

DOI: 10.26693/jmbs03.04.038

УДК 340.624.6:616-074

Поєстяний В. А., Песоцкая Л. А., Евдокименко Н. М.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДАВНОСТИ СМЕРТИ И УСЛОВИЙ ПРЕБЫВАНИЯ ТРУПА НА ОСНОВАНИИ ИЗМЕНЕНИЙ КОМПОНЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ИЗ АХИЛЛОВА СУХОЖИЛИЯ

ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства Здравоохранения Украины»,  
Днепр, Украина

smekrujok@i.ua

В работе исследовали изменения компонентов, возникающих в биожидкости из ткани ахиллова сухожилия в результате процесса аутолиза в сроки 1–20 дней посмертного периода. Установлены колебания ферментов: амилазы, щелочной фосфатазы, АСТ, общего белка, мочевой кислоты, мочевины, холестерина, натрия, калия и железа. Была обнаружена зависимость между увеличением активности биохимических процессов в разные периоды и активацией в клетке ферментов с различной локализацией. Проведен расчет медиан полученных результатов в группах и их отношения к медиане самого короткого посмертного периода. Выявлен колебательный характер изменения содержания компонентов биожидкости, что делает невозможным применение статистических методов анализа, поскольку одни и те же значения концентрации веществ обнаруживаются в разных группах. Установлено, что методы математической классификации более подходят для отнесения образца к конкретной группе. Лучшие результаты, после проверки нескольких таких методов, были получены, для метода определения евклидова расстояния от центров заданных групп к образцу (метод ближайшего соседа). Предложены критерии для анализа отличий содержания ряда соединений, которые определяются биохимическим способом и могут иметь прогностическое значение для определения времени смерти в позднем постмортальном периоде, а также оценки условий пребывания трупа.

**Ключевые слова:** аутолиз, Ахиллово сухожилие, биохимические реакции, давность смерти, математическая классификация.

**Связь работы с научными программами, планами, темами.** Исследование является частью научно-исследовательской работы кафедры патологической анатомии и судебной медицины ГУ «ДМА МОЗ Украины» «Судебно-медицинская оценка давности смерти по динамике изменений

соединительной ткани при гнилой трансформации трупа», № государственной регистрации 0117U003831, 2017-2019 гг.

**Актуальность темы.** Определение времени смерти, в позднем посмертном периоде, остается проблемой судебной медицины [1, 2, 5, 6]. Трудности в решении этого вопроса [3, 4, 6], обусловлены тем, что развивающиеся в трупе явления достаточно вариабельны и зависят от большого количества факторов (состояния организма, причины смерти, скорости охлаждения тела, характера индивидуальной микрофлоры и прочее). Для определения давности смерти предлагаются методы, основанные на оценке состояния не только тканей трупа, но и его флоры и фауны [7, 8]. Практически отсутствуют исследования такого посмертного процесса, как аутолиз в соединительной ткани (хотя есть отдельные работы, посвященные изучению его во внутренних органах) [9, 10, 13]. Ранее была предложена методика [12] по извлечению биожидкости из ткани ахиллова сухожилия (АС) и подтверждено наличие в ней веществ, которые можно устанавливать биохимическим методом, с применением оборудования обычной клинической лаборатории.

**Целью работы** было определение биохимическим методом в биожидкости извлеченной из ткани АС, отдельных компонентов на протяжении 20 дней посмертного периода с целью разработки способа определения давности смерти и оценки условий пребывания трупа.

**Материал и методы исследования.** Материалом для исследования были ахилловы сухожилия из 30 трупов взрослых людей. Состав групп в зависимости от возраста пола приведен в **таблице 1**.

Работа была проведена в соответствии с требованиями «Инструкции о проведении судебно-медицинской экспертизы» (приказ МОЗ Украины № 6 от 17.01.1995), в соответствии с требованиями и нормами, типичным положением по вопросам этики МОЗ Украины № 690 от 23.09.2009 г.

