

doi: 10.17116/sudmed20176018-10

## Некоторые иммуногистохимические маркеры прижизненности странгуляционной механической асфиксии

Д.м.н. Д.В. БОГОМОЛОВ<sup>1</sup>, к.м.н., доц. В.А. ПУТИНЦЕВ<sup>1</sup>, к.м.н., доц. Ю.В. ЗБРУЕВА<sup>2</sup>,  
к.м.н. О.П. ДЕНИСОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» (дир. — д.м.н. А.В. Ковалев) Минздрава России, Москва, Россия, 125284; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» (ректор — д.м.н., проф. Х.М. Галимзянов) Минздрава России, Астрахань, Россия, 414000

**Приведены результаты исследования кожи, мягких тканей шеи из зоны странгуляции трупов и легких при несомненном самоповешении. Показана значительная экспрессия фибриногена в дерме и подкожной клетчатке в случае прижизненной странгуляции и отсутствие таковой в альвеолах легких.**

*Ключевые слова:* странгуляционная асфиксия, прижизненность повреждения, иммуногистохимический метод, фибриноген, дерма, гиподерма.

## Certain immunohistochemical markers of the intravitality of strangulation mechanical asphyxia

D.V. BOGOMOLOV<sup>1</sup>, V.A. PUTINTSEV<sup>1</sup>, YU.V. ZBRUEVA<sup>2</sup>, O.P. DENISOVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal state budgetary institution «Russian Centre of Forensic Medical Expertise», Russian Ministry of Health, Moscow, Russia, 125284; <sup>2</sup>State budgetary educational institution of higher professional education «Astrakhan State Medical University», Astrakhan, Russia, 414000

**Thus article was designed to report the results of the investigations into specific histological features of the skin and soft tissue samples taken from the strangulation areas on the neck and from the lungs of the persons who had committed suicide by hanging. The studies revealed the well apparent expression of fibrinogen in the derma and the subdermal cellolocutaneous layer of the skin subjected to intravital strangulation. Similar changes were absent in lung alveoli.**

*Keywords:* strangulation mechanical asphyxia, intravital damages, immunohistochemical method, fibrinogen, derma, hypoderma.

В судебно-медицинской практике одним из основных вопросов, который приходится решать эксперту, является установление прижизненности и давности повреждений, в том числе по отношению к странгуляционной механической асфиксии [1, 2]. Из многих известных экспертных критериев определения прижизненности, которыми располагают судебно-медицинские эксперты в настоящее время, как правило, используют традиционные методы, основанные на ранних и поздних тканевых реакциях. Недостатком этих методов является бесперспективность дальнейшего повышения точности определения давности и прижизненности традиционными методами. Один из основных критериев — визуально-описательный характер оценки изучаемых параметров, что осложняется тем, что динамика развития ранних изменений в большей мере зависит от различных внутренних и внешних факторов.

Механическая странгуляционная асфиксия, по данным сводных отчетов о деятельности региональных бюро судебно-медицинской экспертизы Российской Федерации, по-прежнему стабильно занимает третье место в структуре смертности от внешних воздействий в РФ. Наи-

более часто в экспертной практике из всего спектра механической асфиксии встречается странгуляционная асфиксия.

Как известно, обнаружение на трупе странгуляционной борозды не всегда свидетельствует о смерти от повешения или удавления петлей [1, 2]. Повешение может быть посмертным (чаще при инсценировке самоубийства). Известны многочисленные случаи посмертного возникновения борозд, как истинных (при сдавлении шеи трупа), так и ложных (следы от давления воротника при начальных явлениях гнилостной эмфиземы, экскорации на шее у тучных людей и т.д.). Для установления причины смерти, помимо секционного, используют дополнительные методы исследования с целью выявления признаков компрессии и ее прижизненности [3].

Из данных литературы [4] известны наблюдения краткой и пролонгированной странгуляционной асфиксии, что делает вопрос о прижизненности и темпе странгуляции актуальным. Этот вопрос и в наше время привлекает внимание судебных медиков. Так, недавно А. Наукава и соавт. [5] предложили определять содержание тиреоглобулина в крови для доказательства прижизненности

странгуляционной асфиксии. Целесообразно также применение иммуногистохимического (ИГХ) метода, так как он позволяет определять в тканях такие субстанции, которые неразличимы при рутинных методах исследования [6].

