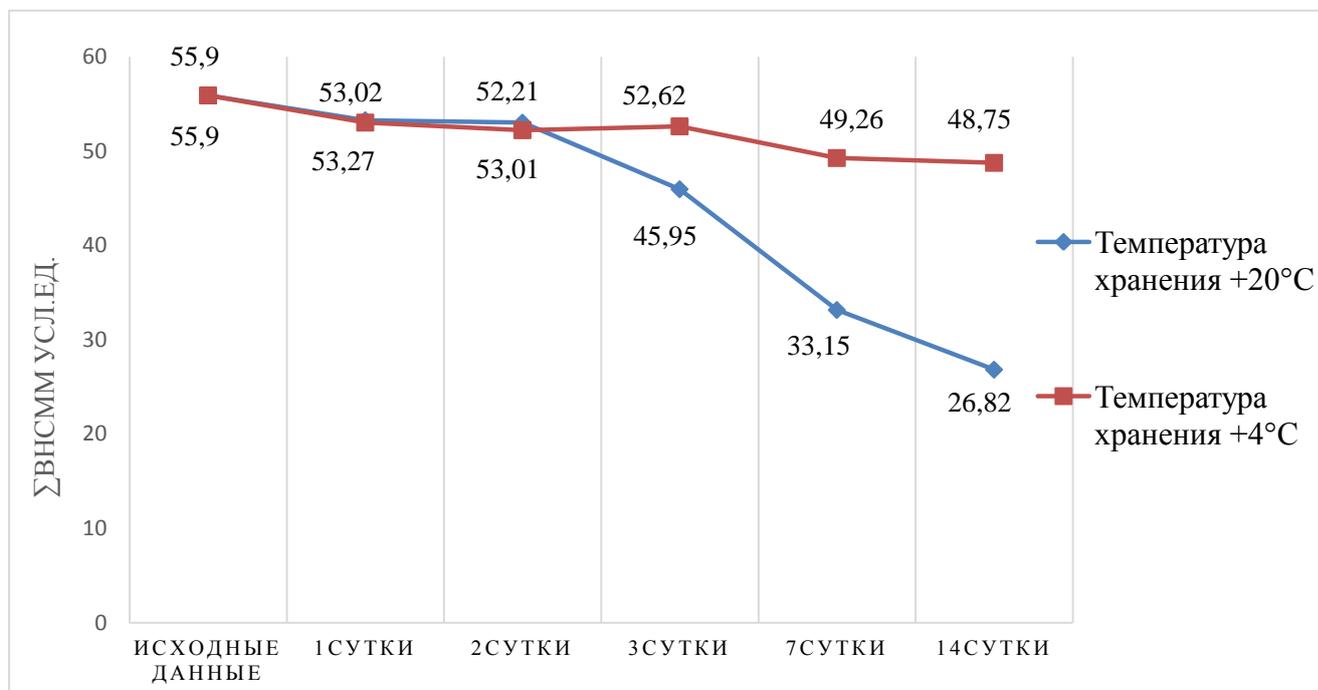


Рисунок 16 - Посуточная динамика изменений Σ ВНСММ в крови при температурах хранения +20°C и +4°C у гр. М

Из полученных данных видно, что изменения уровня содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в крови в зависимости от температуры и продолжительности хранения происходят по-разному. Так, при температуре +4°C в течение 14 суток (время наблюдения) изменения практически не наступают. Содержание же при температуре + 20°C на 3 суток приводит к статистически достоверному искажению показателей.

Исследование мочи.

Расчетные таблицы описательных статистик уровня содержания Σ ВНСММ в моче при различной продолжительности и температуре хранения +20°C, +4°C и -18°C представлены в таблице 20.

Таблица 20 - Расчетная таблица описательных статистик уровня содержания Σ ВНСММ в моче при различной продолжительности и температуре хранения +20°C, +4°C и -18°C

Режим хранения	Обозн. выборки	Время хранения	М усл.ед	σ	m	Me	Межкв. размах	Распределение
20°C	X1	1 сут.	0,92	0,72	0,27	0,95	0,13 -1,37	N
	X2	2 сут.	0,47	0,49	0,18	0,45	-0,03-0,94	≠N
	X3	3 сут.	2,64	1,64	0,62	3,06	2,37 -3,78	≠N
	X4	7 сут.	4,52	1,7	0,64	4,75	3,83- 5,75	N
	X5	14 сут.	5,15	2,09	0,79	4,9	4,57- 6,48	N
4°C	X1	1 сут.	0,58	0,95	0,36	0,32	-0,21-1,14	≠N
	X2	2 сут.	-0,07	0,91	0,34	-0,41	-0,98-0,63	N
	X3	3 сут.	-0,02	2	0,75	-0,56	-1,79-2,13	≠N
	X4	7 сут.	0,75	1,5	0,57	0,63	-0,75-1,99	≠N
	X5	14 сут.	2,11	1,81	0,68	2,25	0,22-3,89	N
-18°C	X1	1 сут.	0,54	1,44	0,54	0,21	-0,43-1,32	N
	X2	2 сут.	-0,11	0,95	0,36	-0,41	-0,84-1,02	≠N
	X3	3 сут.	0,18	2,1	0,79	0,89	-2,08-1,91	≠N
	X4	7 сут.	0,26	1,27	0,48	0,05	-0,83-1,3	N
	X5	14 сут.	0,8	1,56	0,59	0,24	-0,41-1,91	≠N

Выборкам в зависимости от времени и температуры хранения присвоены обозначения X1, X2, X3, X4, X5:

— выборка X1 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ в моче между первым измерением (после забора) и через 1 сутки при температуре + 20°C, + 4°C и -18°C

— выборка X2 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ в моче между первым измерением (после забора) и через 2 суток при температуре + 20°C, + 4°C и -18°C.

— выборка X3 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ в моче между первым измерением (после забора) и через 3 суток при температуре + 20°C, + 4°C и -18°C.

— выборка X4 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ в моче между первым измерением (после забора) и через 7 суток при температуре + 20°C, + 4°C и -18°C.

— выборка X5 обозначает группу статистических показателей разницы общего уровня содержания ВНСММ в моче между первым измерением (после забора) и через 14 суток при температуре + 20°C, + 4°C и -18°C.

Сравнения выполнялись следующим образом: 1 сутки – 2 сутки, 1 сутки – 3 сутки, 1 сутки – 7 суток, 1 сутки – 14 суток, для того, чтобы определить на каком конкретно временном промежутке начинают происходить искажения уровня содержания Σ ВНСММ в моче.

В таблицах 20.1, 20.2 и 20.3 представлены результаты сравнения уровня содержания Σ ВНСММ в моче трупов при температуре хранения + 20°C, + 4°C и -18°C.

Таблица 20.1 - Сравнение уровня содержания Σ ВНСММ в моче при различной продолжительности и температуре хранения +20°C

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	нет	>0,05	в медианах
X1 - X3	есть	<0,05	в медианах
X1 - X4	есть	<0,05	в средних
X1 - X5	есть	>0,05	в средних

Таблица 20.2 - Сравнение уровня Σ ВНСММ в моче при различной продолжительности и температуре хранения +4°C

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	нет	>0,05	в медианах
X1 - X3	нет	>0,05	в медианах
X1 - X4	нет	>0,05	в медианах
X1 - X5	нет	>0,05	в медианах

Таблица 20.3 - Сравнение уровня Σ ВНСММ в моче при различной продолжительности и температуре хранения -18°C

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	нет	$>0,05$	в медианах
X1 - X3	нет	$>0,05$	в медианах
X1 - X4	нет	$>0,05$	в средних
X1 - X5	нет	$>0,05$	в медианах

Как видно из представленных данных изменение уровня содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в моче в зависимости от температуры и продолжительности хранения такое же, как и в крови: при температуре $+20^{\circ}\text{C}$ статистически значимого различия в 1 и 2 сутки не наблюдается, однако на 3 сутки имеется статистически значимое изменение в уровне содержания ВНСММ. Хранение при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и -18°C не приводит к искажению уровня ВНСММ до 14 суток (время наблюдения).

Таким образом, выполненные эксперименты показали, что хранение крови и мочи при температуре $+20^{\circ}\text{C}$ не приводит к статистически значимым различиям в уровне содержания ВНСММ в течение 2 суток, крови - при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и мочи - при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и -18°C до 14 суток включительно (время наблюдения). Хранение крови при температуре -18°C недопустимо, так как происходит гемолиз эритроцитов, искажающий результаты исследования.

3.3.2. Изучение показателей содержания миоглобина в крови в зависимости от продолжительности и температуры хранения

В ходе исследования было установлено, что при всех температурных режимах отмечается снижение уровня миоглобина в трупной крови уже в первые сутки, при этом, с увеличением температуры хранения, скорость падения показателей увеличивается.

В связи с тем, что в наших экспериментах установление уровня миоглобина в крови проводилось двумя методами: полуколичественным - реакции пассивной гемагглютинации с эритроцитарным диагностикумом ДС-ЭРИТРО-МИОГЛОБИН НПО «Диагностические системы» и количественным - иммунотурбидиметрическим тестом с набором DiaSys Diagnostic Systems GmbH, была проведена серия экспериментальных исследований с целью сравнения их диагностической значимости.

Исследовались значения уровня миоглобина в крови от 196 трупов.

Результаты применения двух методов определения уровня содержания миоглобина в крови представлены в виде описательных статистик в таблице 21.

Таблица 21 - Описательные статистики результатов применения эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста

Выборки	Метод	М (Мкг/л)	σ	m	Me	Межкв. размах	Распределение
X1	Эритроцитарный диагн.	100054	202765	19074	49152	12300-98300	$\neq N$
X2	Иммунотурбидиметрический тест	23707	11961	1337	25123	14400-30000	$\neq N$

Далее между собой сравнивались медианы выборок X1 (эритроцитарный диагностикум) и X2 (иммунотурбидиметрический тест). Результаты сравнения уровней содержания миоглобина, полученных с помощью методов эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста, представлены в таблице 22.

Таблица 22 - Сравнение уровней содержания миоглобина, полученных с помощью эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1-X2	есть	$<0,01$	в медианах

Из представленных данных следует, что между результатами уровней содержания миоглобина, полученных методами эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста, имеется статистически значимое различие ($p < 0,01$).

На рисунке 17 представлены графические значения медиан уровней содержания миоглобина, полученных с использованием эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста.

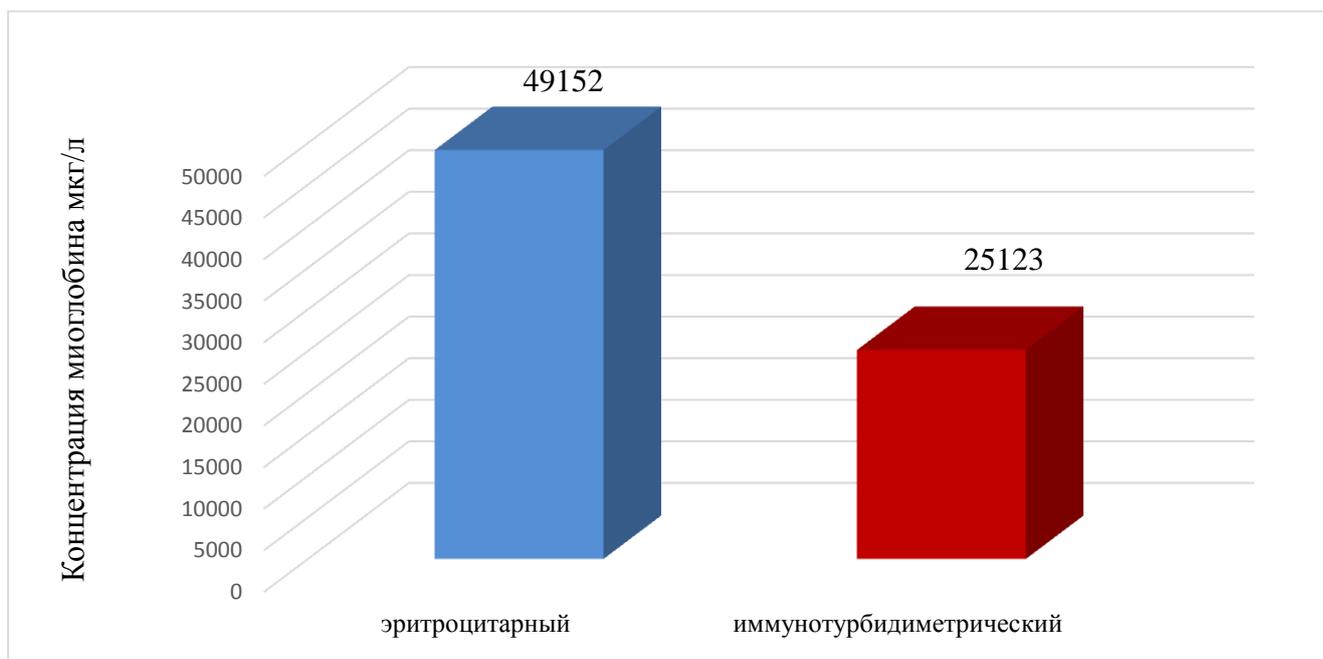


Рисунок 17 - Медианы уровней содержания миоглобина в крови трупов, полученных с использованием эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста

Приведем результаты конкретного случая исследования миоглобина в крови, полученные с помощью эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста.