**Таблиця 1** – Характеристика груп в залежності від віку та статі

Вік	1 доба		2-3 днів		4-6 днів		7-9 днів		10-20 днів	
	М	Ж	М	Ж	М	Ж	М	Ж	М	Ж
до 30 років	1									
31-40 років			1							
41-50 років					2		2	1	1	
51-60 років			1	1	1					1
61-70 років		2	1		1			1	2	1
71-80 років	1	2			1	1		2	1	
Більше 80 років			1	1						
Всього	2	4	4	2	5	1	2	4	4	2
	6		6		6		6		6	

Середній вік склав  $64 \pm 12$  років. Поскільки робота носить пошуковий характер, то матеріал отримався при різних умовах перебування трупів (в різні часи року) детальні дані про мікроклімат в місці перебування трупа відсутні. Весь матеріал, в залежності від терміну смерті, був розділений на наступні групи: Т1 (1 доба); Т2 (2-3 днів); Т3 (4-6 днів); Т4 (7-9 днів); Т5 (10-20 днів). Зазначені терміни найбільш наближені до запропонованих Шевченко І. М. [12]. Дослідженню піддалася отримана з АС біологічна рідина. Ця рідина, після отримання її, заморожувалася, а перед проведенням дослідження змішувалася з ізотонічним розчином в співвідношенні 1:4. Вміст окремих компонентів біологічної рідини визначався, відповідно до методик, в клінічній лабораторії. Вміст альбуміну визначався колориметричним методом, холестерину – ферментативним колориметричним методом, загального білка – колориметричним методом (з біуретним комплексом з міддю), мочевины при допомозі кінетичного тесту з використанням уреазы і глутаматдегідрогеназы, мочової кислоти – ферментативним колориметричним методом, щелочної фосфатазы згідно стандартної процедури рекомендованої Комітетом стандартних систем ферментів, а-амілазы – колориметричний аналіз. Концентрацію іонів кальцію визначали за допомогою запропонованого Roshe Diagnostic, а іонів заліза – загальноприйнятим колориметричним методом з використанням аскорбата і утворенням комплексу з феррозином. Статистичні методи для оцінки отриманих результатів не застосовувалися. Були використані метод відношень і метод математичної класифікації – відстані Евкліда (розглянуті докладно нижче).

**Результати дослідження і їх обговорення.**

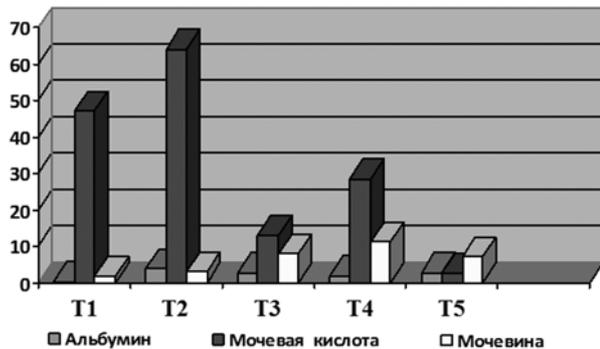
Дані медіан біохімічних показників біологічної рідини з тканин АС представлені в таблиці 2.

**Таблиця 2** – Медіани вмісту окремих компонентів в біологічній рідині з АС

Біохімічні показники	Т (доб)				
	T1	T2	T3	T4	T5
ГГТ, Ед/л	1,5	5,5	4,5	5,75	1
Альбумін, Г/дл	0,25	3,8	2,65	2	2,85
Холестерин, ммоль/л	0,07	0,15	0,08	0,15	0,02
Загальний білок, Г/дл	1,85	1,5	5,2	5,6	4,55
Мочевина, ммоль/л	1,75	3	7,94	11,1	6,95
Мочової кислота, мкмоль/л	47	64	13	28,5	2,55
Щелочна фосфатаза, Ед/л	1,35	1,5	4,3	14,5	3,50
Амілаза, Ед/л	3	1	5,5	7,5	2
Натрій, ммоль/л	30	141	144,5	159,5	131
Кальцій, ммоль/л	0,6	0	0,69	0,38	0,28
Залізо, ммоль/л	3,19	5,6	7,21	11,88	7,36