Предыдущие исследования [7] показали, что aberrации в строении экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани служат достаточно ранним маркером повреждения.

Цель исследования — разработка комплексного метода диагностики прижизненности странгуляции с использованием гистологических и ИГХ-методов.

## Материал и методы

Изучаемые явления — прижизненные процессы в коже, мягких тканях шеи и легких при странгуляции. Основными методами исследования являются гистологический и иммуногистохимический. Предполагается внедрение методики в работу бюро судебно-медицинской экспертизы. Экономическая эффективность заключается в возможности использования метода, не требующего дорогостоящих технических средств.

Исследовали трупы (7) с картиной странгуляционной асфиксии при несомненном самоповешении. Подробно изучили обстоятельства дела и соответствующие экспертные материалы. Помимо стандартного исследования трупа, для гистологического и ИГХ-анализа изымали фрагмент странгуляционной борозды и кусочки легкого вне зоны гипостаза.

Экспериментально моделировали посмертную борозду путем наложения жгута на кожу трупа (10 экспериментальных исследований), и после образования отчетливой борозды извлекали кусочки кожи и подлежащих тканей из зоны эксперимента (табл. 1). Полученные фрагменты тканей подвергали стандартной парафиновой проводке и применяли ряд гистологических и гистохимических окрасок. Далее часть материала подвергали стандартному ИГХ-исследованию на иммуноштейнере. Использованные методики представлены в табл. 2.

## Результаты и обсуждение

В ходе работы произведена адаптация ИГХ-метода к судебно-медицинскому материалу для выявления фибриногена и фибронектина в клетках дермы и гиподермы из области странгуляционной борозды. Для этого парафиновые блоки с материалом поместили в кассеты, приготовили срезы, которые перенесли в иммуноштейнер. Затем ставили ИГХ-реакции с антителами к фибриногену и фибронектину (фирма ДАКО) с непрямым иммунопероксидазным методом визуализации.

Применение классических гистологических окрасок дало картину классической странгуляции, мало отличающуюся от описанной в литературе [1, 3]. Применение иных методик окраски не дало столь выраженного отличия. Можно отметить только несколько более выраженную метахромию дермы в прижизненных бороздах в отличие от посмертных. Окраска по методу Шпильмейера позволила достоверно верифицировать острые кровоизлияния в валиках прижизненных борозд. В ИГХ-реакциях выявили, что в посмертных странгуляционных бороздах экспрессия фибриногена отмечается лишь в со-

**Таблица 1. Исследование обработанного материала (трупы) после странгуляционной механической асфиксии**

№ п/п	Пол	Возраст, годы	Этанол в крови, %о
1	М	35	3,0
2	М	44	2,4
3	М	28	0,0
4	М	55	0,0
5	М	46	1,2
6	М	36	2,3
7	Ж	64	0,0

**Таблица 2. Использованные гистологические и ИГХ-методики**

Методика	Число исследованных объектов
Окраска гематоксилином и эозином	18
Окраска по методу Шпильмейера	7
Окраска толуидиновым синим	8
ИГХ-реакция с антителами к фибриногену	18
ИГХ-реакция с антителами к фибронектину	4

судах (рис. 1, на цв. вклейке). В прижизненных бороздах эта экспрессия распространяется на дерму и преимущественно подкожную клетчатку, где она значительно ярче, чем в дерме, подвергшейся компрессии (рис. 2, на цв. вклейке). При использовании антител к фибриногену различия борозд были недостоверны (наблюдалась только очаговая внутривенулярная экспрессия).

При исследовании ткани легких в случае прижизненной странгуляции отметили наличие очагового отека без примеси фибриногена, а при посмертной странгуляции в легких наблюдали экспрессию фибриногена, характерную для других видов смерти.

То, что классические методики гистологического исследования не позволяют достоверно установить прижизненность борозды, подтверждают данные литературы [1, 3]. Более выраженная метахромиа в дне борозды при ее прижизненном происхождении объясняется представлением о посмертной деполимеризации белково-гликановых комплексов, что ведет к утрате их избирательной окрашиваемости толуидиновым синим. Экссудацию фибриногена как гликопротеина острого воспаления можно объяснить реакцией на острое нарушение гемодинамики с ранним выходом плазменных субстанций в ткани [8]. Более яркая реакция в подкожной клетчатке обусловлена ее лучшей васкуляризацией и меньшим фактором компрессии, чем в дерме.

Отсутствие экссудации в легких свидетельствует о развитии ранней фазы респираторного дистресс-синдрома, для развития которого при странгуляции нет времени [9].

Как известно, острое повреждение легких начинается с расстройства микроциркуляции и аэрации легочной паренхимы. На этом этапе еще отсутствует заметная альвеолярная трансудация. Далее появляется очаговый интраальвеолярный отек, при этом трансудат беден белком и выглядит при использовании рутинных окрасок как эозинофильная бледная субстанция. На этом этапе ИГХ-методами выявляется «чистый трансудат» без при-

меси фибриногена, а в сосудах микроциркуляции обнаруживают тромбоцитарные тромбы и явления сладжа эритроцитов. Это характерно для острого отека легких, исчисляемого во временном отношении часами. Для острой асфиксии характерен мелкоочаговый отек легких, время развития которого исчисляется минутами [10]. Очаговая внутривенулярная экспрессия фибронектина объясняется его нормальным пребыванием в крови и тем, что он не относится к субстанциям ранней фазы воспаления и не успевает при странгуляции покинуть сосудистое русло.

Темп асфиксии во всех наблюдениях был быстрым, что доказывается отсутствием заметной мезенхимально-сосудистой реакции в тканях шеи в зоне борозды и соответствующим состоянием гемодинамики трупов [11].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Судебно-медицинская экспертиза повешения. Под ред. Молина Ю.А. СПб.: Издательство НПО «Мир и семья-95». 1996.
2. Семененко Л.А. Экспертное установление инсценировки самоповешения. *Судебно-медицинская экспертиза*. 1983;1:54-55.
3. Забусов Ю.Г., Ширяк А.М. К диагностике прижизненности странгуляции. *Судебно-медицинская экспертиза*. 1982;3:52-53.
4. Богомолов Д.В., Путинцев В.А., Семенов Г.Г., Баранова М.Я. Необычный танатогенез при комбинированной механической асфиксии. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2011;58(6):42-43.
5. Hayakawa A., Matoba K., Horioka K., Murakami M., Terazawa K. *Appropriate blood sampling sites for measuring Tg concentrations for forensic diagnosis*. Leg Med (Tokyo). 2015;17(1):65-69.
6. Коржевский Д.Э. *Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии: руководство*. СПб.: Издательство Спецлит. 2012.
7. Меджидов М.Н., Богомолов Д.В. Данные иммуногистохимического исследования заживления экспериментальных ран десны как критерий установления давности повреждения слизистой оболочки полости рта. Материалы научно-практической конференции, посвященной 200-летию систематического преподавания судебной медицины в ММА им. И.М. Сеченова. М. 2004.
8. Фаллер Дж. М., Шилдс Д. *Молекулярная биология клетки*. Руководство для врачей. М.: Издательство «Бином-Пресс». 2011.
9. Сундуков Д.В. *Судебно-медицинская оценка адаптационных патоморфологических изменений дыхательной системы в ранний период механической травмы*: Дис ...д-ра мед. наук. М. 2009.
10. Hansell DE, Dintzis RZ. *Pathology*. Lippincott ed. Philadelphia: Baltimore — New York. 2006;946.
11. Семенов Г.Г. *Диагностическое значение признаков нарушения гемодинамики при некоторых видах механической асфиксии*: Дис. ... канд. мед. наук. М. 2010;28.
12. Müller E, Simon A, Weidhase R. Impulsphotometrische Messungen der DNS dermalen Zellen in vitalen und postmortalen Strangmarken. *Kriminalistik und forensische Wissenschaften*. 1981;44:53-55.
13. Мезенцев И.Е., Матвеев С.В., Матвеев В.И., Молчан А.В. *Морфометрическое исследование прижизненности странгуляционной борозды*. 1-й съезд судебных медиков Украины: сборник научных трудов. Под ред. Матышева А.А. Киев. 1987;105-106.

## Заключение

Таким образом, на данном этапе исследования показана перспективность иммуногистохимического изучения странгуляционных борозд и ткани легких для установления прижизненной асфиксии. В дальнейшем планируется продолжить сбор материала и использовать при его анализе не только указанные методики, но и иные антитела (к селектинам, плазминогену и др.), а также применять морфометрические и иные полуколичественные методы оценки странгуляционной асфиксии [11—13].