В ходе биохимических исследований в крови гр. С, 1930 г.р., с причиной смерти острый инфаркт миокарда, уровень содержания миоглобина, полученный методом эритроцитарного диагностикума составил 12288 Мкг/л, а полученный методом иммунотурбидиметрического теста, составил 28000 Мкг/л., то есть больше чем в 2 раза.

Таким образом, проведенные эксперименты показали статистически значимое различие в уровне содержания миоглобина, полученного эритроцитарным методом и иммунотурбидиметрическим тестом.

Затем сравнивались уровни содержания миоглобина, полученные с помощью эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста от трупов с различными причинами смерти и продолжительностью

преморального периода.

С этой целью из всех трупов в зависимости от причины смерти и продолжительности преморального периода были выделены три группы:

1 – Сочетанная тупая травма тела – травмы от падения с высоты и транспортные травмы (преморальный период несколько секунд);

2 – Острый инфаркт миокарда (преморальный период от нескольких секунд до несколько минут);

3 – Хроническая ишемическая болезнь сердца (преморальный период часы, дни).

Всего изучена кровь от 129 трупов, в каждую группу вошло следующее количество трупов: 1 группа (X1) – 40 случаев, 2 группа (X2) – 38 случаев, 3 группа (X3) – 51 случай.

Описательные статистики уровней содержания миоглобина по трем причинам смерти, полученные с помощью эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста представлены в таблицах 23,24,25,26.

Таблица 23 - Описательные статистики уровней содержания миоглобина, полученных методом эритроцитарного диагностикума, по трем причинам смерти

Обозн. выборки	причина смерти	M (Мкг/л)	σ	m	Me	Межкв. размах	Распределение
X1	СТТТ	43238	45962	10544	24576	12000-49000	≠N
X2	Острый инфаркт миокарда	93120	191412	47853	36864	12000-86000	≠N
X3	Хроническая ишемическая болезнь сердца	88201	181139	34232	24577	12000-86000	≠N

В таблице 24 показаны результаты сравнения уровней содержания миоглобина, полученных методом эритроцитарного диагностикума по трем причинам смерти.

Таблица 24 - Сравнение уровней содержания миоглобина, полученные методом эритроцитарного диагностикума по трем причинам смерти

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	нет	$>0,05$	в медианах
X2 - X3	нет	$>0,05$	в медианах
X1 - X3	нет	$>0,05$	в медианах

На рисунке 18 изображены графические значения медиан уровней содержания миоглобина, полученных методом эритроцитарного диагностикума по трем причинам смерти.

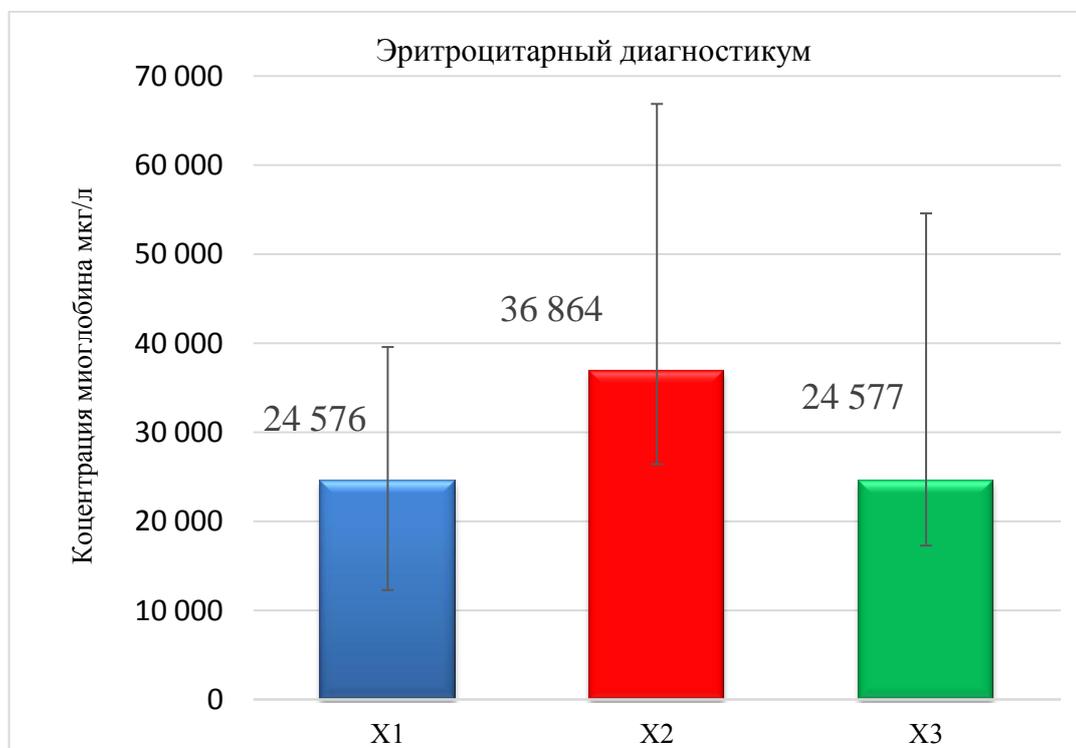


Рисунок 18 - Медианы уровней содержания миоглобина в крови трупов, полученных методом эритроцитарного диагностикума

Результаты исследований свидетельствуют, что при анализе уровня содержания миоглобина с использованием эритроцитарного диагностикума статистически значимых различий в его уровне в сравниваемых группах не обнаружено.

В таблице 25 представлены описательные статистики уровней содержания миоглобина, полученные иммунотурбидиметрическим тестом, по трем причинам смерти.

Таблица 25 - Описательные статистики уровней содержания миоглобина, полученных иммунотурбидиметрическим тестом, по трем причинам смерти

Обознач. выборки	причина смерти	М (Мкг/л)	σ	m	Me	Межкв. размах	Распределение
X1	СТТТ	29032	14811	3232	26600	22300-32000	$\neq N$
X2	Инфаркт	27950	6490	1874	30000	23500 - 33000	N
X3	Хроническая ишемическая болезнь сердца	18108	9166	1911	14600	13200 - 18500	$\neq N$

В таблице 26 представлены результаты сравнения уровней содержания миоглобина, полученных иммунотурбидиметрическим тестом.

Таблица 26 - Сравнение уровней содержания миоглобина, полученных иммунотурбидиметрическим тестом

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	нет	$>0,05$	в медианах
X2 - X3	есть	$<0,001$	в медианах
X1 - X3	есть	$<0,001$	в медианах

На рисунке 19 изображены графические значения результатов сравнения медиан уровней содержания миоглобина, полученных с использованием иммунотурбидиметрического теста по трем причинам смерти.

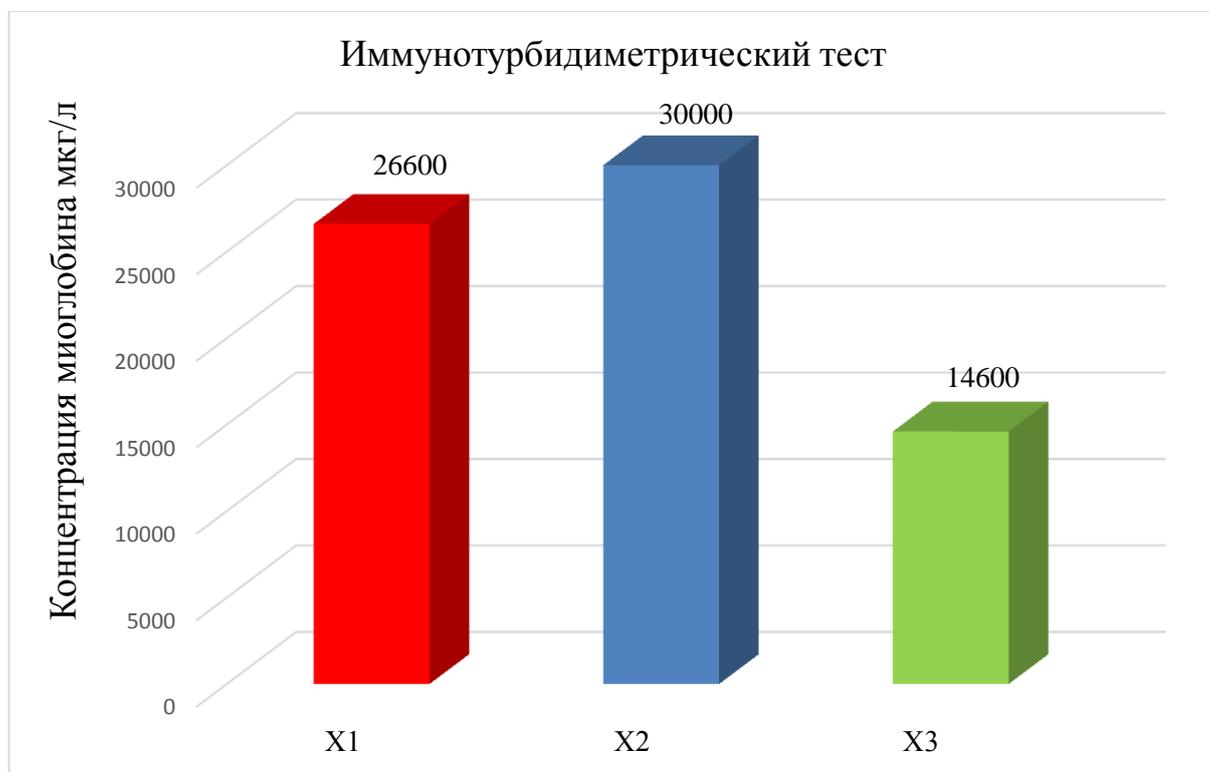


Рисунок 19 - Медианы уровней содержания миоглобина в крови трупов, полученных иммунотурбидиметрическим тестом по трем причинам смерти

Из результатов выполненных исследований видно статистически значимое различие в уровнях содержания миоглобина, полученных иммунотурбидиметрическим тестом в двух случаях:

- 1 - при сравнении групп X2 (острый инфаркт миокарда) и X3 (хроническая ишемическая болезнь сердца) ($p < 0,001$);
- 2 - при сравнении групп X1 (сочетанная тупая травма тела) и X3 (хроническая ишемическая болезнь сердца) ($p < 0,001$);

Статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$) при сравнении групп X1 (сочетанная тупая травма тела) и X2 (острый инфаркт миокарда).

Отмеченное дает основание сделать вывод, что иммунотурбидиметрический тест позволяет выявлять колебания уровня содержания миоглобина в трупной крови в зависимости от причины смерти и продолжительности премортального периода в тех случаях, когда эритроцитарным диагностикумом различия установить не удастся. Учитывая вышеизложенное, в наших опытах при исследовании миоглобина анализировались данные полученные с помощью количественного метода - иммунотурбидиметрического теста.

При изучении влияния продолжительности и температуры хранения крови на уровень содержания миоглобина исследования проводились на 13 трупах. В каждом опыте сравнивались показатели миоглобина в первый час после забора с результатами через 24, 48, 72 часа, получено 130 числовых показателей.

Поскольку уровень миоглобина в зависимости от причины смерти и особенностей премортального периода в каждом отдельном эксперименте был различным, анализировалась разница между его величиной и значениями, полученными спустя 24, 48, 72 часа. Для полученных таким образом данных рассчитывались описательные статистики, приведенные в таблице 27.

Таблица 27 – Уровень содержания миоглобина при различной продолжительности и температуре хранения + 20°C, + 4°C и -18°C

Режим хранения	Обознач выборки	Время хранения	М (Мкг/л)	σ	m	Me	Межкв. размах	Распределение
20°C	X1	24 ч.	5072,3	1701	471	4600	3950-5800	N
	X2	48 ч.	9638,5	2622	727	9300	7560-12100	N
	X3	72 ч.	14653	2870	796	14900	12300-17400	N
4°C	X1	24 ч.	2536,9	1032	286	2540	1480-3230	N
	X2	48 ч.	4953,1	1747	484	4900	3500-5650	≠N
	X3	72 ч.	6997,1	1749	485	7050	5600-8100	N
- 18°C	X1	24 ч.	860	508	141	800	470-1230	≠N
	X2	48 ч.	2550	1352	375	2300	1530-2950	≠N
	X3	72 ч.	3661,7	1386	384	3120	2910-3980	≠N

Выборкам в зависимости от времени и температуры хранения присвоены условные обозначения выборок X1, X2, X3:

— выборка X1 обозначает группу статистических показателей разницы, уровня содержания миоглобина, между первым измерением (после забора) и через 24 часа при температурах хранения + 20°C и + 4°C и -18°C.

— выборка X2 обозначает группу статистических показателей разницы, уровня содержания миоглобина, между первым измерением (после забора) и через 48 часов при температурах хранения + 20°C и + 4°C и -18°C.

— выборка X3 обозначает группу статистических показателей разницы, уровня содержания миоглобина, между первым измерением (после забора) и через 72 часа при температурах хранения + 20°C и + 4°C и -18°C.

В соответствии с группами исследований были сформированы таблицы результатов сравнения 27.1, 27.2, 27.3, таким образом, в них представлены результаты сравнения уровня миоглобина при различной длительности и температуре хранения крови.