При проведенні аналізу, звертає на себе увагу неоднорідність змін концентрації ферментів в біологічній рідині. Це пов'язано з неоднорідною активацією ферментів, розташованих в різних клітинних структурах. Цей висновок підтверджується тим, що «пікова» активність ГГТ (яка локалізується в зовнішній мембрані клітин) відзначається в групах Т2-Т4, тоді як активність щелочної фосфатазы і амілазы (розташовані всередині клітини) різко підвищується тільки після 4-го дня після смерті і досягає максимуму в групі Т4 (7-9 днів). Також це свідчить про те, що в тканині сушіння процеси аутолізу протікають значно повільніше, порівняно з іншими органами.

Встановлено, коливаючий (хвилюватий) характер змін концентрації компонентів біологічної рідини, що ілюструється графічними зображеннями (рис. 1, 2).



**Рис 1.** Концентрація альбуміну, мочової кислоти і мочевины в біологічній рідині з АС (медіани)

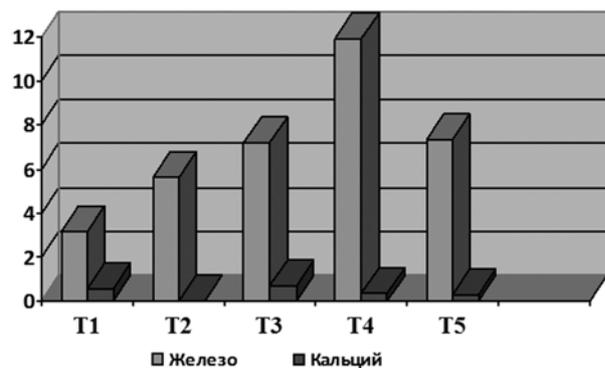


Рис. 2. Концентрація мікроелементів в біожидкості з АС (медіани)

Исходя из представленных результатов, можно выделить общую проблему для их оценки – отсутствие последовательного (линейного) характера изменения содержания вещества во времени. Такие колебательные изменения отражают последовательное высвобождение из ткани сложных органических соединений (начало аутолитического процесса), с последующим их распадом до более простых, в результате химических реакций. В последующем возникает повторная деструкция мембран с выходом и активацией ферментов, которые находились внутриклеточно, что вызывает в свою очередь, вновь повышение концентрации компонентов с последующим уменьшением их в целом по времени. Возможно, имеет место и «третья волна» активации биохимических реакций, однако она находится за пределами временного интервала, который исследовался.

Из полученных данных можно выделить максимальные и минимальные показатели, характерные для каждого периода (табл. 3).

Для практического применения выявленных закономерностей необходимо найти способ сравнения данных групп. Так называемый, «сравнительный» подход является необходимым

Таблица 3 – Различия биохимических данных по их крайним значениям на разных сроках посмертного периода

Биохимические показатели	T1	T2	T3	T4	T5
ГГТ				Max	Min
Общ. белок		Min		Max	
Альбумины		Max	Min		
Холестерин		Max			Min
Мочевая кислота		Max			Min
ЩФ	Min			Max	
Мочевина	Min			Max	
Амилаза		Min		Max	
Кальций		Min	Max		
Железо	Min			Max	

элементом проведения судебно-медицинской экспертизы [14]. Обычные статистические методы сравнения в данной ситуации исключены, так как они не рассчитаны на применение при волнообразном колебании сравниваемых факторов (переменных). Поскольку из выбранных сроков давности смерти, благодаря наличию других методик, наиболее легко определить первый период (группа T1), вычислялись отношения значений групп T2, T3, T4 и T5 к значениям T1. Были оставлены цифровые значения, которые реже всего повторялись. Полученные результаты представлены в табл. 4 и на рис. 3.