**Конфликт интересов: авторы статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки/конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.**

## О проблеме диагностики ВИЧ-инфекции в объектах судебно-медицинской экспертизы

Д.Б.н., проф. П.Л. ИВАНОВ, м.н.с. Т.В. ТИМОШЕНКО, к.м.н. Е.Ю. ЗЕМСКОВА

ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России (дир. — д.м.н. А.В. Ковалев), Москва, Россия, 125284

Представлено состояние научного поиска в области диагностики и идентификации ВИЧ в трупном материале, исследуемом при судебно-медицинской экспертизе. Диагностика ВИЧ в трупных органах и тканях на различных стадиях трупных изменений, практическая оценка вероятности инфицирования медицинского персонала при секционном исследовании, а также проблемы инфекционной безопасности персонала государственных судебно-медицинских экспертных учреждений являются важными и актуальными во всем мире. Авторы рассматривают возможности и ограничения наиболее часто применяемых таких методов диагностики ВИЧ, как иммунологические методы, в частности иммуноферментный анализ, и преимущества молекулярно-генетических методов, в которых диагностическими маркерами будут выступать специфические участки вирусного РНК-генома, а методической основой станет ПЦР-амплификация с детекцией в режиме реального времени. Предполагается, что этот подход позволит с высокой точностью и специфичностью определять наличие вирусного генома в биологических образцах, а также минимизировать вероятность получения как ложноположительных, так и ложноотрицательных сигналов.

*Ключевые слова:* судебно-медицинская экспертиза, молекулярно-генетическая диагностика, ВИЧ, трупный материал.

## On the problem of HIV infection in the objects of forensic medical expertise

P.L. IVANOV, T.V. TIMOSHENKO, E.YU. ZEMSKOVA

Federal state budgetary institution «Russian Centre of Forensic Medical Expertise», Russian Ministry of Health, Moscow, Russia, 125284

The authors overview the current state of research in the field of diagnostics and identification of the signs suggesting the presence of HIV in the materials obtained from the human corpses undergoing forensic medical expertise at different stages of their post-mortem changes. Another objective of the present work was to evaluate the risk of HIV infection for the medical personnel involved in the autopsy studies taking into consideration the significance attached in different countries to the problem of anti-infectious protection of the staff of the state institutions of forensic medical expertise. The authors discuss the possibilities and limitations of the application of the methods for HIV diagnostics, such as immunoenzymatic assays. The special attention is given to the advantages of the molecular genetic methods based on the use of the specific fragments of the viral RNA genome as the diagnostic markers. The solid methodological basis for molecular genetic diagnostics of HIV infection is provided by PCR-amplification with the detection in the real-time regime. It is supposed that this approach will make it possible not only to determine, with the high degree of accuracy and specificity, the presence of the viral genome in the biological materials but also to reduce to a minimum the probability of both false-positive and false-negative responses.

*Keywords:* forensic medical expertise, molecular genetic diagnostics, HIV, cadaveric materials.

Отмечаемый в последние десятилетия рост числа ВИЧ-инфицированных [1] определяет вектор научного поиска в области диагностики и идентификации ВИЧ в трупном материале, исследуемом при судебно-медицинской экспертизе (СМЭ). Заинтересованность судебных медиков данным вопросом включает множество аспектов: диагностику ВИЧ в трупных органах и тканях, исследование состояния вируса и его вирулентности в трупной крови и тканях на различных стадиях трупных изменений, практическая оценка вероятности инфицирования медицинского персонала при исследовании трупа и т.п.

Особенно актуален и значим, с точки зрения охраны здоровья работников, вопрос о возможности возникновения так называемых аварийных ситуаций при исследовании трупного материала, сопряженных с контаминацией

трупной кровью кожи и слизистых оболочек судебного медика, производящего вскрытие, и случайных порезах, уколах или других травматических воздействиях.

По официальным данным, вероятность инфицирования медицинских работников, имеющих прямой контакт с вирусным материалом, в целом мала. В международной практике зарегистрировано достаточное количество таких случаев, чтобы эта проблема приобрела значимый характер [2]. В описанных случаях речь идет о заведомо известных объектах, представляющих инфекционную опасность. В условиях «традиционного» секционного исследования наличие в трупном материале ВИЧ, как правило, на момент исследования остается неизвестным, а факт прижизненного инфицирования умершего лица может выясниться только через несколько недель или месяцев после