Таблица 27.1 - Результаты сравнения уровня содержания миоглобина при различной длительности и температуре хранения + 20°C

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	есть	<0,001	в средних
X1 - X3	есть	<0,001	в средних
X2 - X3	есть	<0,001	в средних

Таблица 27.2 - Результаты сравнения уровня содержания миоглобина при различной длительности и температуре хранения + 4°C

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	есть	<0,05	в медианах
X1 - X3	есть	<0,001	в средних
X2 - X3	есть	<0,05	в медианах

Таблица 27.3 - Результаты сравнения уровня содержания миоглобина при различной длительности и температуре хранения -18°C

Сравниваемые выборки	Различие	Уровень значимости	Различие (в чем)
X1 - X2	есть	<0,05	в медианах
X1 - X3	есть	<0,05	в медианах
X2 - X3	есть	<0,05	в медианах

Изложенное выше иллюстрирует результаты конкретного случая.

На судебно-медицинское исследование поступил труп мужского пола, гр. П, 1946 г.р. с причиной смерти – острый инфаркт миокарда.

Числовые показатели уровня миоглобина в крови, полученные с помощью иммунотурбидиметрического теста у гр. П. в зависимости от различных температурных режимов и продолжительности хранения представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Числовые показатели уровня содержания миоглобина крови гр. П, в зависимости от температурных режимов и продолжительности хранения

Время хранения (часы)	Температура хранения (°C)		
	+ 20°C	+ 4°C	- 18°C
1	30000		
24	22100	25800	28700
48	15600	21000	24600
72	11560	19800	23220

На рисунке 20 представлены числовые показатели уровня содержания миоглобина в крови у гр. П., в зависимости от температурных режимов и продолжительности хранения.

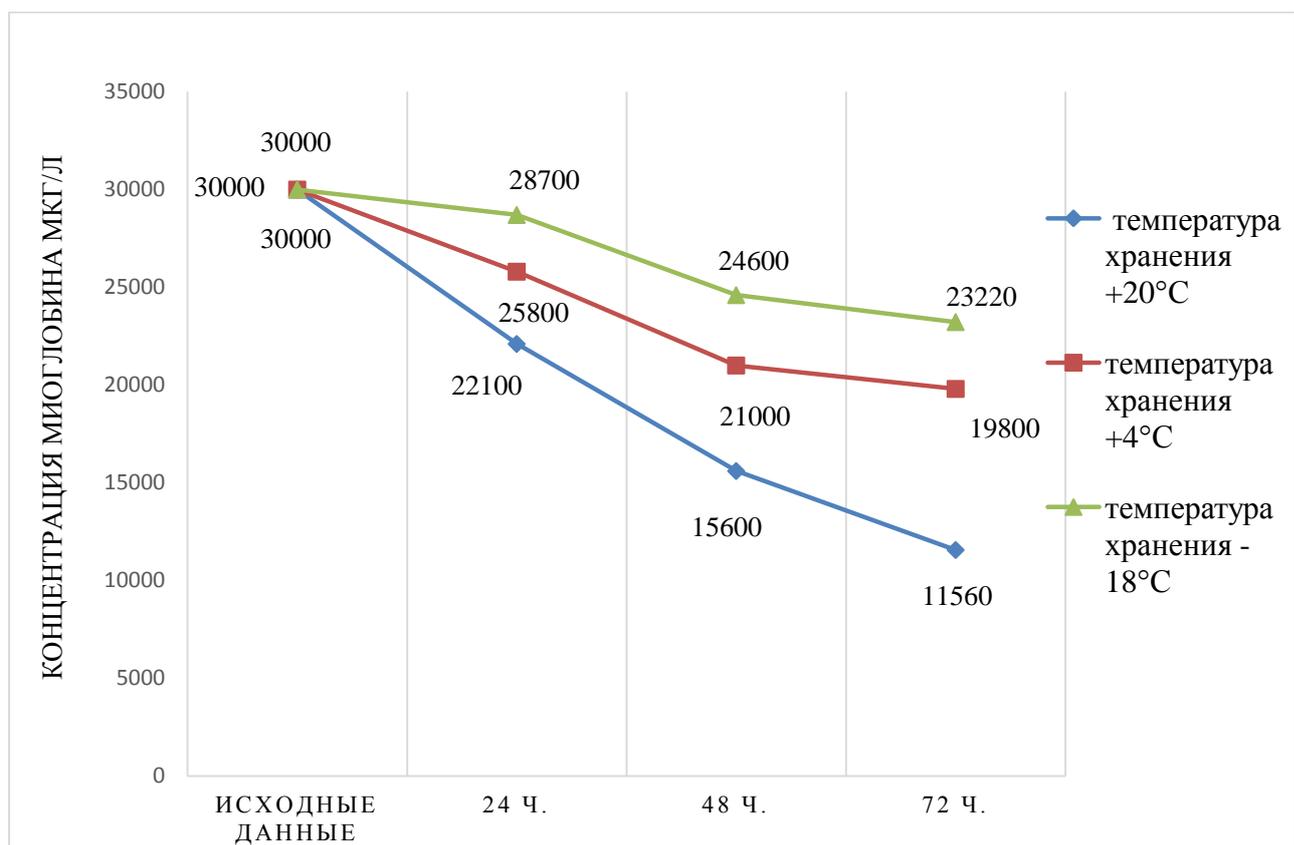


Рисунок 20 – Уровень содержания миоглобина в крови у гр. П., в зависимости от температурных режимов и продолжительности хранения

Проведенные исследования показали, что при всех температурных режимах происходит снижение уровня миоглобина в крови уже в первые сутки. При этом, с увеличением температуры хранения, скорость падения показателей увеличивается, по всей видимости, это обусловлено тем, что повышение температуры ускоряет распад белков крови, в том числе миоглобина.

Для оптимизации работы судебно-медицинского эксперта, при оценке влияния условий хранения крови на показатели содержания миоглобина,

разработана программа для ЭВМ «Эксперт миоглобин». (Свидетельство РФ о государственной регистрации программы для ЭВМ, №2017611128 от 19.01.2017) (приложение Г).

Графический интерфейс программы, представленный на рисунке 21, позволяет заносить эксперту в базу данных стандартную статистическую информацию.

Персональные данные		Данные о проведенном анализе	
ФИО	Петров Петр Петрович	Метод	Иммунотурбидиметрический
Паспорт	Серия 11 11 Номер 111111	Срок забора крови	12 часов
Дата рождения	1 июля 1975 г.	Уровень миоглобина	29500
Пол	М	<input checked="" type="checkbox"/> Условия хранения пробы	
№ акта	xxxxxx	Срок хранения пробы	До 24 часов
		Температура хранения	+4
Обработать анализ			

Рисунок 21 - Окно отображения набора новых данных программы

1 Блок – персональные данные (дата, пол, возраст, номер заключения судебно-медицинского исследования).

2 Блок – срок забора материала крови от времени наступления смерти, условия хранения крови (температура и продолжительность хранения)

3 Блок - данные биохимических исследований миоглобина двумя способами определения:

1. Эритроцитарный диагностикум;

2. Иммунотурбидиметрический тест.

На основании занесенных данных, в результате разработанной программы «Эксперт миоглобин» удастся:

- 1) учесть влияние возможных искажений, связанных с условиями хранения объекта и методов исследования;
- 2) создается реестр судебно-медицинских исследований.

Использование программы позволяет ускорить и объективизировать оценку результатов исследования. Создаваемая в результате занесения информации база данных постоянно пополняется, при этом создается резервная копия, а на основе автоматизированного регистра судебно-медицинских экспертиз возможно формирование интегрированной базы данных, как основы для преемственности информации.

Полученные результаты свидетельствуют о влиянии температуры и продолжительности хранения крови на показатели миоглобина, что необходимо учитывать при выполнении экспертных исследований и оценке их результатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установление продолжительности премортального (предсмертного) периода является важной проблемой судебной медицины. В настоящее время изучение периода, предшествующего моменту смерти человека, проводится врачами нескольких научных специальностей, поэтому, в силу особенностей решаемых задач, существуют различные точки зрения на сам процесс умирания, кроме того отсутствуют единые определения и терминология.

В реаниматологии часто пользуются понятием терминального состояния, подразумевая под ним динамику нескольких фаз: предагональное состояние, терминальная пауза, агония, клиническая и биологическая смерть [59]. Так же, используется термин премортальный период, применяя его при ретроспективной оценке процессов и реакций, протекающих в организме больного перед смертью [75, 106, 107]. Приказом Минздрава РФ №73 от 04.03.2003 г. «Об утверждении Инструкции по определению критериев и порядка определения момента смерти человека, прекращения реанимационных мероприятий», в процессе умирания определены такие стадии как агония, клиническая смерть, смерть мозга и биологическая смерть. В свою очередь, агония предшествует клинической смерти и характеризуется «...прогрессивным угасанием внешних признаков жизнедеятельности организма (сознания, кровообращения, дыхания, двигательной активности) ...» [62]. Используется понятие «агональный период» как аналог термина «премортальный период» [42].

М.И. Райский отмечал что, «наступая в разные сроки, смерть неодинаково протекает по времени. Различают два типа смерти: скорая и медленная смерть. При первой человек умирает почти мгновенно... От быстрой смерти отличается смерть, наступающая медленно, когда человек умирает как бы постепенно, получается впечатление некоторой борьбы за жизнь, длящаяся минуты или часы. Такую смерть называют агональной (агония – борьба). Между внезапной и агональной смертью много переходов» [100].

Судебными медиками установлению давности наступления смерти и темпу

умирания посвящено большое количество работ [36, 65, 115, 153]. В методических рекомендациях «Определение длительности и темпа умирания по морфологическим признакам» [67] определены на базе комплексной оценки макро - и микроморфологических и иммуногистохимических изменений 5 основных вариантов темпа наступления смерти:

- 1- молниеносный темп (агональный период не превышает 15-30 минут);
- 2- быстрый темп (агональный период более 30 минут и до 2 часов);
- 3- средний темп (агональный период более 2 часов и до 6 часов);
- 4- медленный темп (агональный период более 6 часов и до 12 часов);
- 5- длительный темп (агональный период более 12 часов).

Исследователи, изучая процесс макро- и микроморфологических перестроек в организме в процессе агонии, показали, что наиболее ранние их проявления возникают по прошествии 15 – 30 минут [1, 70, 101, 107], но данный отрезок времени оказывается слишком продолжительным и не позволяет разрешить многие вопросы, возникающие у правоохранительных органов. Как показывает экспертная практика, трудности возникают именно в случаях мгновенно наступившей смерти, практически без агонального периода.

Изложенное выше свидетельствует об актуальности изучения самых ранних этапов премортального (агонального) периода, а также использование методов анализа, позволяющих регистрировать процессы, предшествующие формированию внутриклеточных реакций. По мнению Т. А. Дежиновой и др. [21] и А.А Чертовских [119] результаты биохимических исследований позволяют регистрировать наиболее ранние реакции организма на фатальное внешнее воздействие. А некоторые авторы [10, 134, 154] указывают, что биохимические методы позволяют выявлять нарушения обменных процессов, когда патоморфологические признаки поражений еще не выражены, поэтому являются весьма чувствительными и перспективными.

Известно, что вне зависимости от типа танатогенеза и причины смерти в тканях организма возникают явления гипоксии, непосредственно влияющие на

системы транспорта кислорода в организме, в частности на показатели миоглобина, а внутритканевые биохимические реакции вследствие тканевой гипоксии сопровождаются эндогенной интоксикацией, идут по пути активации свободнорадикального окисления, сопровождаются окислительной модификацией белков и повышением уровня МСМ. Отмечается, что уровень МСМ отображает процессы эндогенной интоксикации [69, 78, 169].

ВНСММ составляют группу МСМ, в их состав входит большое количество маркеров измененного метаболизма, поэтому изучение показателей ВНСММ в трупной крови и моче представляет значительный интерес для решения вопросов об особенностях премортального периода. Работ, посвященных этой теме, в специальной литературе нам не встретилось.

Что касается миоглобина, многие авторы предлагают его использование при дифференциальной диагностике отдельных видов внезапной смерти [9, 22, 15, 113, 170] и в качестве маркера длительности агонального периода [95, 113].

В судебно-медицинской практике большое значение имеет возможность использования биохимических методов для анализа биоматериала, изъятого за несколько суток до лабораторного исследования. Выполнению экспертиз по объектам, направляемым из районных подразделений областных экспертных учреждений, как правило, предшествует период (порой весьма продолжительный) доставки материала в лабораторию. Возникает необходимость стандартизации биохимических методик и оценки влияния внешних условий на результаты биохимического анализа [6, 110]. Все вышеизложенное свидетельствует об актуальности разработки новых методов судебно-медицинской посмертной диагностики (продолжительности) премортального периода с помощью биохимических показателей, с учетом влияния внешних факторов, что и определило целевую установку нашего исследования.

Достижение цели определялось решением следующих задач: определить динамику содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче в зависимости от продолжительности премортального периода;

разработать способ определения продолжительности премортального периода по соотношению содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче; оценить влияние наличия этанола на показатели содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче; изучить изменения содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче и миоглобина в крови в зависимости от температуры и продолжительности хранения биологических объектов; с помощью математической основы разработать программы для повышения эффективности диагностики продолжительности премортального периода по содержанию веществ низкой и средней молекулярной массы и миоглобина в крови, с учетом влияния продолжительности и температуры хранения биологических объектов.

С целью определения динамики содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в зависимости от продолжительности премортального периода проведено исследование трупной крови и мочи от 324 трупов. ВНСММ определялись в первый час после забора объектов на сканирующем спектрофотометре (СПЕКС ССП-765) по методике М.Я. Малаховой в модификации Т.К. Копытовой [46, 50].