Таблица 4 – Отношения показателей компонентов жидкости групп T2, T3, T4 по отношению к T1

Биохимические показатели	T2/T1	T3/T1	T4/T1	T5/T1
ГГТ	3,6	3	3,8	0,6
Альбумин	15,2	10,6	8	11,4
Холестерин	2,1	1,1	2,1	0,3
Общ. белок	0,8	2,8	3	2,5
Мочевина	1,7	4,5	6,3	4
Мочевая кислота	1,4	0,3	0,6	0,05
Амилаза	0,5	1,8	2,5	0,7
Натрий	4,7	4,8	5,3	4,4
Железо	1,8	2,3	0,6	2,3

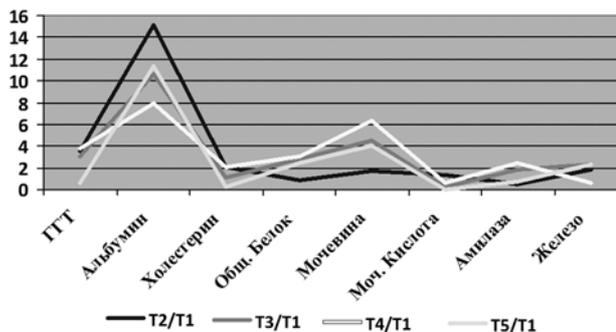


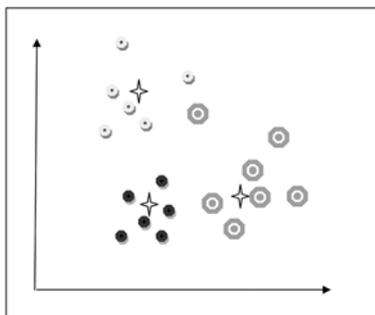
Рис. 3. Вид графиков отношений значений компонентов в группах T2, T3, T4 по отношению к T1

С целью установления срока посмертного периода для конкретного образца проводился аналогичный расчет по вычислению отношений величин компонентов этого образца к величинам T1. Кроме визуальной оценки полученного графика, для математического сравнения показателей использовали один из методов математической классификации объектов.

В доступной нам литературе, сведений об использовании такого метода для проведения сравнения данных проверяемого образца (жидкости из АС), с целью установления давности смерти в позднем посмертном периоде выявить не удалось.

Это объясняется тем, что применение статистических методов сравнения было эффективно лишь на первой «волне» биохимических реакций. Об этом факте свидетельствуют данные Monica Cristina Francisco Tome [15]. Автором прямо указано на то, что проведенные многочисленные исследования имели ограничения по определяемому сроку давности смерти (около 24 часов) и противоречили друг другу. Очевидно, что после этого периода, статистической разницы не наблюдается из-за волнообразных колебаний компонентов в тканях трупа, что и сказывалось на выводах исследователей.

Методы математической классификации основаны на сравнении их цифровых характеристик либо друг с другом, либо по отношению к заранее установленным «центрам» групп [16]. Данный подход проиллюстрирован на **рис 4**.



**Рис. 4.** Пример проведения классификации объекта путем сравнения отдаленности его от условных центров групп:

● ○ ⊙ – объекты различных групп; ✦ – геометрические центры групп; ⊙ – классифицируемый объект

В нашей работе, был применен расчет евклидова расстояния (по **формуле 1**).