Проводя детальный анализ и сопоставляя полученные показатели, было установлено, что из 324 случаев в 294 (90,74%), где процесс умирания сопровождался выраженным премортальным периодом (хроническая ишемическая болезнь сердца, отравления, новообразования, механическая асфиксия) содержание \sum ВНСММ в трупной крови (M_k) было больше, чем в моче (M_m) – $\frac{M_k}{M_m} > 1$, а у 30 трупов (9,26%), где смерть наступила в результате мгновенной остановки системного кровообращения, в момент воздействия повреждающих факторов и премортальный период практически отсутствовал (массивная тупая травма тела, падения с большой высоты, острый инфаркт миокарда, огнестрельная травма) наоборот, значение \sum ВНСММ больше в моче – $\frac{M_k}{M_m} < 1$ (рисунок 22, 23).

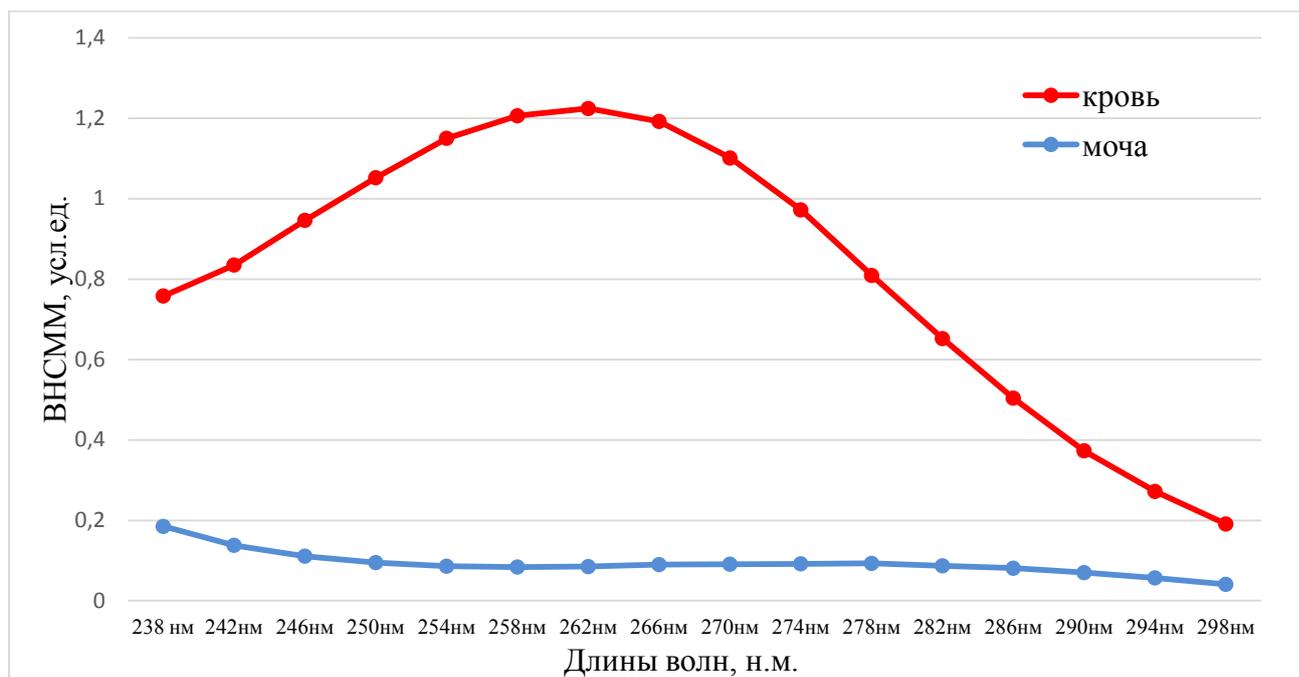


Рисунок 22 - Содержание VNCSMM в крови и моче, причина смерти – механическая странгуляционная асфиксия (выраженный премортальный период)

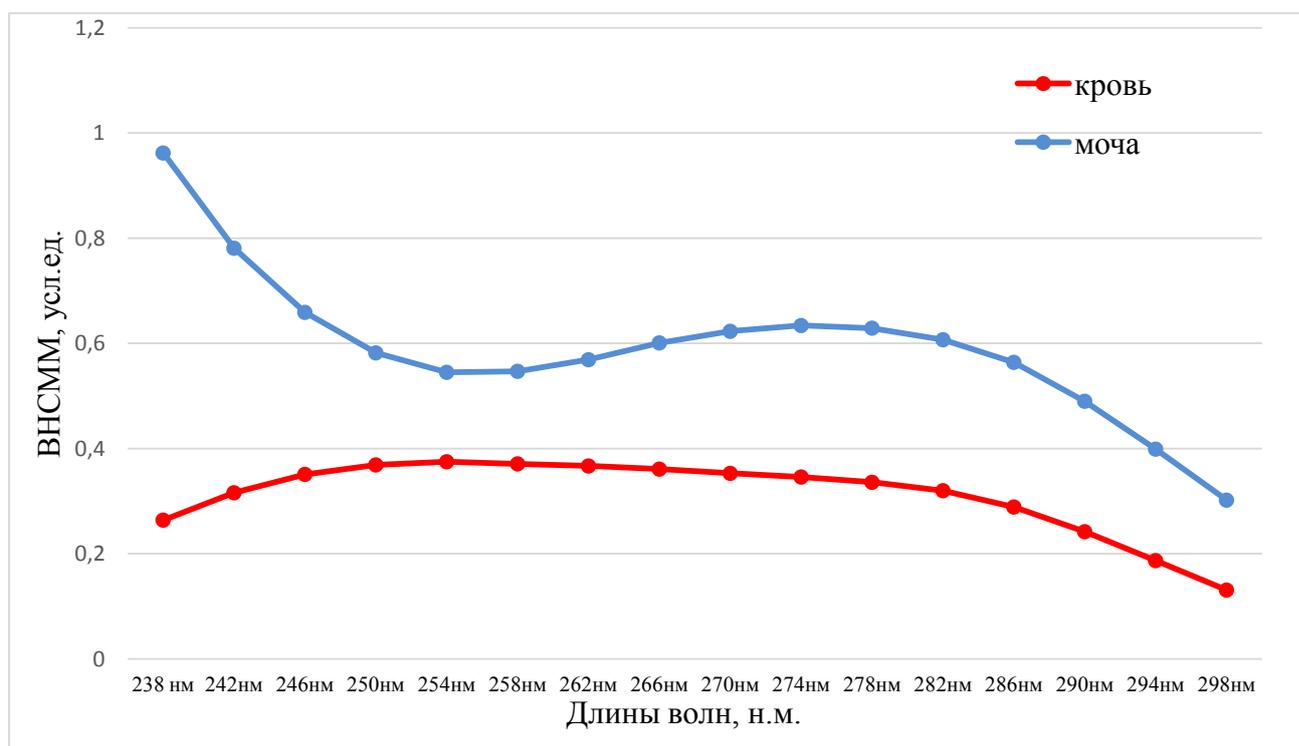


Рисунок 23 - Содержание VNCSMM в диапазоне длин волн 238-298 нм в крови и моче, причина смерти – сочетанная тупая травма тела (практически без премортального периода)

Полученные результаты позволили рекомендовать использование соотношения $\frac{M_k}{M_m} < 1$ в качестве маркера мгновенно (практически без премортального периода) наступившей смерти (Способ посмертного определения факта мгновенно наступившей смерти // Патент РФ на изобретение № 2676700 от 10.01.2019).

Обобщая результаты исследований, разработана программа для ЭВМ «Продолжительность предсмертного периода» (Свидетельство РФ о государственной регистрации программы для ЭВМ №2018617510 от 25.06.18), дающая возможность в оперативном режиме получать доступ к информации о персональных данных или заключений судебно-медицинских экспертах, занесенных в реестр программы и использовать биохимический маркер при комплексной оценке результатов исследования трупа в решении вопроса о продолжительности предсмертного периода.

Известно, что употребление этанола ведет к существенным изменениям обменных процессов организма [28, 39, 123] и является одним из факторов риска наступления смерти [2, 108].

С целью изучения влияния этанола на уровень содержания веществ низкой и средней молекулярной массы трупной крови и мочи выполнено 778 экспериментов, в которых исследовались объекты от 454 трупов. Установлено, что наличие в организме этанола вызывает статистически значимое снижение уровня содержания ВНСММ в моче (как Σ ВНСММ, так и ВНСММ в зоне катаболического и анаболического пулов).

Для изучения изменений уровня содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и моче в зависимости от температуры и продолжительности хранения биологических объектов выполнено 270 опытов, в ходе которых установлено, что хранение крови и мочи при температуре +20°C не приводит к изменению уровня содержания ВНСММ в течение двух суток, в дальнейшем концентрация снижается, в свою очередь, помещение крови в холодильник при температуре +4°C и мочи при температуре +4°C, -18°C,

позволяет сохранять ее пригодной для определения уровня ВНСММ в течение 14 суток (время нашего наблюдения). Содержание крови в замороженном состоянии при температуре -18°C недопустимо, так как происходит гемолиз эритроцитов, что искажает результаты исследования.

На рисунке 24 представлена посуточная динамика изменений уровня содержания ВНСММ в крови при температурах хранения $+20^{\circ}\text{C}$ и $+4^{\circ}\text{C}$.

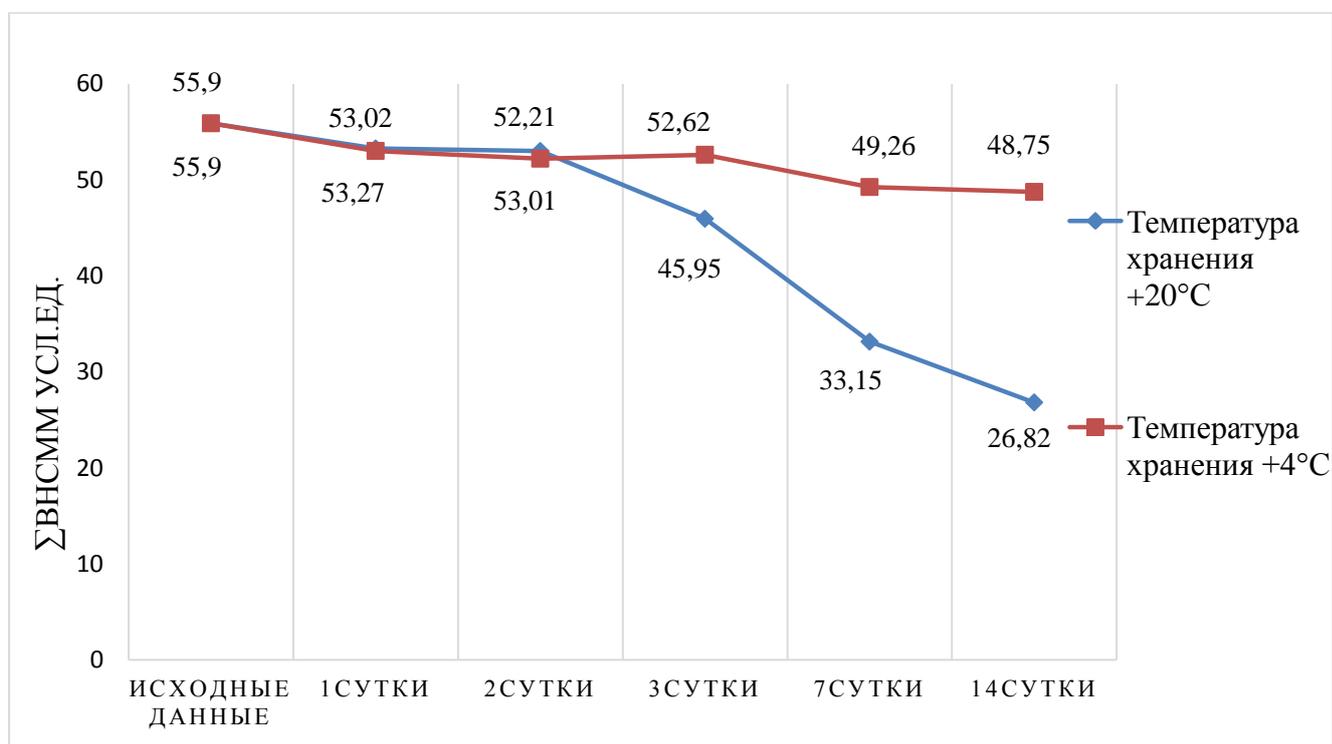


Рисунок 24 - Посуточная динамика изменений уровня содержания ВНСММ в крови при температурах хранения $+20^{\circ}\text{C}$ и $+4^{\circ}\text{C}$

Были проведены сравнительные исследования (208 опытов), двух методов выявления миоглобина в трупной крови, с помощью эритроцитарного диагностикума – (полуколичественного) и иммунотурбидиметрического теста – (количественного), доказавшие преимущества иммунотурбидиметрического теста, как более чувствительного, позволяющего устанавливать изменение в уровне миоглобина в зависимости от причины смерти и продолжительности

преморального периода, где не удастся это сделать при помощи эритроцитарного диагностикума.

Для изучения изменений уровня содержания миоглобина в крови в зависимости от температуры и продолжительности хранения биологических объектов, исследовалась кровь при температурах $+20^{\circ}\text{C}$, $+4^{\circ}\text{C}$, -18°C , которые изучались в первый час после забора, а затем каждые 24, 48, 72 часа. Получено 130 числовых показателей.