**Формула 1**

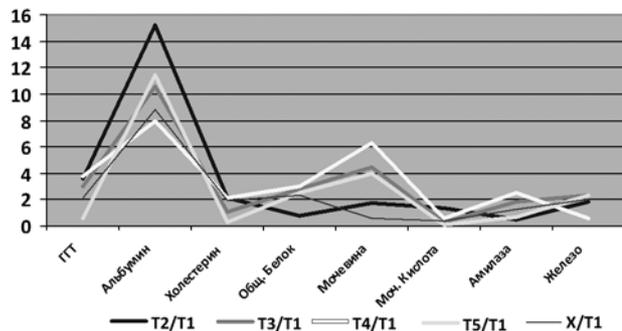
$$d(x, y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2},$$

где  $n$  – количество сравниваемых показателей (координат);  $x_i$  – данные сравниваемого объекта;  $y_i$  – данные медианы заранее определенной группы;  $d$  – Евклидово расстояние в многомерном пространстве между точками, координатами которых являются значения биохимических показателей из **таблицы 2**).

При проверке выявлено, что в группах Т1 и Т2, рассчитанная по предлагаемой методике давность смерти, не отличалась от фактической. В других группах имелось несовпадение полученных результатов с фактическими (в группе Т5 до 50%). Это объясняется тем, что скорость биохимических

реакций напрямую зависит от температурного фактора. При детальном анализе материалов дела, оценки погодных условий, было выявлено, что эти отклонения встречались в тех случаях, когда условия пребывания трупа не соответствовали общепринятым (а именно, «комнатная» температура 18–22 °С, влажность 60%). В этих случаях полученный результат зависел именно от условий, в которых находилось тело, что требует соответствующей коррекции полученных результатов.

Пример применения предлагаемой методики для случая, не включенного в выборку (контрольный образец X), приведен ниже (**рис. 5**).



**Рис. 5.** Сравнение графиков рассчитанных значений с графиком контрольного образца (X) с известной давностью посмертного периода (9 дней (Т4))

На приведенном рисунке видно, что полученный график отношений проверяемого образца (X), в средней части наиболее близок по форме и цифровым значениям к графику Т2/Т1, в левой части к графику Т4/Т1, а в правой занимает промежуточное положение между графиками Т5/Т1 и Т3/Т1. Следовательно, биохимические показатели его смещены к значениям групп Т4 и Т5. При определении евклидова расстояния, получены значения, которые представлены в **таблице 5**.

**Таблица 5** – Определение евклидова расстояния контрольного образца (X) с известным сроком посмертного периода (9 дней (Т4)) по отношению к медианам контрольных групп

	Евклидово расстояние
Т1 (1 день)	127,0
Т2 (2–3 дня)	46,2
Т3 (4–6 дней)	14,3
Т4 (7–9 дней)	20,5
Т5 (10–20 дней)	29,6

Наименьшее расстояние соответствует показателям группы Т3 (4–6 дней посмертного периода). Известно, что тело находилась 9 дней при температуре внешней среды +6–8 °С. Следующим, наиболее близким значением является значение

групи Т4. Следователно, испытуемый (контрольный) образец жидкости из ткани АС, был получен из трупа давностью смерти 7–9 дней, который находился в условиях пониженной температуры.

**Выводы**

1. Выявлен колебательный характер компонентов биологической жидкости из ткани ахиллова сухожилия в постмортальном периоде, что делает невозможным применение методов статистики.
2. Установлено, что биохимические процессы, сопровождающие аутолиз в ткани ахиллова сухожилия, протекают замедленно, что делает их

пригодным для оценки постмортального периода и условий пребывания трупа.

3. С использованием метода математической классификации, предложены критерии для определения давности смерти после 2-х суток посмертного периода, и условий пребывания трупа.

**Перспективы дальнейших исследований.** В дальнейшем планируется сопоставление данных биохимического анализа биожидкости Ахиллова сухожилия и данных кирлианографии для определения давности смерти и условий пребывания трупа на месте происшествия.

**References**

1. Olkhovskyy VO, Golubovych LL, Khyzhnyak VV, Konoval NS, Dmytrenko YuO. Vyznachennya tryvalosti posmertnogo periodu v sudovo-medychnyi ekspertnyi praktytisi: suchasnyy stan i perspektyvy. *Ekspyrymentalna i klinichna medyt-syna*. 2016; 4 (73): 27-33. [Ukrainian].
2. Sayakenov NB, Apbasova SA, Khudyakova Y, Baymoldynov ES, Alymbekova BR. Problemy opredelenyya davnosti nastuplenyya smerty. *Nauka y zdavookhraneny*. *Medytsynskyy nauchno-praktycheskyy zhurnal*. 2011; 2: 15-9. [Russian].
3. Sadrtynov AG, Khalykov AA. O vozmozhnosti byofyzycheskoy dyagnostyky davnosti smerty gnylostno transformyrovannogo trupa. *Problemy ekspertyzy v medyt-syne*. 2015: 12-5. [Russian].
4. Zhou Ch, Byard RW. Factors and processes causing accelerated decomposition in human cadavers. An overview. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 2011; 8: 6-9. doi:10.1016/j.jflm.2010.10.003.
5. Amendt J, Goff ML, Campobasso CP, Grassberger M. *Current Concepts in Forensic Entomology*. Springer Science+Business Media BV, 2010. 376 p. DOI: 10.1007/978-1-4020-9684-6.
6. Buchani MJ, Anderson GS. Time since death: a review of the current status of methods used in the later postmortem interval. *Can Soc Forens Sci J*. 2001; 34 (1): 1-22. DOI: 10.1080/00085030.2001.10757514.
7. Gunn A, Pitt SJ. Microbes as forensic indicators. *Trop Biomed*. 2012; 29: 311-30.
8. Guo JJ, Zhub ZY, Dingb ZY, Zhaa L, Caia JF. The potential use of fungi community in postmortem interval estimation in China. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2015 Dec; 5: e476–8. https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2015.09.189.
9. Lushnykov EF, Shapyro NA. *Autolyz (morfologyya y mekhanizmy razvytyya)*. Moskva; 1974. 97 s. [Russian].
10. Pygolkyn Yu.Y., Bogomolova YN, Bogomolov DV, Amanmuradov AKh. Vozmozhnosti gystomorfometry v sudebno-medyt-synskoy teoryy y praktyke. Morfometrycheskye podkhody k dyagnostyke davnosti nastuplenyya smerty. *Problemy ekspertyzy v medyt-syne*. 2001; 1 (4): 3-7; 31-5. [Russian].
11. *Patent 100981 Ukraine*. Sposib otrymannya ta doslidzhennya biologichnoyi ridyny zi spoluchnoyi tkanyny / Povstyanyy VA. (UA); zayavl 12.09.2016; opubl 12.09.2016. Byul № 17. [Ukrainian].
12. Shevchenko IM. *Ekspertni kryteriyi vstanovlennya terminu davnyny smerti u piznomu postmortalnomu periodi*: avtoref. dis. ... kand. med. nauk, Abstr. PhD. (Med.). Kyiv; 1999. 21 s. [Ukrainian].
13. Shorokhov AE. O dynamyke autolyza v ekspyrymente. In: *Gystokhymyya v normalnoy y patologycheskoy morfologyyu*. Pod red Subbotyna MYa. Novosybyrsk, 1967. s 385-6. [Russian]
14. Kutyaikov VA, Salmyna AB, Chykun VY. Kontsentratsyya makro- y mykroelementov v byologycheskykh obektakh kak dyagnostycheskyy pryznak v sudebno-medyt-synskoy ekspertnoy praktyke. *Sybyrskyy medyt-synskyy zhurnal*. Yrkutsk. 2015; 3: 14-8. [Russian].
15. Monica Cristina Francisco Tome. *Estimation of Postmortem Interval Based on Cell Death Progression in Biological Fluids*: Abstr. PhD. (Med.). Faculty of Medicine of University of Porto; 2017. 44 p.
16. Dyakonov AG. *Analyz dannykh, obuchenye po pretседentam, logycheskye ygry, systemy WEKA, RapidMiner y Mat-Lab*. Uchebnoe posobyе. M, 2010. 275 s. [Russian].