Установлено, что при хранении крови, на всех температурных режимах, уровень миоглобина падает уже в первые сутки. При этом, чем выше температура хранения биоматериала, тем интенсивнее снижение концентрации миоглобина (рисунок 25).

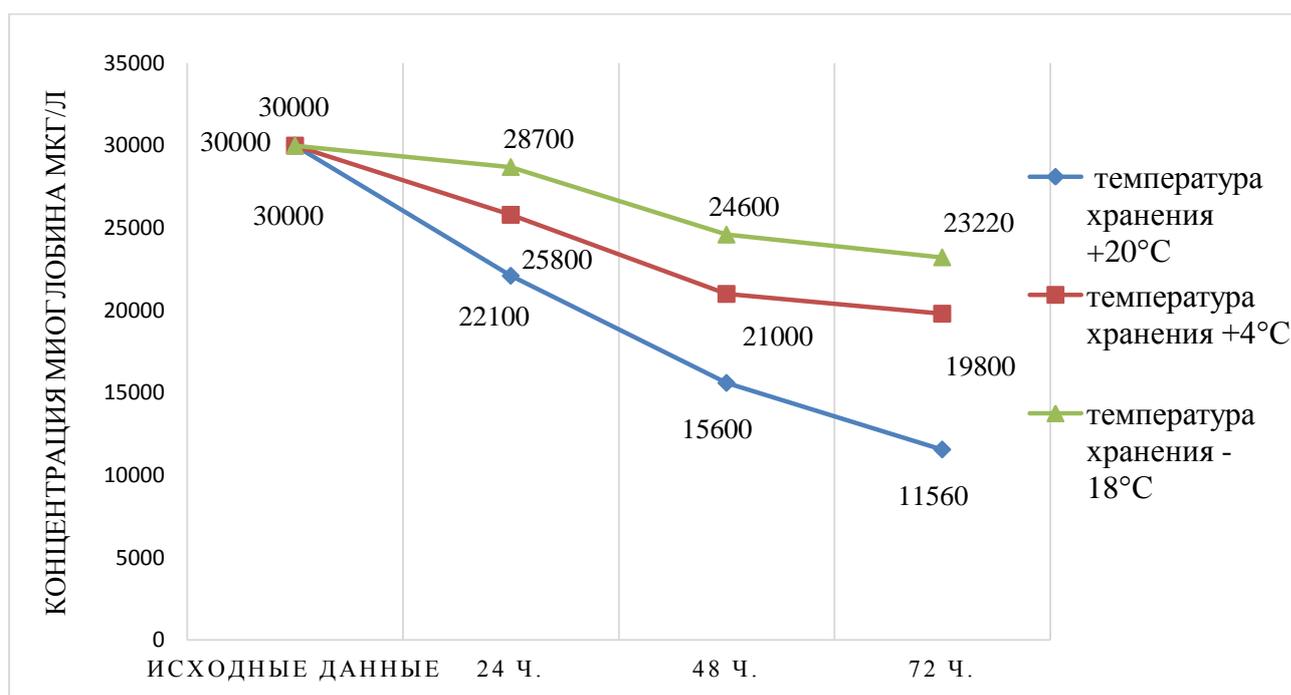


Рисунок 25 - Посуточная динамика изменений уровня миоглобина в крови при температуре хранения $+20^{\circ}\text{C}$ и $+4^{\circ}\text{C}$ и -18°C

Полученные данные были использованы при разработке программы для ЭВМ «Эксперт миоглобин» (Свидетельство РФ о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2017611128 от 09.01.17) (приложение 4), интерфейс

которой позволяет судебно-медицинскому эксперту вводить информацию в стандартную форму в виде трех блоков, один из которых – персональная информация об умершем, второй блок – комплекс данных о времени забора и условиях хранения биоматериала и третий – результаты биохимического анализа, полученные с помощью метода эритроцитарного диагностикума и иммунотурбидиметрического теста.

Применение разработанного программного продукта дает возможность проводить стандартизованный учет факторов, влияющих на уровень содержания миоглобина в крови, а также позволяет создавать базу данных – реестр биохимических исследований, удобный для последующей сравнительной оценки и статистической обработки.

Таким образом, выполненные исследования позволили сформулировать представленные выводы и практические рекомендации, направленные на решение задачи: «Освоение и внедрение новых качественных и количественных биохимических методов анализа, адаптированных к задачам судебно-медицинской практики, с целью расширения диагностических возможностей проводимых экспертных исследований» [64].

ВЫВОДЫ

1. Продолжительный премортальный период ведет к увеличению содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови относительно мочи.

2. Преобладание веществ низкой и средней молекулярной массы в моче относительно крови трупа свидетельствует о мгновенной смерти, наступившей практически без премортального периода.

3. Наличие этанола снижает уровень веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной моче. При наличии этанола изменений уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в крови не выявлено.

4. Хранение крови и мочи при температуре $+20^{\circ}\text{C}$ не приводит к статистически значимым различиям уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в течение 2 суток, крови - при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и мочи - при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и -18°C до 14 суток включительно (время наблюдения). При всех температурных режимах отмечается снижение уровня миоглобина уже в первые сутки. При этом, с увеличением температуры хранения, скорость падения показателей увеличивается.

5. Разработанные компьютерные программы «Продолжительность предсмертного периода» и «Эксперт миоглобин» оптимизируют работу судебно-медицинского эксперта и повышают точность установления продолжительности премортального периода, автоматизируя оценку результатов исследования веществ низкой и средней молекулярной массы, и миоглобина в крови, с учетом влияния температуры и продолжительности хранения биологических объектов, позволяя создавать базу данных для последующей сравнительной оценки и статистической обработки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется использовать соотношение веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной крови и моче для определения продолжительности премортального периода.

2. Оценка результатов биохимического исследования веществ низкой и средней молекулярной массы должна проводиться с учетом влияния этанола, так как его наличие приводит к снижению уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в трупной моче.

3. При использовании веществ низкой и средней молекулярной массы и миоглобина в качестве маркеров установления длительности премортального периода необходимо учитывать продолжительность и температуру хранения изъятой трупной крови и мочи: количественные показатели веществ низкой и средней молекулярной массы в крови сохраняются на исходном уровне при $+20^{\circ}\text{C}$ в течение первых двух суток, при $+4^{\circ}\text{C}$ не менее 14 суток (время наблюдения), замораживание не допустимо, так как происходит гемолиз крови, что искажает результаты исследования; в моче показатели содержания веществ низкой и средней молекулярной массы не изменяются при температуре хранения $+20^{\circ}\text{C}$ в течение первых двух суток, при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и -18°C вещества низкой и средней молекулярной массы могут храниться не менее 14 суток; изменение показателей миоглобина при температуре хранения $+20^{\circ}\text{C}$, $+4^{\circ}\text{C}$ и -18°C начинается уже в первые сутки, при этом минимальными оказываются изменения при температуре -18°C , учитывая это, исследование миоглобина следует проводить в кратчайшие сроки после изъятия крови, а в случае задержки - кровь следует замораживать.

4. Разработанные программы «Эксперт миоглобин» и «Продолжительность предсмертного периода», позволяющие выполнять автоматизированный учет полученных данных, рекомендуется использовать в практической работе для повышения эффективности судебно-медицинской диагностики продолжительности премортального периода.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АДФ – аденозинтрифосфат

АМФ – аденозинмонофосфат

АФК – активные формы кислорода

ВНСММ – вещества низкой и средней молекулярной массы

Σ ВНСММ – суммарное содержание веществ низкой и средней молекулярной массы

Мк – суммарный уровень веществ низкой и средней молекулярной массы в крови

Мм – суммарный уровень веществ низкой и средней молекулярной массы в моче

Да – дальтон (единица измерения атомной/молекулярной массы)

Ме – медиана

МСМ – молекулы средней массы

ОМБ – окислительная модификация белков

Оп – олигопептиды

pO_2 – парциальное давление кислорода

ЦНС – центральная нервная система

HIF-1 – гипоксия-индуцибельный фактор

М – среднее

m – стандартная ошибка

σ – стандартное отклонение

N - практически нормальное распределение выборки

$\neq N$ - отличное от нормального распределение выборки

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев, М. И. Внезапная и скоропостижная смерть / М. И. Авдеев // Материалы III Всесоюзного совещания судебно-медицинских экспертов и III Всесоюзной конференции научного общества судебных медиков и криминалистов. – Рига, 1957. – С. 32–34.
2. Алкоголь-ассоциированная смертность в России (по материалам 2011-2016 гг.) / А. В. Ковалев, Ю. Е. Морозов, О. В. Самоходская, А. В. Березников // Судебно-медицинская экспертиза. – 2017. – № 6. – С. 4–8.
3. Анализ проведения биохимических исследований в Новосибирском областном клиническом бюро судебно-медицинской экспертизы для диагностики отдельных видов смерти / О. В. Швырева, В. П. Новоселов, С. В. Савченко, А. С. Полякевич // Вестник судебной медицины. – 2016. – Т. 5, № 1. – С. 31–35.
4. Асташкина, О. Г. Значение биохимических исследований в практике судебно-медицинской экспертизы / О. Г. Асташкина, Н. В. Власова // Судебно-медицинская экспертиза. – 2008. – № 4. – С. 19–22.
5. Асташкина, О. Г. Значение изменения параметров углеводного обмена трупа при скоропостижной смерти от различных причин / О. Г. Асташкина // Актуальные проблемы судебной медицины и медицинского права: материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием (Суздаль, 23-24 апреля 2014 г.). – М.: ЮрИнфоЗдрав, 2014. – С. 28–31.
6. Асташкина, О. Г. Контроль качества лабораторных исследований в учреждениях судебно-медицинской экспертизы / О. Г. Асташкина // Вестник Росздравнадзора. – 2012. – № 3. – С. 71–73.
7. Асташкина, О. Г. Определение концентрации миоглобина в биологических жидкостях и тканях методом пассивной гемагглютинации в постмортальном периоде / О. Г. Асташкина, И. П. Папышев, Е. П. Столярова // Медицинская экспертиза и право. – 2011. – № 1. – С. 47–50.
8. Асташкина, О. Г. Перспективы применения метода хемилюминесценции для решения некоторых актуальных задач судебной

медицины / О. Г. Асташкина, Г. А. Пашипян // Судебно-медицинская экспертиза. – 2010. – № 4. – С. 21–24.

9. Асташкина, О. Г. Судебно-биохимическая диагностика скоропостижной смерти / О. Г. Асташкина, Е. С. Тучик. – М.: Спутник+, 2012. – 148 с.

10. Биохимические исследования в диагностике отдельных видов скоропостижной и насильственной смерти / Е. П. Авраменко, О. М. Зороастров, М. Г. Лоттер, М. О. Зороастров // Вестник судебной медицины. – 2012. – № 4. – С. 18–21.

11. Большая медицинская энциклопедия. В 30 т. Т. 24 / гл. ред. Б. В. Петровский. – 3-е изд. – М.: Советская энциклопедия, 1985. – 544 с.

12. Бондарь, С.А. Значение эндотоксикации в патогенезе экземы и ее коррекция комплексной терапией с включением сорбента / С.А. Бондарь, И.Н. Лященко, Н.В. Луцюк // Вестник дерматологии и венерологии. – 1992. – № 8. – С. 49–52.

13. Витер, В.И. Результаты исследования посмертных изменений уровня среднемолекулярных соединений в спинномозговой жидкости лиц, умерших от болезней системы кровообращения / В.И. Витер, А.В. Ермаков // Проблемы экспертизы в медицине. – 2005. – Т. 5, № 2. – С. 27–28.

14. Власов, А.Ю. Осмотр трупа на месте его обнаружения (статья вторая) / А.Ю. Власов // Известия высших учебных заведений. Уральский регион. – 2018. – № 1. – С.156–171.

15. Власова, Н. В. Комплексная дифференциальная диагностика ишемической болезни сердца и алкогольной кардиомиопатии : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.24 / Власова Наталья Владимировна. – М., 2008. – 28 с.

16. Влияние преаналитического этапа на стабильность анализов биохимического профиля / Д. П. Пискунов, А. С. Пушкин, С. А. Рукавишникова, Т. А. Ахмедов // Лабораторная служба. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 24–30.

17. Влияние предельной силовой нагрузки на максимальную изометрическую силу, электромиографические характеристики, мышечные боли и биохимические маркеры повреждения скелетных мышц / А. Д. Минигалин, А. Р. Шумаков, А. В. Новодилов [и др.] // Физиология человека. – 2015. – Т. 41, № 1. – С. 89–98.

18. Волчкова, Е. В. Печеночная энцефалопатия: особенности клинического течения и патогенетической коррекции / Е. В. Волчкова, Л.Н. Кокорева // Consilium medicum. – 2005. – Т. 7, № 6. – С. 451–456. (92)

19. Гаврилов, В. Б. Определение тирозин и триптофансодержащих пептидов в плазме крови по поглощению в УФ-области спектра / В.Б. Гаврилов, Н. Ф. Лобко, С. В. Конев // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 12–16.

20. Гусейнов, Г. К. Судебно-медицинская оценка танатогенеза при черепно-мозговой травме: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.24 / Гусейнов Гусейн Кадирович. – М., 2009. – 27 с.

21. Дежинова, Т. А. Судебно-биохимические исследования: учебно-методическое пособие / Т. А. Дежинова, В. Л. Попов, Г. И. Заславский. – СПб.: Судебно-медицинская ассоциация Северо-Запада России, 2003. – 96 с.

22. Дзик, Н.В. Сердечные маркеры в перикардиальной жидкости при скоропостижной смерти от ИБС / Н.В. Дзик, В.С. Берестовская // Альманах судебной медицины. – 2003. – № 6. – С. 50–51.

23. Добротина, Н.А. Эндоинтоксикация организма человека: методологические и методические аспекты: учебное пособие / Н.А. Добротина, Т.В. Копытова. – Н. Новгород: [б. и.], 2004. – 73 с.

24. Ермаков, А. В. Диагностические возможности использования методики определения уровня среднемолекулярных соединений в практической медицине / А. В. Ермаков // Проблемы экспертизы в медицине. – 2005. – Т. 5, № 1. – С. 27–29.

25. Ермаков, А. В. Результаты исследования посмертных изменений уровня среднемолекулярных соединений в различных биологических жидкостях организма при некоторых патологических состояниях / А. В. Ермаков // Проблемы экспертизы в медицине. – 2004. – Т. 4, № 4. – С. 23–24.

26. Збруева, Ю. В. Судебно-медицинское значение вариантов танатогенеза при механической травме в различные сроки посттравматического периода: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.05 / Збруева Юлия Владимировна. – Астрахань, 2015. – 23 с.

27. Збруева, Ю. В. Особенности переживания тяжелой политравмы в первые сутки госпитализации / Ю. В. Збруева, П. Г. Джувалыков, Д. В. Богомоллов // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 88–90.

28. Зороастров, О. М. Особенности танатогенеза при смерти от острой интоксикации этанолом / О. М. Зороастров // Вестник судебной медицины. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 42–44.

29. Изменение температуры трупа в процессе его разложения (экспериментальное исследование) / О. С. Лаврукова, В. Л. Попов, С. Н. Лябзина [и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. – 2017. – Т. 60, № 3. – С. 19–22.

30. Изменения биохимических показателей мышечной деструкции при огнестрельном ранении нижних конечностей / А. П. Трухан, С. А. Жидков, В. Е. Корик [и др.] // Военная медицина. – 2015. – № 2. – С. 49–51.

31. Изоферменты лактатдегидрогеназы в диагностике различных видов скоропостижной смерти / В. В. Зарубина, О. Н. Лопаткин, К. И. Кильдюшев [и др.] // Перспективы развития и совершенствования судебно-медицинской службы Российской Федерации (Астрахань, 1-3 июля 2000 г.): материалы V Всероссийского съезда судебных медиков / под ред. В. Н. Крюкова. – Астрахань: Всероссийское общество судебных медиков, 2000. – С. 369–371.

32. Иммуногистохимические методы: руководство / под ред. G. Kumar, L. Rudbeck.; пер. с англ. Г. А. Франка и П. Г. Малькова. – М., 2011. – 224 с.

33. Калмин, О. В. Избранные вопросы судебной медицины : учебное пособие / О. В. Калмин, О. И. Федулов. – Пенза: Изд-во Пензенского гос. университета, 2000. – 112 с.
34. Капустин, А. В. К диагностике смерти от рефлекторной остановки сердца / А. В. Капустин, Н. Н. Павлов // Судебно-медицинская экспертиза. – 1987. – № 3. – С. 10–12.
35. Карякина, Е. В. Особенности патогенетических механизмов эндогенной интоксикации у больных ревматоидным артритом / Е. В. Карякина, С. В. Белова // Научно-практическая ревматология. – 2001. – № 1. – С. 21–29.
36. Кильдюшов, Е. М. Использование математического моделирования при определении давности наступления смерти новорожденных по значениям ректальной температуры: методические рекомендации / Е. М. Кильдюшов. – М.: РМАПО: ГОУ ВПО РГМУ, 2004. – 17 с.
37. Кинле, А. Ф. Правила забора, хранения, доставки биоматериала для биохимического исследования и трактовки биохимических показателей в судебно-медицинской практике: методические рекомендации / А. Ф. Кинле. – М.: [б. и.], 2002. – 35 с.
38. Кишкун, А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А. А. Кишкун. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 800 с.
39. Клиническая патоморфология и танатогенез различных форм алкогольной интоксикации / А. Л. Павлов, А. А. Савин, Д. В. Богомолов [и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. – 2018. – № 3. – С.11–14.
40. Колчина, Н. А. Определение момента смерти в случаях предполагаемого изъятия органов и тканей для их трансплантации / Н. А. Колчина // Журнал российского права. – 2008. – № 11. – С. 78–83.
41. Копытова, Т.В. Механизмы эндогенной интоксикации и детоксикации организма в норме и при морфо-функциональных изменениях в коже: дис. ... канд. мед. наук: 03.00.04 / Копытова Татьяна Викторовна. – Н. Новгород, 2007. – 337с.

42. Крысин, Л. П. Толковый словарь иностранных слов / Л. П. Крысин. – М.: Эксмо, 2006. – 944 с. – (Библиотека словарей).
43. Кулева, Н. В. Новая роль миоглобина в функционировании сердечной и скелетной мышц [Электронный ресурс] / Н. В. Кулева, И. Е. Красовская // Биофизика. – 2016. – Т. 61, № 5. – С. 861–864. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=27327334>. – Дата обращения: 26.08.2019.
44. Кулева, Н. В. Роль гемосодержащих глобинов в NO-сигнализации в клетках позвоночных при гипоксии / Н. В. Кулева, И. Е. Красковская // Цитология. – 2015. – Т. 57, № 8. – С. 563–571.
45. Лабораторная диагностика синдрома эндогенной интоксикации: методические рекомендации / сост.: В.М. Аксенова, В.Ф. Кузнецов, Ю.Н. Маслов [и др.]. – Пермь.: ПГМА, 2005. – 39 с.
46. Лабораторная диагностика эндотоксикации при хронических дерматозах / Т. В. Копытова, Н. А. Добротина, Л. Н. Химкина, Т. Н. Ларина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 1. – С.14-17.
47. Лапшина, Г. П. Миоглобиновый тест в диагностике инфаркта миокарда: информационные материалы / Г. П. Лапшина, Т. В. Блинова, Г. М. Ротт. – 2-е изд., доп. – Н. Новгород: [б. и.], 2007. – 23 с.
48. Лихтерман, Л. Б. Черепно-мозговая травма / Л. Б. Лихтерман. – М.: Медицинская газета, 2003. – 358 с.
49. Ляликов, Ю. С. Физико-химические методы анализа: учебное пособие / Ю. С. Ляликов. – 5-е изд., перераб, и доп. – М.: Химия, 1974. – 536 с.
50. Малахова, М. Я. Методы биохимической регистрации эндогенной интоксикации / М. Я. Малахова // Эфферентная терапия. – 1995. – № 1. – С. 61–64.
51. Малахова, М. Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме / М. Я. Малахова // Эфферентная терапия. – 2000. – Т. 6, № 4. – С. 3–14.
52. Мантаков, М. С. Судебно-медицинская оценка состояний пострадавших при дорожно-транспортных происшествиях и падениях с большой

высоты: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.05 / Майрбек Сулейманович Мантаков; науч. руководитель Е. С. Тучик. – М., 2015. – 121 с.

53. Машарипов, А. С. Судебно-медицинская оценка танатогенеза при тяжелой черепно-мозговой травме / А. С. Машарипов // Сибирский медицинский журнал. – 2018. – № 2. – С. 43–46.

54. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике. В 2 т. Т. 2. / под ред. А.И. Карпищенко. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 792 с.

55. Меньшикова, С. В. Малоизвестные свойства полисорба / С. В. Меньшикова, Г. Г. Кетова, М. А. Попилов // Главный врач Юга России. – 2018. – Т. 59, № 1. – С. 32–34.

56. Морфологические маркеры функциональной активности печени при алкогольной интоксикации / Ю. Е. Морозов, В. А. Породенко, Е. Н. Травенко, Д. В. Горностаев // Судебно-медицинская экспертиза. – 2019. – Т. 62, № 3. – С. 37–41.

57. Накоскина, Н. В. Изменение биохимических показателей эндогенной интоксикации при лечении хронического посттравматического остеомиелита [Электронный ресурс] / Н. В. Накоскина, Е. С. Спиркина, А. С. Судницын // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 3, ч. 2. – С. 210–212. – Режим доступа: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=6515>. – Дата обращения: 26.08.2019.

58. Налетова, Д. М. К анализу корреляций клинической картины с патоморфологическими и постмортальными биохимическими изменениями в организме пострадавших с политравмой / Д. М. Налетова, К. Д. Белянский // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 50–57.

59. Неговский, В. А. Патофизиология и терапия агонии и клинической смерти / В. А. Неговский. – М.: Медгиз, 1954. – 256 с.

60. О государственной судебно-экспертной деятельности в Российской Федерации [Электронный ресурс]: федеральный закон от 31 мая 2001 г. № 73-ФЗ

(ред. от 26.07.2019). – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_31871/. – Дата обращения: 06.12.2019.

61. Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации [Электронный ресурс] : федеральный закон от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ (ред. От 14.12.2015). – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_121895/. – Дата обращения: 26.08.2019.

62. Об утверждении Инструкции по определению критериев и порядка определения момента смерти человека, прекращения реанимационных мероприятий [Электронный ресурс] : приказ Минздрава РФ от 4 марта 2003 г. № 73. – Режим доступа: <https://base.garant.ru/4179063/>. – Дата обращения: 26.08.2019.

63. Об утверждении Номенклатуры клинических лабораторных исследований [Электронный ресурс] : приказ Минздрава РФ от 21 февраля 2000 г. № 64. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/901757900>. – Дата обращения: 06.12.2019.

64. Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации [Электронный ресурс]: приказ Минздравсоцразвития РФ от 12 мая 2010 г. № 346н. – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_103821/. – Дата обращения: 06.12.2019.

65. Обобщение исследований по проблеме установления темпа смерти по морфологическим данным / П. Г. Джувалыков, Д. В. Богомолов, В. А. Путинцев, Ю. В. Збруева // Актуальные вопросы современной медицины: сборник материалов II Международной конференции Прикаспийских государств (Астрахань, 5-6 октября 2017 г.) / редколл.: О. А. Башкина, О. В. Рубальский; изд. организация Астраханский ГМУ. – Астрахань, 2017. – С. 44–46.

66. Обоснование нового подхода в коррекции хирургического эндотоксикоза различного происхождения [Электронный ресурс] / В. А. Болотских, А. П. Власов, В. В. Васильев [и др.] // Современные проблемы науки и образования: электронный журнал. – 2019. – № 1. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=37031924>. – Дата обращения: 26.08.2019.

67. Определение длительности и темпа умирания (наступления смерти) по морфологическим признакам: методические рекомендации / В. А. Путинцев, Д. В. Богомолов, И. Н. Богомолова, О. П. Денисова. – М.: ФГБУ РЦСМЭ, 2017. – 32 с.

68. Определение длительности умирания при различных видах смерти / Д. В. Богомолов, В. А. Фетисов, И. Н. Богомолова [и др.] // Медицинские технологии, используемые при производстве судебно-медицинских экспертиз: сборник медицинских технологий / сост. В. А. Клевно. – М.: Издательство «Компания Планета Земля», 2012. – С. 147–148.

69. Определение тяжести эндогенной интоксикации по уровню среднемолекулярных пептидов / Е. В. Васильева, Ю. Е. Морозов, В. В. Зарубин [и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. – 2004. – Т. 47, № 4. – С. 18–20.

70. Павлов, А. Л. Изменения структур внутренних органов и головного мозга при терминальных состояниях, обусловленных интоксикацией алкоголем и его суррогатами, судебно-медицинское и клиническое значение: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.05 / Павлов Андрей Леонидович. – М., 2015. – 133 с.

71. Павлюшина, В. А. Современные судебно-биохимические технологии исследования биообъектов / В. А. Павлюшина, Н. А. Романько // Судебная медицина. – 2016. – Т. 2, № 2. – С. 91–92.

72. Пашинян, Г. А. Использование метода хемилюминесценции для определения прижизненности и давности механической травмы скелетных мышц / Г. А. Пашинян, В. В. Прутовых // Судебно-медицинская экспертиза. – 1978. – № 2. – С. 15–17.

73. Первушин, Ю. В. Биохимия лактата и целесообразность его определения / Ю. В. Первушин, С. Ш. Рогова, А. Н. Зинина // Медицинский алфавит. – 2011. – Т. 3, № 14. – С. 22–28.

74. Пиголкин, Ю. И. Анализ диссертационных работ по специальности 14.03.05. «Судебная медицина» (2015-2018) / Ю. И. Пиголкин, Е. Е. Ачкасов, И. В. Глоба // Судебно-медицинская экспертиза. – 2019. –Т. 62, № 3. – С. 54–59. (131)

75. Поздеев, А.Р. Судебно-медицинская оценка дефектов лечения в премортальный период: монография / А.Р. Поздеев. – Н. Новгород-Ижевск: Экспертиза, 2004. – 143 с.

76. Постмортальная диагностика гипогликемической комы по биохимическому анализу стекловидного тела глаза [Электронный ресурс] / П. А. Акимов, Н. А. Терехина, В. И. Витер, Е. Х. Баринов // Современные проблемы науки и образования: электронный научный журнал. – 2019. – № 2. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28609>. – Дата обращения: 26.08.2019.

77. Правила взятия и доставки биологического материала для лабораторных исследований в НПФ «Литех»: методическое пособие для врачей-клиницистов / Л. В. Кудрявцева, Т. Н. Конарева, Е. В. Горбатенко [и др.]. – М.: Изд-во НИИ физико-химической медицины Минздрава России, 2005. – 27 с.

78. Применение методов светорассеяния в биомедицине и экологии / М. Н. Кириченко, Л. Л. Чайков, М. А. Казарян [и др.] // Альтернативная энергетика и экология (ISJAEE). – 2019. – №1/3. – С. 80–103.

79. Программная система расчета времени наступления смерти новорожденных: свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2004610883 от 12.04.2004 г. / Е. М. Кильдюшов, А. Н. Белоусов, М. С. Кильдюшов.

80. Путинцев, В. А. Возможности исследования стволовых отделов головного мозга для установления темпа умирания в судебно-медицинской

танатологии / В. А. Путинцев, Д. В. Богомоллов // Медицинская экспертиза и право. – 2014. – № 3. – С. 44–45.

81. Путинцев, В. А. Морфологические признаки различных темпов наступления смерти / В. А. Путинцев, Д. В. Богомоллов, Д. В. Сундуков // Общая реаниматология. – 2018. – Т. 14, № 4. – С. 35–43.

82. Путинцев, В. А. Этапы развития респираторного дистресс-синдрома как маркеры темпа умирания / В. А. Путинцев, Д. В. Богомоллов // Медицинская экспертиза и право. – 2016. – № 1. – С. 35–36.

83. Радченко, А. С. Оптимизация совместного воздействия острой гипоксии и неорганического нитрата на организм спортсмена / А. С. Радченко // Актуальные проблемы физической и специальной подготовки силовых структур. – 2015. – № 3. – С. 68–78.

84. Резник, А. Г. Микроскопическая и компьютерная диагностика изменений миокарда у трупов лиц, умерших скоропостижно. Вып. 7 / А. Г. Резник // Теория и практика судебной медицины: труды Петербургского общества судебных медиков. – СПб., 2003. – С. 94–96.

85. Рефлекторная остановка сердца как возможная причина смерти при тупой травме грудной клетки / С. Д. Кустанович, А. В. Тюрин, В. Я. Табак, М. С. Богусевич // Судебно-медицинская экспертиза. – 1982. – № 2. — С. 20–22.

86. Романенко, С. А. Показатели эндотоксемии в процессе травматической болезни различной степени тяжести при множественных переломах [Электронный ресурс] / С. А. Романенко, С. Н. Лунева, С. В. Панасенко // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 2. – С. 111–115. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22968209>. – Дата обращения: 26.08.2019.

87. Ронжин, В. В. Электронный лабораторный журнал (программа NG8) компании Waters как средство автоматизации деятельности лабораторий / В. В. Ронжин // Аналитика: научно-технический журнал. – 2013. – № 2. – С. 42–47. – Режим доступа: <http://www.j-analytics.ru/journal/article/3638>. – Дата обращения: 26.08.2019.

88. Рошке, В. В. Разработка новых методов иммуноанализа на примере миоглобина человека: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.03 / Виктор Владимирович Рошке. – Новосибирск, 1984. – 153 с.
89. Самищенко, С. С. Судебная медицина: учебник для вузов / С. С. Самищенко. – М.: Юрайт, 2011. – 465 с.
90. Свободнорадикальное окисление белков и липидов при бронхиальной астме [Электронный ресурс] / О. В. Лаврентьева, Л. П. Воронина, Д. Ш. Дубина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2008. – № 6. – Приложение «Медицинские науки». – С. 20. – Режим доступа: <http://online.rae.ru/328>. – Дата обращения: 26.08.2019.
91. Сергеев, В. А. Постинтоксикационный алкогольный синдром у лиц с пагубным употреблением алкоголя – диагностика и терапия / В. А. Сергеев, А. А. Власов, Б. В. Мельник // Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области. – 2017. – Т. 3, № 1. – С. 53–60.
92. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях: методические рекомендации / сост. Н. И. Габриэлян [и др.]. – М.: Медицина, 1985. – 18 с.
93. Содержание молекул средней массы в периферической крови больных при опухолях головного мозга различной гистоструктуры [Электронный ресурс] / Н. И. Лисяный, Л. Н. Бельская, Д. Н. Станецкая, А. И. Потапова // Український нейрохірургічний журнал. – 2017. – № 3. – С. 14–17. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30322949>. – Дата обращения: 26.08.2019.
94. Соловьев, О. Н. Применение технологии «сухой химии» в лабораторной диагностике / О. Н. Соловьев // Ремедиум Приволжье. – 2015. – № 8. – С. 37.
95. Солохин, Е. В. Количественное определение миоглобина в судебно-медицинской практике / Е. В. Солохин, А. М. Потемин // Судебно-медицинская экспертиза. – 2013. – № 1. – С. 27–30.

96. Способ экспресс-диагностики сроков возникновения массивной тупой травмы тела при судебно-медицинской экспертизе трупов: пат. 2292547 РФ / Эделев Н. С., Логвинова Е. Б.; заявитель и патентообладатель: ГОУ ВПО «НиЖГМА МЗ РФ» и ГУЗ «Нижегородское областное бюро судебно-медицинской экспертизы». – № 2005115900/15 ; заявл. 26.05.2005; опубл. 27.01.2007, Бюл. № 3.

97. Сравнительное исследование психофизиологических эффектов водки, пива и слабоалкогольного газированного напитка / В. П. Нужный, Ю. Д. Пометов, А. В. Ковалева [и др.] // Вопросы наркологии. – 2003. – № 2. – С. 22–35.

98. Судебная медицина: национальное руководство / под ред. Ю. И. Пиголкина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 576 с.

99. Судебная медицина: учебник / под ред. Ю. И. Пиголкина. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 496 с.

100. Судебная медицина: учебник для студентов медицинских институтов / М. И. Райский. – М.: Медгиз, 1953. – 466 с.

101. Судебно-медицинская диагностика причины смерти и установление танатогенеза морфологическими методами: методические рекомендации / Д. В. Богомоллов, И. Н. Богомолова, В. А. Путинцев [и др.]. – М.: ФГБУ РЦМСЭ, 2012. – 16 с.

102. Судебно-медицинская танатология // Судебная медицина: учебник / Ю. И. Пиголкин [и др.]. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – Гл. 6. – С. 89–114. – (Серия «XXI век»).

103. Судебно-медицинская характеристика внезапной смерти при онкологической патологии / Ю. И. Пиголкин, Е. М. Кильдюшов, М. А. Шилова [и др.] // Вестник судебной медицины. – 2016. – Т. 5, № 2. – С. 8–11.

104. Судебно-медицинская экспертиза трупа: учебно-методическое пособие / сост. И. В. Витер, А. Ю. Вавилов, И. А. Ледянкина. – Ижевск: [б. и.], 2008. – 104 с.

105. Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения

преаналитического этапа [Электронный ресурс]: ГОСТ Р 53079.4-2008. – Введ. 2010-01-01. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200072566>. – Дата обращения: 26.08.2019 г.

106. Тимофеев, И. В. Патология лечения: руководство для врачей / И. В. Тимофеев. – СПб.: Северо-Запад, 1999. – 656 с.

107. Тимофеев, И. В. Роль патологоанатомической службы в обеспечении и улучшении качества медицинской помощи (организационно-правовые аспекты) / И. В. Тимофеев // Архив патологии. – 2015. – Т. 77, № 2. – С. 61–66.

108. Травенко, Е. Н. Патоморфологические изменения в печени при отравлениях этанолом / Е. Н. Травенко, В. А. Породенко // Судебная медицина. – 2019. – Т. 5, № 2. – С. 21–26.

109. Туманов, Э. В. Судебно-медицинская танатология / Э. В. Туманов, Е. М. Кильдюшов, З. Ю. Соколова. – М.: НП ИЦ «ЮрИнфоЗдрав», 2011. – 172 с.

110. Тучик, Е. С. О контроле качества в судебно-биохимических отделениях / Е. С. Тучик, О. Г. Асташкина // Судебно-медицинская экспертиза. – 2013. – № 5. – С. 43–45.

111. Тучик, Е. С. Определение давности захоронения трупа человека по динамике кислоторастворимых фракций мышечной ткани / Е. С. Тучик, Н. П. Варшавец, А. Л. Гукасян. – Краснодар: Изд-во «Л. К. Григорьева», 2008. – 146 с.

112. Тучик, Е. С. Повешение лиц пожилого возраста / Е. С. Тучик, А. А. Чертовских, О. Г. Асташкина. – М.: Книга-Мемуар, 2016. – 120 с.

113. Тучик, Е. С. Содержание миоглобина в крови как критерий длительности агонального периода / Е. С. Тучик, О. Г. Асташкина, А. А. Чертовских // Московская медицина. – 2017. – Приложение S2. – С. 103.

114. Ускова, Ю. Г. Интоксикационный синдром и его патогенетическое значение при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / Ю. Г. Ускова, В. Ф. Павелкина, Р. З. Альмяшева // Научный альманах. – 2015. – № 1. – С.110–

114. – Режим доступа: <http://ucom.ru/doc/na.2015.01.110.pdf>. – Дата обращения: 26.08.2019.

115. Установление длительности умирания от кровопотери по морфологическим признакам / Ю. И. Пиголкин, В. А. Путинцев, Д. В. Богомолов, О. В. Должанский // Актуальные проблемы судебной медицины: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием, посвященной 200-летию со дня рождения Д. Е. Мина (Москва, 27-28 марта 2018 г.) / под общ. ред. Ю. И. Пиголкина. – М.: Издательство Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 2018. – С. 103–104.

116. Участие тиолдисульфидной системы в регуляции окислительной модификации белков в нейтрофилах при окислительном стрессе / Е. А. Степовая, Т. В. Жаворонок, Г. В. Петина [и др.] // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2010. – Т. 30, № 5. – С. 64–69.

117. Фаршатов, Р. С. Оценка тяжести больных острым отравлением этанолом по данным анкеты «ПАС» (постинтоксикационный алкогольный синдром) / Р. С. Фаршатов, А. И. Савлуков, Р. Н. Кильдебеква // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2009. – № 7. – С. 24–25.

118. Формулировка патологоанатомического диагноза при алкогольной болезни (алкоголь-индуцированной патологии): клинические рекомендации / Г. А. Франк [и др.]; Российское общество патологоанатомов. – М.: Практическая медицина, 2016. – 20 с.

119. Чертовских, А. А. Судебно-медицинская оценка странгуляционной асфиксии у трупов лиц пожилого возраста: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.05 / Чертовских Андрей Анатольевич. – М, 2015. – 166 с.

120. Шевантаева, О. Н. Репродуктивная система самцов белых крыс после перенесенной клинической смерти / О. Н. Шевантаева, Д. И. Рыжаков, И. В. Мухина // Нижегородский медицинский журнал. – 2006. – № 1. – С. 41–44.

121. Шевантаева, О. Н. Роль окислительного стресса в патогенезе нарушений сперматогенеза у крыс в постреанимационном периоде /

О. Н. Шевантаева, К. Н. Конторщикова, Ю. И. Косюга // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 3. – С. 27–30.

122. Эндогенная интоксикация при изменении функционального состояния почек у больных циррозом печени / М. С. Крутикова, Н. В. Наумова, С. Н. Крутиков [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2019. – Т. 22, № 1. – С. 59–64.

123. Бабкіна, О. П. Порівняльна характеристика біохімічних показників крові травмованих жінок за наявності та відсутності хронічної алкогольної інтоксикації / О. П. Бабкіна, Л. А. Шевченко // Таврический медико-биологический вестник. – 2015. – Т. 18, № 2. – С. 6–9.

124. Білецька, Г. А. Причини виникнення лікарських помилок в медичній практиці на сучасному етапі / Г. А. Білецька // Теорія і практика правознавства. – 2015. – Т. 7, вып. 1. – С. 1-11.

125. Біохімічні маркери для оцінювання стану м'язів за умов дегенеративних захворювань хребта (огляд літератури) / А. Г. Скіданов, Ф. С. Леонтьєва, Д. В. Морозенко [и др.] // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2016. – № 4. – С. 119–123.

126. A systematically structured review of biomarkers of dying in cancer patients in the last months of life; an exploration of the biology of dying [Electronic resource] / V. L. Reid, R. McDonald, A. C. Nwosu [et al.] // Plos one. – 2017. – Vol. 12, issue 4. – Mode of access: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0175123>. – Date of access: 26.08.2019.

127. Alam, K. Immunogenicity of mitochondrial DNA modified by hydroxyl radical / K. Alam, Moinuddin, S. Jabeen // Cellular immunology. – 2007. – Vol. 247, № 1. – P. 12–17.

128. Ali, M. M. Using skin gene markers for estimating early postmortem interval at different temperatures / M. M. Ali, S. F. Ibrahim, A. A. Fayed // The

American journal of forensic medicine and pathology. – 2017. – Vol. 38, № 4. – P. 323–325.

129. Application of IMA and H-FABP in forensic diagnosis of sudden cardiac death / Z. L. Zhu [et al.] // *Fa yi xue za zhi*. – 2017. – Vol. 33, № 4. – P. 393–396.

130. Are animal models predictive for human postmortem muscle protein degradation / B. Ehrenfellner, A. Zissler, P. Steinbacher [et al.] // *International journal of legal medicine*. – 2017. – Vol. 131, № 6. – P. 1615–1621.

131. Are coroners' necropsies necessary? A prospective study examining whether a «view and grant» system of death certification could be introduced into England and Wales / G. Rutt, R. Duerden, N. Carter, J. Clark [et al.] // *Journal of clinical pathology*. – 2001. – Vol. 54, № 4. – P. 279–284.

132. Barcelo, B. Building bridges between clinical and forensic toxicology laboratories / B. Barcelo, I. Gomila, V. Noce // *Current pharmaceutical biotechnology*. – 2018. – Vol. 19, № 2. – P. 99–112.

133. Beal, M. F. Oxidatively modified proteins in aging and disease / M. F. Beal // *Free radical biology and medicine*. – 2002. – Vol. 32, № 9. – P. 797–803.

134. Belizario, J Necroptotic cell death signaling and execution pathway: lessons from knockout mice [Electronic resource] / J. Belizario, L. Vieira-Cordeiro, S. Enns // *Mediators of inflammation*. – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–15. – Mode of access: <http://downloads.hindawi.com/journals/mi/2015/128076.pdf>. – Date of access: 27.08.2019.

135. Biochemical basis and metabolic interplay of redox regulation [Electronic resource] / L. Zhang, X. Wang, R. Cueto [et al.] // *Redox biology*. – 2019. – Vol. 26. – Mode of access: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231719307888#!>. – Date of access: 26.08.2019 г.

136. Bourdon, E. The importance of proteins in defense against oxidation / E. Bourdon, D. Blache // *Antioxidants and redox signaling*. – 2001. – Vol. 3, № 2. – P. 293–311.

137. Burmester, T. Function and evolution of vertebrate globins / T. Burmester, T. Hankeln [Electronic resource] // *Acta physiologica*. – 2014. – Vol. 211, № 3. – P. 501–514. – Mode of access: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/apha.12312>. – Date of access: 26.08.2019.
138. Characterization of postmortem biochemical changes in rabbit plasma using ATR-FTIR combined with chemometrics: a preliminary study / Z. Ji, L. Bing, W. Qi [et al.] // *Spectrochimica acta part A: molecular and biomolecular spectroscopy*. – 2017. – Vol. 173. – P. 733–739.
139. Denaturation properties and folding transition states of leghemoglobin and other heme proteins / P. Basak, N. Kundu, R. Pattanayak, M. Bhattacharyya // *Biochemistry (Moscow)*. – 2015. – Vol. 80, issue 4. – P. 463–472.
140. Detection and quantification of nitric oxide-derived oxidants in biological systems [Electronic resource] / M. N. Moller, N. Rios, M. Trujillo [et al.] // *The journal of biological chemistry*. – 2019. – Mode of access: <http://www.jbc.org/content/early/2019/08/12/jbc.REV119.006136.long>. – Date of access: 26.08.2019.
141. Early diagnosis of acute myocardial infarction by a newly developed rapid immunoturbidimetric assay for myoglobin / J. Mair, E. Artner-Dworzak, P. Lechleitner [et al.] // *British heart journal*. – 1992. – Vol. 68, № 5. – P. 462–468. (27)
142. Early markers of myocardial ischemia: from the experimental model to forensic pathology cases of sudden cardiac death / S. Sabatasso, M. Moretti, P. Mangin, T. Fracasso // *International journal of legal medicine*. – 2018. – Vol. 132, № 1. – P. 197–203.
143. Effects of season and postmortem changes on blood analytes in Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*) / A. Tvarijonaviciute, I. Marco, R. Cuenca, S. Lavin, J. Pastor // *Journal of wildlife diseases*. – 2017. – Vol. 53, № 4. – P. 718–724.
144. Efficiency of different biochemical markers in order to assessment myocardial suffering / M. Perez-Carceles, E. Osuna, D. Vieira [et al.] // *Proceedings of*

the 13th meeting of the International association of forensic science (Dusseldorf, August 22–28, 1993). – 1995. – P. 68.

145. Estimation of early postmortem interval through biochemical and pathological changes in rat heart and kidney / M. M. Abo El-Noor, N. M. Elhosary, N. F. Khedr [et al.] // *The American journal of forensic medicine and pathology*. – 2016. – Vol. 37, issue 1. – P. 40–46.

146. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels / L. Andersen, J. Mackenhauer, J. Roberts [et al.] // *Mayo clinic proceedings*. – 2013. – Vol. 88, issue 10. – P. 1127–1140.

147. Extensive transcriptional complexity during hypoxia-regulated expression of the myoglobin gene in cancer / A. Bicker, D. Dietrich, E. Gleixner [et al.] // *Human molecular genetics*. – 2014. – Vol. 23, № 2. – P. 479–490.

148. Forensic pathological evaluation of postmortem pulmonary CT high-density areas in serial autopsy cases of sudden cardiac death / T. Michiue, T. Ishikawa, S. Oritani [et al.] // *Forensic science international*. – 2013. – Vol. 232, № 1/3. – P. 199–205.

149. Functional characterization of ABCC9 variants identified in sudden unexpected natural death / E. Subbotina, H. Yang, I. Gando [et al.] // *Forensic science international*. – 2019. – Vol. 298. – P. 80–87.

150. Gutjahr, E. Inflammatory reaction patterns of the lung as a response to alveolar hypoxia and their significance for the diagnosis of asphyxiation / E. Gutjahr, B. Madea // *Forensic science international*. – 2009. – Vol. 297. – P. 315–325.

151. Hendgen-Cotta, U. B. Myoglobin's novel role in nitrite-induced hypoxic vasodilation / U. B. Hendgen-Cotta, M. Kelm, T. Rassaf // *Trends in cardiovascular medicine*. – 2014. – Vol. 24, № 2. – P. 69–74.

152. Induction of vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1alpha by global ischemia in rat brain / K. L. Jin, X. O. Mao, T. Nagayama [et al.] // *Neuroscience*. – 2000. – Vol. 99, № 3. – P. 577–585.

153. Influence of modified atmosphere packaging on protein oxidation, calpain activation and desmin degradation of beef muscles / Q. Q. Fu, Q. F. Ge, R. Liu [et al.] // *Journal of the science of food and agriculture*. – 2017. – Vol. 97, № 13. – P. 4508–4514.
154. Intra-individual alterations of serum markers routinely used in forensic pathology depending on increasing post-mortem interval [Electronic resource] / L. Woydt, M. Bernhard, H. Kirsten [et al.] // *Scientific reports*. – 2018. – № 8. – P. 1–12. – Mode of access: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-31252-5.pdf>. – Date of access: 27.08.2019.
155. Investigation of biological changes at the end of life – a systematic review / S. Coyle, M. Debattista, S. Mason, J. Ellershaw // *Supportive and palliative care*. – 2014. – № 1. – Suppl. 1. – A. 1–110.
156. Madea, B. Postmortem biochemistry / B. Madea, F. Musshoff // *Forensic science international*. – 2007. – Vol. 165, № 2/3. – P. 165–171.
157. Myoglobin and the regulation of mitochondrial respiratory chain complex IV / T. Yamada, H. Takakura, T. Jue [et al.] // *The Journal of physiology*. – 2016. – Vol. 594, № 2. – P. 483–495.
158. Myoglobin expression in prostate cancer is correlated to androgen receptor expression and markers of tumor hypoxia / S. Meller, A. Bicker, M. Montani [et al.] // *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. – 2014. – Vol. 465, № 4. – P. 419–427.
159. Myoglobin expression in renal cell carcinoma is regulated by hypoxia / C.L. Behnes, J. Bedke, S. Schneider [et al.] // *Experimental and molecular pathology*. – 2013. – Vol. 95, № 3. – P. 307–312.
160. Myoglobinemia markers with potential applications in forensic sample analysis: lipid markers in myoglobinemia for postmortem blood / H. Abe, D. Yajima, Y. Hoshioka [et al.] // *International journal of legal medicine*. – 2017. – Vol. 131, issue 6. – P. 1739–1746.

161. Perry, E. K. The influence of agonal status on some neurochemical activities of postmortem human brain tissue / E. K. Perry, R. H. Perry, B. E. Tomlinson // *Neuroscience letters*. – 1982. – Vol. 29, issue 3. – P. 303–307.

162. Prognostic implications of blood lactate concentrations after cardiac arrest: a retrospective study / A. Dell'Anna, C. Sandroni, I. Lamanna [et al.] // *Annals of intensive care*. – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 101.

163. Relevance of hemolysis – induced tissue factor expression on monocytes in soft clot formation in alcohol-containing blood / M. Nakata, S. Kasuda, K. Yuui [et al.] // *Legal Medicine*. – 2017. – Vol. 25. – P. 83–88.

164. Role of reactive oxygen species in hyperadrenergic hypertension: biochemical, physiological and pharmacological evidence from targeted ablation of the chromogranin a (Chga) gene / J. Gayen, K. Zhang, S. Ramachandra [et al.] // *Circulation. Cardiovascular Genetics*. – 2010. – Vol. 3, № 5. – P. 414–425.

165. Selective expression of a neuromodulatory cytokine (IL-2) in specific brainstem neurovegetative centers: a possible final common neuro-molecular pathway in dying patients / H. Kadhim, P. Deltenre, V. Segers, G. Sébire // *Medical hypotheses*. – 2012. – Vol. 78, issue 6. – P. 793–795.

166. Squier, T.C. Oxidative stress and protein aggregation during biological aging / T.C. Squier // *Experimental gerontology*. – 2001. – Vol. 36, № 9. – P. 1539–1550.

167. Thanatobiochemistry: post mortem study of the vitreous humor for the diagnosis of diabetic ketoacidosis death / G. Rousseau, N. Bergerat, G. Drevin [et al.] // *Annales de biologie clinique*. – 2018. – Vol. 76, issue 3. – P. 245–250.

168. The effect of elapsed time on cardiac troponin-T (cTnT) degradation and its dependency on the cause of death / S. Kumar, W. Ali, S. Bhattacharya, A. Verma // *Journal of forensic and legal medicine*. – 2016. – Vol. 40. – P. 16–21.

169. The effects of storage and additives on postmortem HbA1c measurements / J. E. Fournier, V. Northup, D. D. Canales [et al.] // *Journal of forensic sciences*. – 2018. – Vol. 63, № 6. – P. 1870–1874.

170. The role of postmortem cardiac markers in the diagnosis of acute myocardial infarction / N. I. Batalis [et al.] // *Journal of forensic sciences*. – 2010. – Vol. 55, № 4. – P. 1088–1091.

171. The use of luminescence microscopy for diagnosis of sudden cardiac death due to ischemic heart disease in the forensic practice / A.V. Zilfyan, S.A. Avagyan, P.S. Khachatryan, M.S. Bisharyan // *New Armenian medical journal*. – 2015. – Vol. 9, № 1. – P. 83–89.

172. To err is human: building a safer health system / ed.: L.T. Kohn, J.M. Corrigan, M.S. Donaldson ; Committee on quality of health care in America, Institute of medicine. – Washington : National Academies Press, 2000. – 312 p.

173. Tran, L. Postmortem serum levels of total IgE / L. Tran, C. Palmiere // *International journal of legal medicine*. – 2016. – Vol. 130, № 6. – P. 1567–1573.

174. Turillazzi, E. Natural causes of sudden death / E. Turillazzi, S. Bello, V. Fineschi // *Handbook of forensic medicine* / edited by B. Madea. – 1 ed. – [s. l.] : Ltd «John Wiley & Sons», 2014. – P. 599–629.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение А – Патент РФ на полезную модель. Предметное стекло для микроскопического исследования гистологического объекта

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ

№ 127935

ПРЕДМЕТНОЕ СТЕКЛО ДЛЯ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ОБЪЕКТА

Патентообладатель(ли): *Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Нижегородская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации" (ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия) (RU), Государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Нижегородское областное бюро судебно-медицинской экспертизы" (ГУЗ НО БСМЭ) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2012129769

Приоритет полезной модели 13 июля 2012 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре полезных моделей Российской Федерации 10 мая 2013 г.

Срок действия патента истекает 13 июля 2022 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



Приложение Б – Патент РФ на изобретение. Способ посмертного определения факта мгновенно наступившей смерти

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2676700

Способ посмертного определения факта мгновенно наступившей смерти

Патентообладатель: *Эделев Иван Сергеевич (RU)*

Автор: *Эделев Иван Сергеевич (RU)*

Заявка № 2017142578

Приоритет изобретения 06 декабря 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 10 января 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 06 декабря 2037 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев

Приложение В – Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. Продолжительность предсмертного периода

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2018617510

Продолжительность предсмертного периода

Правообладатель: *Эделев Иван Сергеевич (RU)*

Автор: *Эделев Иван Сергеевич (RU)*

Заявка № **2018614962**

Дата поступления **08 мая 2018 г.**

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ **25 июня 2018 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Г.П. Ивлиев



Приложение Г – Свидетельство о государственной регистрации программы для
ЭВМ. Эксперт миоглобин

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2017611128

Эксперт-миоглобин

Правообладатель: *Эделев Иван Сергеевич (RU)*

Авторы: *Эделев Иван Сергеевич (RU), Эделева Анна Николаевна (RU), Эделев Николай Серафимович (RU)*

Заявка № **2016662293**

Дата поступления **14 ноября 2016 г.**

Дата государственной регистрации
в Реестре программ для ЭВМ **19 января 2017 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 **Г.П. Ивлиев**