УДК 340.624.6: 616-074

**ВИЗНАЧЕННЯ ДАВНОСТІ СМЕРТІ Й УМОВ ПЕРЕБУВАННЯ ТРУПА НА ПІДСТАВІ ЗМІН КОМПОНЕНТІВ БІОЛОГІЧНОЇ РІДИНИ ІЗ АХІЛЛОВОГО СУХОЖИЛКУ**

**Повстяний В. А., Песоцька Л. А., Євдокименко Н. М.**

При проведенні роботи, досліджено біохімічним шляхом зміни окремих компонентів біорідини з Ахіллового сухожилку протягом 1–20 діб після смертного періоду. Проведено розрахунок медіан значень їх у групах з різним терміном смерті та відношення їх до медіани з самим меншим терміном смерті. Виявлено

коливальний характер змін речовин у біорідині, що робить неможливим застосування статистичних методів для їх оцінки з метою визначення часу смерті після 2–3 діб помертвого періоду. Виявлено, що на результати біохімічного дослідження біорідини з Ахіллового сухожилку має значний вплив температура навколишнього середовища, яка може значно змінювати швидкість протікання біохімічних реакцій у ньому. Запропоновано використання методу математичної класифікації (обчислення відстані Евкліда), для вирішення питання належності зразку, що досліджується, до групи з відомим терміном смерті. Запропоновано метод та критерії для визначення часу смерті та умов перебування трупа на підставі аналізу відмінності вмісту окремих компонентів у біорідині, які визначаються біохімічним методом.

**Ключові слова:** автоліз, Ахілловий сухожилок, біохімічні реакції, давність смерті, математична класифікація.

UDC 340.624.6: 616-074

**Determination of Death Prescription and Conditions of Corpse's Being on the Basis of Changes in the Components of Biological Fluid from the Achilles Tendon**

*Povstianii V. A., Pesotskaya L. A., Yevdokimenko N. M.*

**Abstract.** *The purpose of the study was to determine the individual components in the biofluid extracted from the tissue of the Achilles tendon during 20 days of the postmortem period. This was performed in order to develop a method for determining the duration of death and assessing the conditions of the body's presence.*

*Material and methods.* As a result of the autolysis processes there occur some changes in tissues of the Achilles tendon during 1–20 days after death. Concentrations of various substances were determined by the biochemical method. These changes reflect the development of biochemical reactions of various types in tissues after death.

*Results and discussion.* It was found out that autolysis in the connective tissue of the Achilles tendon occurred more slowly than in other tissues. We checked fluctuations of enzymes (amylase, alkaline phosphatase, AST (aspartate aminotransferase), total protein, uric acid, urea, cholesterol, sodium, potassium and iron). There was revealed dependence between increasing of biochemical processes activity in different periods due to the activation of different localization enzymes in the cell. We also obtained values median for contained components and their relations for different groups. Oscillatory changes of the ingredients contained in the liquid were revealed too. The usage of statistical methods of analysis is impossible due this effect. This is because the same concentrations of substances are found in different groups. It turned out that the methods of mathematical classification are more suitable for the purpose (assignment) of the sample to a given group. The criteria for the analysis of differences between the content of components were proposed.

*Conclusions.* After checking several methods were obtained the best results with the help of the method of Euclidean distance calculating in the multidimensional space from the centers of the given groups to the sample (the method of the closer neighbor). Their coordinates are the values of biochemical parameters. The biochemical method can be of prognostic value for determining the death's time in the late postmortem period and assessing the condition of the corpse.

**Keywords:** autolysis, the Achilles tendon, biochemical substances, time of death, postmortem interval.

Стаття надійшла 22.03.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування