

РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ КАЗЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ
«ЦЕНТР СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТИЗ
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН»

"Қазақстан Республикасы Әділет Министірілігінің
Сот сараптамалары орталығы"
БАҚЫЛАУ ҮЛГІСІ
ҚР ӘМ ССО ғылыми кеңесінің № 2
« 5 » сәуірі 2016 ж. хаттамасы
реттік номері № 24.1 (6)

МЕТОДИКА

ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДАВНОСТИ И ПРИЖИЗНЕННОСТИ
ПОВРЕЖДЕНИЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПРИ МЕХАНИЧЕСКИХ
ТРАВМАХ

(шифр специальности – 24.1)

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

1. Наименование методики	Методика определения давности и прижизненности повреждений мягких тканей при механических травмах
2. Шифр специальности методики	24.1(6)
3. Информация о разработчике методики	Оспанова К.Е. - судебно-медицинский эксперт-гистолог, к.м.н. Центр судебной медицины МЗ РК рецензент: Манекенова К.Б. - заведующая кафедрой патологической анатомии МУА, профессор, д.м.н.
4. Сущность методики	Выявление микроскопических признаков давности и прижизненности повреждения мягких тканей при механических травмах
4.1. Объекты исследования	Аутопсийный материал (фрагменты внутренних органов и частей трупа, забор которых производится во время вскрытия)
4.2. Методы исследования	Гистологический
4.3. Краткое поэтапное описание методики	<p>В зоне повреждения (кровеоизлияния) развиваются реактивные процессы в виде вазомоторных, воспалительных и пролиферативных реакций.</p> <p>Первой реакцией на повреждение является сосудистая реакция в виде отека, спазма и полнокровия сосудов. Для определения давности повреждения необходимо использовать наиболее информативные морфологические признаки, для развития которых необходимо определенное время. Такими морфологическими признаками являются клеточные реакции. Одна из первых клеточных реакций - лейкоцитарная реакция, на развитие которой необходимо около часа. Ее динамика связана не только с количественным ее увеличением, но и с качественным изменением лейкоцитов. Они подвергаются распаду, что морфологически характеризуется пикнозом и рексисом клеточных ядер, с формированием клеточного детрита. Данная морфологическая картина выявляется через 6-8 часов с момента повреждения. Параллельно с распадом лейкоцитов, могут определяться</p>

	<p>морфологические признаки некроза мягких тканей.</p> <p>Со временем количество распадающихся лейкоцитов увеличивается, и лейкоцитарная реакция идет на убыль. К концу первых суток лейкоциты исчезают из зоны повреждения. В этот период морфологическая картина может быть не информативной для определения давности. Процесс повреждения всегда сопровождается процессами восстановления. Морфологическими признаками начала восстановительных процессов является макрофагальная реакция. Первые макрофаги появляются в лейкоцитарном инфильтрате примерно через 12 часов. После ухода лейкоцитов с поля реактивного воспаления, количество макрофагов увеличивается. На вторые- третьи сутки в зоне кровоизлияния и по его краю определяются сосуды с пролиферацией адвентициальных клеток и формированием фибробластов. Эти клетки в дальнейшем участвуют в процессе организации кровоизлияния.</p> <p>На 3- 4 день в зоне кровоизлияния при специальной окраске по Перл су выявляются положительно окрашенные на железо макрофаги - гемосидерофаги. В их цитоплазме происходит образование железосодержащего пигмента - гемосидерина. Появление в зоне повреждения гемосидерофагов свидетельствует о начале процесса резорбции (рассасывания) кровоизлияния.</p> <p>В последующем окраска цитоплазмы гемосидерофагов становится более интенсивной, формируются внутриклеточные зерна гемосидерина. На третьей неделе (на 17-18 день поданным Н.А. Митяевой) макрофаг, содержащий пигмент, разрушается и гемосидерин в виде зерен, оказывается свободно лежащим в мягких тканях.</p> <p>Параллельно с процессом резорбции кровоизлияния, развивается процесс его организации. Первые морфологические признаки организации выявляются на 4-7</p>
--	---

	сутки, когда в зону повреждения определяется врастание фибробластов в виде клеточных тяжей, с последующим формированием соединительнотканых волокон
5. Дата одобрения методики Ученым Советом Центра судебной медицины МЮ РК	Протокол №2 от 05.12.2016г.
6. Информация о составителях паспорта методики	Имамбаева Н.Е. - судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории

Содержание:

1. Общие положения	6
2. Перечень использованных источников	33

Правильная оценка давности возникновения повреждения в мягких тканях и внутренних органах невозможна без понимания динамики и особенностей ответных реакций и процессов, развивающихся в организме после травмы. Характер и степень выраженности таких изменений зависят от многих причин, что создает значительные трудности при их оценке. Известно, что оценивать реактивные изменения применительно к срокам их возникновения следует очень осторожно. Это объясняется, прежде всего, особенностями течения травматического процесса в различных тканях, структурах, органах, при различных состояниях организма к моменту травмы (стресс, алкогольное опьянение, заболевания) и после нее (переохлаждение, малокровие, черепно-мозговая травма и т.д.). Некоторые посттравматические процессы протекают иначе у детей и людей преклонного возраста.

Влияют на темпы развития посттравматического процесса и проведенные лечебные манипуляции в условиях стационара.

Имеет значение локализация травматического процесса. Так, согласно литературным данным, течение реактивного процесса различно в мягких тканях головы, грудной клетки, нижних конечностей.

Таким образом, очень сложно установить давность повреждения с учетом совокупности всех приведенных факторов. В литературе имеет место минимальная информация о морфологических аспектах влияния каждого из факторов, а тем более их совокупности. Поэтому для определения давности повреждения используют морфологические признаки течения реактивного процесса при условно принятой «нормальной реактивности организма» с учетом каждого случая.

В литературе, посвященной данной теме, авторы приводят различные критерии определения давности повреждений. Эти данные разнообразны, иногда носят противоречивый характер. Например, сроки появления гемосидерофагов, по данным у различных авторов, колеблются от одних суток до пяти дней. Часть предлагаемых критериев, на наш взгляд, являются необоснованными. Например, определение давности кровоизлияния по изменению окраски и формы эритроцитов.

Одним из часто встречающихся объектов судебно-медицинского исследования является механическая травма. Характер повреждений зависит от вида травмы и травмирующей силы. Механические повреждения разнообразны – это ссадины, раны различной глубины, причиненные тупыми и острыми предметами, переломы костей. При этом любые повреждения всегда сопровождаются наличием кровоизлияний, размеры которых могут быть различными, зависящими от калибра поврежденного сосуда, принадлежности его к венозной или артериальной системе. В некоторых случаях кровоизлияния являются самостоятельными повреждениями. Так,

при воздействии на кожу твердых предметов она остается неповрежденной, а повреждаются подлежащие ткани с развитием в них кровоизлияния. Такое кровоизлияние в судебно-медицинской практике называется кровоподтеком.

В основу макроскопической диагностики давности кровоподтека положено изменение его цвета, связанное с динамикой изменения гемоглобина при разрушении эритроцитов.

Время изменения цвета кровоподтека зависит от таких факторов, как количество излившейся крови и глубина кровоизлияний. В первые часы излившаяся кровь содержит оксигемоглобин, что придает кровоподтеку багрово-красный цвет. Этот период длится около 2-4 часов. Затем оксигемоглобин переходит в восстановленный гемоглобин и в течение следующих 6-12 часов приобретает сине-багровую окраску. К концу первых суток, на вторые сутки восстановленный гемоглобин переходит в метгемоглобин, что придает кровоподтеку сине-фиолетовую окраску. В последующие 5-6 суток в очаге кровоизлияния образуется биливердин, что обеспечивает зеленоватый оттенок кровоподтека. Через неделю по краям кровоподтек приобретает желтоватый оттенок за счет образования билирубина и гемосидерина. В течение десяти дней кровоподтек в различных его участках может иметь различную окраску – «цветение кровоподтека». Через две недели, на стадии желтой окраски, кровоподтек исчезает.

Таким образом, по цвету кровоподтека эксперт-танатолог может лишь предположительно судить о его давности. Других более достоверных макроскопических критериев определения давности кровоизлияний нет. В этом случае помогает гистологический метод исследования, основанный на выявлении микроскопических критериев течения реактивного процесса.

Суть реактивного процесса заключена в том, что при механическом повреждении тканей и органов организм человека способен как единое целое отвечать генетически заложенными реакциями, адекватными силе воздействия. Это обусловлено реактивностью организма. Одной из таких реакций является воспаление. Воспаление – это местная реакция организма в ответ на локальное повреждение тканей и органов различными раздражителями. При этом по мнению многих исследователей данной проблемы, стереотипность воспалительной реакции не зависит от повреждающих факторов. Воспаление – это – многофазный последовательный процесс, развивающийся по определенной закономерности. Это свойство и используется для определения давности повреждений. За основу берутся наиболее достоверные признаки. Комплекс сосудисто-тканевых реакций в очаге повреждения при травме развивается без участия микроорганизмов. Такое воспаление называют по-разному: асептическим, реактивным, травматическим. В этот процесс вовлечены соединительная ткань с участком

терминальной сосудистой сети, а также плазма и клетки крови. Основными фазами воспаления являются альтерация, экссудация и пролиферация.

Альтерация – это повреждение тканей и органов. При механической травме происходит прямое воздействие повреждающего фактора на ткани. Альтерация является пусковым моментом комплекса последующих процессов. При механическом повреждении тканей происходит высвобождение множества биологически активных веществ (медиаторов воспаления). При этом высвободившиеся медиаторы вызывают местную реакцию микроциркуляторного русла, всасываясь в кровь, способствуют включению общего нейрогуморального механизма, обеспечивающего адекватный ответ организма в целом на раздражение (повреждение). Основными биологически активными веществами являются гистамин, брадикинин и серотонин. Основное их действия направлено на повышение проницаемости стенок сосудов. Другие медиаторы выделяются позже в течение всего периода воспалительного процесса. Первой реакцией на повреждение является сосудистая реакция в виде рефлекторного спазма. Продолжительность этого периода различная. На смену спазма приходит дилатация сосудов с притоком крови в эту зону и развитием полнокровия. Ток крови замедляется, развиваются эритростазы. Сосудистые реакции не имеют определенной временной закономерности и поэтому иногда трудно уловимы. В связи с этим они не могут быть использованы как критерии для определения давности.

Биологически активные вещества, действуя на сосудистую стенку, тем самым, как уже было сказано, способствуют повышению сосудистой проницаемости. При этом происходит выход плазмы с развитием отека тканей. С этого момента развивается фаза экссудации. Время появления отека и его распространенность могут быть различными. Параллельно в просветах сосудов выявляются эритростазы, а впоследствии и лейкостазы. Первые лейкостазы появляются через 30-40 минут с момента возникновения повреждения. Впоследствии, при продолжающемся действии на стенку сосудов биологических веществ, сосудистая проницаемость резко повышается. С этим связано развитие процесса хемотаксиса (выход лейкоцитов в периваскулярное пространство, движение лейкоцитов в очаг повреждения). Движение лейкоцитов в очаг повреждения обеспечивается особыми веществами. Следует заметить, что лейкоциты сами по себе способны вырабатывать вещества, которые регулируют количество самих лейкоцитов в очаге воспаления. С выходом в периваскулярное пространство лейкоцитов начинается фаза клеточных реакций, первым этапом которой является лейкоцитарная реакция. Обычно она развивается примерно через час с момента возникновения повреждения. Вышедшие из сосудистого русла

лейкоциты продвигаются в зону повреждения. Со временем количество лейкоцитов в очаге повреждения и вокруг него увеличивается и через несколько часов их насчитывается уже десятки и сотни. Основной функцией лейкоцитов является распознавание микроорганизмов и их фагоцитирование. Поэтому лейкоциты называют микрофагами. При асептическом воспалении, когда микроорганизмы отсутствуют в зоне повреждения, лейкоциты выполняют ограничительную и очистительную функцию. Вне сосудистого русла лейкоциты живут в течение 6-8 часов. Распадаясь, лейкоциты высвобождают активные гидролитические ферменты, способствующие разрушению поврежденных элементов мягких тканей, расположенных в зоне кровоизлияния, с развитием их некроза. Морфологическая картина некроза определяется примерно через 6—8 часов после повреждения. Кроме того, есть данные об участии гидролитических ферментов лейкоцитов в процессе изменения излившейся крови и формирования свертка.

Для ограничения зоны повреждения через 12-20 часов лейкоциты концентрируются по краю кровоизлияния, формируя лейкоцитарный вал. Через сутки, иногда позже, количество лейкоцитов исчезают из поля воспаления. При этом параллельно уменьшаются гиперемия и отек. Клеточная реакция при воспалении – саморегулирующаяся система: при уменьшении количества одной группы клеток появляются другие клетки. Параллельно с лейкоцитарной реакцией развивается и фаза пролиферации.

Пролиферация – это размножение клеток и трансформация одних клеточных форм в другие. В этой фазе в очаге повреждения появляются клетки макрофагального типа. Макрофаги – это активно фагоцитирующие клетки, обладающие как морфологическим, так и функциональным полиморфизмом. Они делятся на гематогенные и гистогенные (тканевые). Гематогенные макрофаги трансформируются из моноцитов крови, мигрирующих из просвета сосудов позже лейкоцитов, и определяются в лейкоцитарном инфильтрате примерно через 12 часов и позже. К гистогенным макрофагам относятся альвеолоциты, выстилающие просвет альвеол в легком, ретикулоэндотелиальные клетки в печени, мезотелиоциты серозных полостей, остеокласты в костях. В связи с изучением реактивных процессов в мягких тканях для нас особый интерес представляют гистиоциты – макрофаги соединительной ткани. Все эти клетки, обычно находящиеся в спокойном состоянии, при воспалении активизируются, становятся подвижными. Гистиоциты выявляются на вторые сутки с момента возникновения кровоизлияния. Они рассеяны в массах крови и располагаются по краю кровоизлияния, имеют округлую и вытянутую форму, светлую цитоплазму.

Функции макрофагов различные. Основными из них являются: фагоцитарная и секреторная. Фагоцитарная активность проявляется поглощением фрагментов распадающихся лейкоцитов, эритроцитов, а также некротизированных мягких тканей, поврежденных при травме. В этом процессе в основном участвуют моноцитарные макрофаги. Секреторная активность проявляется выработкой биологически активных веществ, стимулирующих процесс пролиферации таких клеток, как фибробласты, которые участвуют в процессе организации. В связи с этим, макрофаг является одной из главных клеток, регулирующих переход от воспалительного процесса к восстановлению тканей. Помимо этого, макрофаги способствуют восстановлению окислительно-восстановительных процессов в зоне повреждения.

В зоне кровоизлияния макрофаги активно участвуют **в процессе** резорбции (рассасывания) распадающихся эритроцитарных масс. Распад эритроцитов начинается уже в первые сутки, с процесса разрушения гемоглобина. Появляющиеся в зоне кровоизлияния на вторые-третьи сутки макрофаги, поглощают распадающийся гемоглобин и остатки эритроцитов. Внутриклеточно происходит образование железосодержащего пигмента - гемосидерина. Клетки- макрофаги, содержащие гемосидерин, называются гемосидерофагами (сидерофагами). Для выявления гемосидерина применяется специальная окраска по Перл су. В результате применения этой методики происходит зеленоватое окрашивание железосодержащего пигмента. Первые гемосидерофаги обычно выявляются на третий-четвертый день. При этом отмечается нежно-зеленоватое окрашивание цитоплазмы гемосидерофагов. В течение последующих дней окрашивание цитоплазмы гемосидерофагов становится более интенсивным, а в дальнейшем в ней появляются зерна гемосидерина. На третьей неделе (на 17-18 день по данным Н.А. Митяевой) макрофаги разрушаются, и зерна гемосидерина оказываются свободно лежащими в ткани. Процесс резорбции кровоизлияния может быть различным по давности - от двух недель до одного месяца. Это в основном зависит от распространенности кровоизлияния* При полном рассасывании кровоизлияния иногда на его месте остаются в течение продолжительного срока (месяцы и годы) глыбки внеклеточного гемосидерина. Лимфоциты - это биологически активные клетки, выполняющие функцию формирования иммунного ответа при банальном воспалении, реагирующие на внедрение чужеродного агента. При асептическом воспалении лимфоциты играют минимальную роль. Они определяются в очаге асептического воспаления в отдельных случаях, например, при гиперреактивности человека на повреждения любого характера (в том числе на травму).

Итак, продукты тканевого распада подвергаются расщеплению и макрофагальной резорбции. Разнообразные клетки в очаге травматического реактивного процесса, выполняя специфические функции, постепенно исчезают. При повреждениях мягких тканей на поле воспаления преобладающей клеткой становится фибробласт, выполняющий восстановительную функцию. Фибробласты определяются вокруг сосудов на

2-3 сутки. На 4-7 сутки отмечаются активные признаки процесса организации в форме врастания фибробластов-фиброцитов в виде цепочек в зону повреждения, с последующим формированием соединительнотканых волокон. При неосложненном течении регенераторного процесса примерно через две недели происходит созревание грануляционной ткани с формированием рубца.

В тех случаях, когда процессы резорбции и организации идут вяло, или очаг кровоизлияния (например, при наличии гематомы) больших размеров, отмечается формирование соединительнотканной капсулы вокруг кровоизлияний.

В случаях присоединения банального воспаления экссудативная фаза с нарастающим количеством лейкоцитов может удлиняться на неопределенный срок, отодвигая фазу пролиферации. При этом течение воспалительного процесса зависит не только от распространенности механического повреждения, реактивности организма, но и от вида инфекционного агента. Поэтому в этом случае временное течение воспалительного процесса предсказать невозможно.

Большое значение для изменений в зоне травматического очага имеет топография кровоизлияний. В связи с этим очень показательным примером является своеобразный характер реактивных изменений в зоне травматических кровоизлияний в межреберных мышцах, в том числе взятых из области переломов рёбер.

В исследованном материале в ряде случаев обращало на себя внимание: большая интенсивность лейкоцитарной реакции по сравнению с мягкими тканями из других участков тела; наличие среди лейкоцитов незрелых клеточных форм; несколько необычное расположение лейкоцитов. Это могли быть кучные скопления лейкоцитов, располагающиеся как в самом кровоизлиянии (в массе эритроцитов), так и в перифокальной зоне кровоизлияния, а иногда и на отдалении от него. При малом увеличении микроскопа они иногда выглядели как густое скопление «синих» ядер.

С целью объяснения установленных особенностей изучена соответствующая литература и получена следующая информация. Кроветворным в организме человека является только красный мозг, располагающийся, в основном, в губчатом веществе ребер и грудины. Миелоидная ткань (костный мозг) состоит из соединительнотканной стромы и свободных клеток крови на различных стадиях формирования. Костный мозг располагается в костной полости, и именно костная полость облегчает образование клеток крови и способствует их выходу в кровоток. В костной полости возможно накопление лишь ограниченного числа клеток крови. И по мере их формирования они вынуждены выходить в кровяное русло. Несмотря на то, что кость и заключенный в ней костный мозг представляют собой разные органые системы, их сосудистые сети во многих отношениях связаны друг с другом, а также с сосудами окружающих тканей. Костный мозг снабжается кровью посредством сосудов, проникающих через надкостницу в специальные отверстия в компактном веществе кости. Войдя в костный мозг, артерии разветвляются на артериолы, которые сначала

переходят в узкие капилляры, а затем продолжают в широкие тонкостенные, с щелевидными порами синусоиды. Их диаметр 10-14 мкм, в то время как диаметр капилляров 2-4 мкм. Из синусоидов кровь собирается в центральную вену. Синусоиды представляют собой истинный обменный отдел костного мозга, где кровоток часто бывает очень медленным из-за большой площади поперечного сечения. Их стенки тонкие и фрагментированы, так что просветы широко контактируют с внесосудистым пространством, с окружающей ретикулярной тканью костного мозга, где располагаются развивающиеся клетки крови. Таким образом, есть условия для практически свободного обмена между внутрисинусоидальным и внесосудистым пространством. Поэтому вновь образовавшиеся форменные элементы крови поступают в синусоиды без особых затруднений.

При этом не происходит спадения тонкостенных сосудов, хотя на них оказывается давление со стороны растущей популяции клеток крови. Это объясняется тем, что в синусоидах гидростатическое давление несколько повышено вследствие того, что диаметр выносящей вены меньше по сравнению с диаметром артерии. Вены костного мозга - тонкостенные, имеют большой диаметр, не снабжены мышечными волокнами, прикреплены к окружающей костномозговой паренхиме (зияют).

В процессе созревания гранулоциты депонируются в красном костном мозге, где их насчитывается в 3 раза больше, чем эритроцитов, и в 20 раз больше, чем гранулоцитов в периферической крови. При этом в костном мозге имеется большой пул зрелых лейкоцитов. Возможно, это объясняется тем, что время пребывания лейкоцитов в кровяном русле составляет около 8-12 часов, после чего они выходят из мелких сосудов в соединительную ткань, где в свою очередь живут около 6-12 часов. Для восполнения их в крови необходим их большой запас, большее накопление в костном мозге. В отличие от лейкоцитов эритроциты живут в крови в течение нескольких месяцев.

Таким образом, при травме грудной клетки с кровоизлияниями в мягкие ткани и переломами ребер происходит повреждение сосудов мягких тканей (в частности вен) и ткани костного мозга. Особенности строения сосудистой сети (общее кровоснабжение костной ткани, кроветворной ткани, а также окружающих мягких тканей), скопление клеток крови в синусоидах с преобладанием здесь гранулоцитов, готовых для поступления и поступающих в общий кровоток, окоლოსинусоидное расположение созревающих клеток белой крови и зрелых гранулоцитов дают основание считать, что в зону повреждения (кровоизлияния) в момент травмы и даже посмертно из сосудов и костного мозга может поступать и поступает то и или иное, иногда значительное, количество лейкоцитов. Среди них могут быть, а могут и отсутствовать незрелые клеточные формы. Это может создать впечатление развившейся лейкоцитарной реакции той или степени выраженности, а следовательно, дать ложное основание для установления прижизненности и давности исследуемого повреждения.

Чтобы правильно оценить лейкоцитарную инфильтрацию в области кровоизлияний в межреберных мышцах, особенно располагающихся в

области переломов ребер, и объективно использовать морфологические данные для высказывания о прижизненности и давности возникновения повреждения необходимо тщательно исследовать принадлежность и степень зрелости клеток, оценивать особенности их расположения (кучность или диффузность), отмечать особенности локализации клеточных инфильтратов (в массе эритроцитов, перифокально от кровоизлияний, на удалении от них), давать количественную оценку клеточным скоплениям.

Таким образом, в зоне повреждения (кровоизлияния) развиваются реактивные процессы в виде вазомоторных, воспалительных и пролиферативных реакций.

Первой реакцией на повреждение является сосудистая реакция в виде отека, спазма и полнокровия сосудов. Эти реакции не имеют определенной временной закономерности, и поэтому могут использоваться только в качестве критерия прижизненности кровоизлияния в зоне повреждения. Однако отсутствие данных реактивных изменений не дает право утверждать о посмертном происхождении данного кровоизлияния.

Для определения давности повреждения необходимо использовать наиболее информативные морфологические признаки, для развития которых необходимо определенное время. Такими морфологическими признаками являются клеточные реакции. Одна из первых клеточных реакций - лейкоцитарная реакция, на развитие которой необходимо около часа. В этот период в зоне кровоизлияния и вокруг него в просветах сосудов и периваскулярно определяются скопления лейкоцитов. Со временем интенсивность лейкоцитарной реакции возрастает. Ее динамика связана не только с количественным ее увеличением, но и с качественным изменением лейкоцитов. Они подвергаются распаду, что морфологически характеризуется пикнозом и рексисом клеточных ядер, с формированием клеточного детрита. Данная морфологическая картина выявляется через 6-8 часов с момента повреждения. Параллельно с распадом лейкоцитов, могут определяться морфологические признаки некроза мягких тканей.

Со временем количество распадающихся лейкоцитов увеличивается, и лейкоцитарная реакция идет на убыль. К концу первых суток лейкоциты исчезают из зоны повреждения. В этот период морфологическая картина может быть не информативной для определения давности.

Процесс повреждения всегда сопровождается процессами восстановления. Морфологическим признаком начала восстановительных процессов является макрофагальная реакция. Первые макрофаги появляются в лейкоцитарном инфильтрате примерно через 12 часов. После ухода лейкоцитов с поля реактивного воспаления, количество макрофагов увеличивается. На вторые-третьи сутки в зоне кровоизлияния и по его краю определяются сосуды с пролиферацией адвентициальных клеток и формированием фибробластов. Эти клетки в дальнейшем участвуют в процессе организации кровоизлияния.

На 3-4 день в зоне кровоизлияния при специальной окраске по Перлсу выявляются положительно окрашенные на железо макрофаги - гемосидерофаги. В их цитоплазме происходит образование

железосодержащего пигмента - гемосидерина. Появление в зоне повреждения гемосидерофагов свидетельствует о начале процесса резорбции (рассасывания) кровоизлияния.

В последующем окраска цитоплазмы гемосидерофагов становится более интенсивной, формируются внутриклеточные зерна гемосидерина. На третьей неделе (на 17-18 день поданным Н.А. Митяевой) макрофаг, содержащий пигмент, разрушается и гемосидерин в виде зерен, оказывается свободно лежащим в мягких тканях. Параллельно с процессом резорбции кровоизлияния, развивается процесс его организации. Первые морфологические признаки организации выявляются на 4-7 сутки, когда в зону повреждения определяется врастание фибробластов в виде клеточных тяжей, с последующим формированием соединительнотканых волокон.

Однако в течение реактивного процесса выявляются периоды очень сложные для определения давности травмы. Таких периодов несколько. Первый из них - с момента возникновения кровоизлияния до развития лейкоцитарной реакции. В этот период морфологическая картина не является информативной для определения давности, так как отсутствуют определяющие ее морфологические критерии. В этот период можно выявить сосудистые реакции в виде спазма, перифокальной гиперемии, лейкостазов в сосудах, расположенных в зоне кровоизлияния и по его краю, а также признаки отека. Данные морфологические признаки позволяют судить только о приживленности повреждения.

Вторым таким периодом является период от 2 суток по 3-4 сутки, когда лейкоцитарная реакция может уже отсутствовать, а признаки резорбции еще не наступили. При этом пролиферативная реакция может быть не выражена. Такая морфологическая картина имеет сходство со свежей травмой.

Следующим периодом, сложным для оценки давности возникновения повреждения, является период с момента появления гемосидерофагов до образования внеклеточного гемосидерина. Этот временной период растянут от 3-4 суток до трех недель. Это связано с тем, что качественное и количественное изменение гемосидерофагов не имеет достоверных временных критериев.

Таким образом, гистологический метод исследования помогает экспертам-танатоологам ответить на вопрос о давности возникновения повреждения. Однако для наибольшей достоверности ответа на данный сложный вопрос необходимо учитывать макроскопическую морфологическую картину, обстоятельства получения травмы и другую информацию, которой располагает эксперт-танатолог по каждому исследуемому случаю.

Таблица 1

Основные морфологические критерии оценки приживленности и давности повреждения в мягких тканях

Временные критерии	Морфологические признаки
С момента возникновения повреждения и в течение	Отек различной интенсивности, спазм сосудов, сменяющийся полнокровием.
К 1 часу с момента повреждения и позже	Появление лейкоцитов в зоне повреждения {начало лейкоцитарной реакции}.
К 6-8 часам и позже.	Количественное увеличение лейкоцитов, качественное их изменение в виде распада (пикноз и рексис клеточных ядер). Могут выявляться морфологические признаки
К 12 часам и позже	Увеличение количества распадающихся лейкоцитов с постепенным спадом интенсивности лейкоцитарной реакции.
Конец 1-х суток,	Лейкоциты исчезают из зоны повреждения.
Начало 2-х суток	Увеличивается количество макрофагов. Вокруг сосудов появляются фибробласты.
3-4 сутки и позже	Появление гемосидерофагов (начало резорбции).
4-7 день и позже	Врастание фибробластов в виде цепочек в зону повреждения (начало процесса организации).
На третьей неделе с момента повреждения.	Появление зерен внеклеточного гемосидерина.

Ссадины кожи

Могут быть поверхностными (отсутствие верхних слоев эпидермиса, или большей его части, когда сохраняются только клетки базального слоя), либо глубокими (полное отсутствие эпидермиса, а иногда и поверхностного слоя собственно дермы).

В оставшихся нижних участках эпидермиса ядра и границы клеток определяются с трудом из-за слабого окрашивания. Ядра деформированы,

имеют удлинённую форму и располагаются параллельно поверхности кожи. Иногда встречаются разрывы эпидермиса, а также наложения на поверхности ссадины небольших скоплений эритроцитов и частиц от предмета, причинившего повреждение. В собственно коже коллагеновые волокна гомогенизированы, сближены, эластические волокна утрачивают петлистое расположение и выпрямлены наподобие нитей. В поляризованном свете, или при исследовании препаратов в затемнённом поле зрения (с закрытой апертурной диафрагмой) обнаруживается двулучепреломление коллагеновых волокон. Нередко выявляются кровоизлияния: очаговые - в сосочковом и верхнем отделе сетчатого слоя дермы, и более распространённые на границе с подкожной жировой клетчаткой. В наиболее концентрированном виде гистологические изменения в тканях, в зависимости от давности ссадин и кровоподтеков, представлены В.К. Беликовым и М.Д. Мазуренко (1990).

Микроскопические изменения в ссадине в зависимости от давности ее образования:

1 ч - расширение капилляров, мелких артерий и вен, отек ткани, увеличение числа лейкоцитов с их пристеночным расположением. На границе ссадины с неповрежденной кожей эпидермис приобретает серовато-голубой оттенок, клетки слабо контурируются, ядра бледно окрашены;

2-3 ч - гемолиз крови в сосудах подсосочкового сплетения (в сосудах на границе сетчатого слоя и подкожной жировой клетчатки эритроциты обычного вида), эмиграция лейкоцитов;

3-4 ч - отек в собственно коже нарастает, но по-прежнему имеет ограниченное распространение (к 12-му часу появляется тенденция к его уменьшению), в сосудах большое количество нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов, набухание ядер эндотелиальных клеток сосудов подсосочкового сплетения (крупные, бледно окрашенные местами пикнотичные);

6ч - ядра сохранившегося эпидермиса сморщиваются, слабо прокрашиваются: гематоксилином, становятся слабо различимыми и эпидермис выглядит в , виде сероватой полоски. На границе с неповрежденной кожей по-прежнему сохраняется вытянутость ядер клеток эпидермиса. Отмечаются периваскулярные скопления сегментоядерных лейкоцитов, лейкоцитарная инфильтрация в периферических отделах повреждения;

12 ч - лейкоцитарная инфильтрация выражена не только по периферии, но и в зоне повреждения, отдельные лейкосты;

1 сут - выраженный лейкоцитарный вал на границе повреждения, выявляются повреждения коллагеновых и нервных волокон;

2 сут - лимфоидные инфильтраты, пролиферация клеток росткового слоя эпидермиса;

3-5 сут - макрофагальная реакция с появлением фибробластов, пролиферация клеток росткового слоя в виде эпителиальных тяжей;

7-10 сут - дефект эпидермиса замещен несколькими слоями эпителиальных клеток;

10-15 сут - эпидермис на месте бывшего дефекта имеет обычный вид.

Стадии заживления ссадин различной давности и локализации (по Кулику А.Ф., 1985 представлены в таблице № 2.

Таблица №2

Стадии заживления ссадин в зависимости от локализации

№ п/п	Стадии заживления ссадин	Локализация ссадин				
		шея	спина	верхние конеч-ти	нижние конеч-ти	живот
1	Корочка расположена на уровне интактной кожи	Через 2 ч	К концу 1-х суток	К концу 1-х- началу 2х суток	К концу 1-х суток	К началу 3-х суток
2	Корочка возвышается над уровнем неповрежденной кожи	К концу 1 -х суток	На 2-е сутки	К началу 3-х суток	3-4 сутки	4-е сутки
3	Корочка отслаивается по периферии ссадины	4-е сутки	5-е сутки	На 6-е сутки и заметно только под лупой	7-8 сутки	Конец 8х суток
4	Отдельные части корочки опадают	К концу 5-х суток	6-е сутки	К концу 8-х суток	9-е сутки	10-е сутки
5	Корочка полностью отпадает	6-е сутки <i>и</i>	8-е сутки	9-е сутки	10-11 сутки	12-е сутки
6	Следы от ссадины исчезают	Через 12-13 суток	Через 12-15 суток	Через 14-15 суток	Через 17-18 суток	Через 18-20 суток

Таблица №3

**Микроскопическое определение давности ссадин
(по данным Громова А.П., Науменко В.Г., 1977)**

Данные микроскопического исследования	Давность
В сосочковом слое отмечается быстро нарастающая гиперемия капилляров, количество лейкоцитов в них увеличивается. Капиллярные геморрагии почти не встречаются	30-40 минут
Быстрое нарастание количества периваскулярно расположенных лейкоцитов	К 3-м часам
Лейкоциты встречаются как в толще травмированных тканей, так и вокруг них. Одновременно с этим развивается отек собственно кожи* Тромбоз сосудов обычно не наблюдается. При глубоких ссадинах происходит изменение тинкториальных свойств коллагеновых волокон, их набухание, может наблюдаться некроз	К 6-ти часам
На фоне продолжающейся картины асептического воспаления корочка уплотняется, принимает темно-бурый цвет и возвышается над уровнем неповрежденной кожи	К концу 1 -х суток
Начинается пролиферация клеток росткового слоя	2-е сутки
От клеток росткового слоя отходят множественные эпителиальные тяжи, проникающие под омертвевшие слои кожи с последующим их отторжением. Проявления экссудативного воспаления обычно снижаются, появляются клетки макрофагального типа и фибробласты	3-4 сутки
При условии отсутствия вторичного инфицирования, корочка отпадает. Обнаженная поверхность относительно ровная, покрыта тонким слоем эпидермиса	7-12 сутки
Эпидермис и собственно кожа при ЕІ и имеют обычный вид. В местах крупных кровоизлияний и участков некроза собственно кожи могут возникать небольшие разрастания соединительной ткани.	К концу 10-15 суток

**Давность ссадин по макро и микроскопическим изменениям (по
Беликову В.К., Мазуренко М.Д., 1990)**

Сроки	Макро и микроскопические изменения
1 час	Макро - поверхность западает, влажная, красная. Микро - расширение капилляров, мелких артерий и вен, увеличение количества лейкоцитов с их пристеночным расположением, отек.
6 часов	Макро - поверхность западает, красная, подсыхающая, Микро - периваскулярное скопление лейкоцитов, лейкоцитарная инфильтрация по периферии.
12 часов	Макро — поверхность западает, буро-красная, подсыхающая. Микро - лейкоцитарная инфильтрация выражена и в зоне повреждения, отдельные лейкостазы.
1 сутки	Макро - поверхность на уровне кожи, сухая, красно-бурая. Микро - лейкоцитарный вал на границе повреждения, повреждение коллагеновых волокон, изменение нервных волокон.
2 сутки	Макро “ красно-бурая корочка выше уровня кожи. Микро - лимфоидные инфильтраты, пролиферация клеток росткового слоя эпидермиса,
3-5 сутки	Макро - бурая, выше уровня кожи отслаивающаяся корочка. Микро - макрофагальная реакция с появлением фибробластов, появление эпителиальных тяжей.
7-10 сутки	Макро - отпадающая бурая корочка. Микро - дефект эпидермиса замещен несколькими слоями эпителиальных клеток.
10-15 сутки	Макро - на месте ссадины розовое пятно. Микро - эпидермис на места бывшего дефекта имеет обычный вид.

Кровоподтеки (кровоизлияния в кожу и подкожную жировую клетчатку)

1 час - выраженная инфильтрация хорошо контурированными и ярко окрашенными эритроцитами подкожной клетчатки и нижних слоев кожи. В центре геморрагического фокуса эритроциты расположены густо, плохо контурируются и могут превращаться в оранжевого цвета зернистую массу. В крупных кровоизлияниях при специальных методах окраски можно выявить нити фибрина. Отек тканей выражен неодинаково. В зоне отека границы между кожей и подкожной жировой клетчаткой выражены нечетливо. При слабом отеке промежутки между волокнами кажутся пустыми, при сильном - между ними определяется гомогенная масса, окрашиваемая эозином в бледно-розовый цвет. В сосочковом слое и

эпидермисе отека не наблюдается. Впервые минуты капиллярная гиперемия вокруг кровоизлияния. На некотором отдалении от кровоизлияния встречаются спастически сокращенные артерии. В сосудах только эритроциты, через 30-40 минут в сосудах среди эритроцитов появляются клетки белой крови; к 60-й минуте лейкоциты в небольшом количестве обнаруживают периваскулярно, а затем по краю кровоизлияния и в самом кровоизлиянии. Идет постепенное, нарастание реактивного лейкоцитоза (до 6-го часа).

6 часов - выщелачивание эритроцитов в кровоизлиянии, их распад, выпадение кровяного пигмента, наличие лейкоцитов в кровяном сгустке по краю кровоизлияния и очаговые скопления их периваскулярно;

12 часов - фагоцитоз лейкоцитами продуктов распада крови, скопление клеток белой крови по краю кровоизлияния и в его толще с образованием фокусов клеточных сгущений разрежений; постепенное уменьшение гиперемии с нарастанием лейкоцитоза в сосудах;

1 сутки - завершение распада и выщелачивания эритроцитов по краю кровоизлияния и его толще, появление единичных тучных клеток и гистиоцитов, метгемоглобина. К концу суток выявляются фибробласты в незначительном количестве;

2 суток - выраженная макрофагальная реакция, в основном клетками гистиоцитарного ряда по краям кровоизлияния, увеличение количества фибробластов (к концу 2-х суток вначале вокруг сосудов, а затем на границе кожи и подкожной жировой клетчатки. Внутриклеточное образование зернистого пигмента, содержащего железо - гемосидерина.).

Примечание: точность определения давности причинения ран в первые 6 часов колеблется в пределах 1-3 часа; в последующие 7-17 ч - до 5-6 ч. При давности 20-30 ч до 10 часов.

Сосудистая реакция в раневом воспалении протекает в три фазы: первая (фаза вазоконстрикции) - продолжается от нескольких секунд до 5 минут и выражается в спазме сосудов. Вторая (фаза ранней дилатации) - достигает максимума через 10 минут после травмы и характеризуется проницаемостью сосудов для белков плазмы. Третья (фаза поздней дилатации) - длящаяся несколько часов, гистологически характеризуется капиллярным полнокровием поверхностного и глубокого сосудистых сплетений дермы, подкожной жировой клетчатки и подкожной мышцы. Отмечается расширение кровеносных сосудов дермы и гиподермы заполненных отчетливо контурирующимися элементами крови. Края ран, причиненных тупыми предметами, пропитываются кровью в краевых участках на отдалении, в отличие от «острых» (причиненных острыми предметами) ран, где пропитываются кровью только краевые участки.

Клеточная реакция гистологический выявляется через 2-6 часов и проходит в три фазы: первая (лейкоцитарная фаза) - через 30-40 мин после повреждения в сосудах микроциркуляторного русла отмечается краевое стояние лейкоцитов. К 3-4 часам количество лейкоцитов достигает 50-60 в

поле зрения, а к 12-16 часу образуется лейкоцитарный вал. Ширина этого лейкоцитарного вала увеличивается с возрастанием массы травмирующего предмета. Количество лейкоцитов достигает максимума к концу первых суток. Затем их число постепенно снижается. Вторая (макрофагическая фаза воспаления) - происходит очищение зон раны, наблюдается увеличение количества макрофагов с максимумом на 3-и сутки с последующим уменьшением. Третья (фибропластическая фаза) - начинается на 3-4 сутки, выражается в появлении фибробластов, формирующих грануляционную ткань. Количество фибробластов достигает своего максимума к 5-м суткам, постепенно снижается к 15-м суткам.

Процесс заживления заканчивается эпителизацией раны одновременно с ее грануляцией. В основе восстановления эпителия лежат мобилизация* миграция эпителиоцитов краев раны, их деление и дифференцировка. Деление кератиноцитов начинается после окончания их миграции и закрытия эпителием грануляционной ткани. В основном, митотически делящиеся клетки регистрируются через 3-е суток, их количество достигает максимума к 5-м сут. и постепенно убывает к 7-м суткам. При этом происходит нарастание толщины эпидермиса, максимально проявляющееся на 5-е сутки. С 3-х суток начинается дифференцировка эпидермиса: уплощение поверхностных клеток (3-и сутки), появление гранул кератогиалина (5-е сутки) и рогового слоя (7-е сутки).

Одним из вспомогательных методов определения давности и прижизненности кровоизлияний является методика окраски препаратов Marcuis Scarlet Blue (MSB) предложенная Lendrum и соавт. (Великобритания) в модификации Д.Д. Зербино и Л.Т.Л. Лукаевич (Львов), которая дает возможность условного определения времени коагуляции фибрина.

В модифицированной методике ряд красителей заменен. Так Brilliant Crystal Scarlet 6R заменена на кислотный красный, Marcuis Gel low - на оранжевый G, Soluble Blue - на водный голубой (ОКГ). Цвет фибрина при окраске зависит от его физико-химической структуры. Изменения фибрина во времени приводят к различиям его взаимодействия с красителями и как следствие к изменению окраски. Спектр окраски фибрина по методике ОКГ (MSB) включает оранжевый, красный и фиолетовый цвета и переходные оттенки. Предполагается, что фибрин, который приобретает оранжевый цвет, является «молодым» (0-6 ч). При более длительном существовании фибрина в организме он приобретает красный цвет - «зрелый» фибрин (6-24 ч) с наличием оттенков от оранжево-красного (6-12 ч), через ярко-красный (12-18 ч), до красно-фиолетового (18-24 ч). «Старый» фибрин (более 24 ч) фиолетового цвета, который впоследствии переходит в серо-голубой (более 48 ч). Такое деление весьма условно, так как (по мнению авторов методики) зависит от фиксации, сроков приготовления красок, лечебных мероприятий, которые были использованы у больного.

Пропись методики ОКГ (MSB):

Целестиновый синий	7 мин
Вода	3-5 мин
Гематоксилин	3-5 мин
Вода	5 мин
Оранжевый «G»	5 мин
Вода дистиллированная	4 мин
Кислотный красный	7-10 мин
Вода дистиллированная	4 мин
Фосфорновольфрамовая кислота	10 мин
Вода дистиллированная	4 мин
Водный голубой	5-7 мин
Вода дистиллированная	4 мин
Спирт	1 мин
Карбо-ксилол	4 мин
ИК си лол	4 мин

Результат: фибрин – от желто-оранжевого до серо-голубого (в зависимости от «возраста»).

Приготовление растворов красителей:

- 1. Раствор кислотного красного 2С: кислотный красный 2С - 0,5 г, ледяная уксусная кислота - 1,25 мл, дистиллированная вода - 48,75 мл.
- 2. Раствор водного голубого: водный голубой - 0,25 мл, ледяная уксусная кислота - 0,5 мл, дистиллированная вода - 49,5 мл.
- 3. Раствор целестин о во го синего: 2,5 г железных квасцов растворить на ночь при комнатной температуре в 50 мл дистиллированной воды. Добавить 0,25 г целестинового синего и кипятить 3 мин. Охладить и профильтровать, добавить 1 мл глицерина. Сохраняется до года.

Таблица 6

Метод	«Возраст» фибрина			Соединительная ткань
	«молодой»	«зрелый»	«старый»	
ОКГ	Желтый	Красный	Переход от красного к голубому	Синий
ПКС	Красный	Красный	Синий	Темно-синий
КСЧ	Красный	Синий	Сине-черный	Бледно-голубой

ОКГ-оранж-красный-голубой
ПКС-пикриновый красны й-синий

КСЧ- красный-сине-черный

Кислотный красный 2С (кислотный красный 14, кармизин, нафтиловый красный GR),

Кислотный желтый светопрочный 9 кислотный желтый II, феналановый желтый G, светопрочный желтый).

Кислотный сине-черный (кислотный черный I, нафтоловый сине-черный В).

Методика ОКГ №1.

Срезы депарафинировать, промыть в дистиллированной воде. Целестиновый синий -5 минут. Вода водопроводная -1 минута. Гемалаун Майера -5 минут. Вода водопроводная -1 минута. Дифференцировка в 0,25% HCl на 70 гр. спирта. Вода водопроводная -1 минута. Вода дистиллированная -1 мин. Окрасить в 1% растворе кислотного красного 2С на 2,5% водном растворе уксусной кислоты - 10 минут. Фосфорновольфрамовая кислота 1% - 5 минут. Вода дистиллированной -5 минут. 0,5 % водный голубой на 1% водном растворе уксусной кислоты -10 минут. Промыть в дистиллированной воде. Спирты, ксилолы, бальзам. Приготовление растворов красителей для ОКГ:

1. 0,25% HCl в 70 гр. спирта: 96° спирт - 100 мл, вода дистиллированная - 39 мл, HCl концентрированная - 0,35 мл.
2. Раствор марциуса желтого (или оранжевого): 69° спирт - 50 мл, марциус желтый можно заменить на марциус оранжевый равным соотношением.
3. Раствор кислотно-красного 2С: кислотный красный 2С - 0,5 г, ледяная уксусная кислота (ЛУК) — 125 мл, вода дистиллированная 75 мл.
4. Раствор водного голубого: водный голубой - 0,25 г, ледяная уксусная кислота (ЛУК) - 0,5 мл, дистиллированной воды - 49,5 мл.
5. Раствор целестин о во го синего: 2,5 г железных квасцов растворить на ночь при комнатной температуре в 50 мл дистиллированной воды. Добавить 0,25 г. целестинового синего и кипятить 3 минуты. Охладить и профильтровать, добавить 1 мл глицерина. Сохраняется до 1 года.

Методика ОКГ № 2. (С-Петербург, Сафрай А.Е.)

Депарафинизация, довести до воды водопроводной, гематоксилин 3-15 минут, вода водопроводная - 10-158 минут, дистиллированная вода - 1 минута, окрасить срезы в растворе Марциуса желтого и оранжевого G — 2 минуты, вода дистиллированная - 1 минута, кислотно - красный - 10 минут, вода дистиллированная - 1 минута, фосфорно-вольфрамовая кислота - 5 минут, вода дистиллированная -1 минута, **водный голубой 0,5%** - 10 минут, **вода** дистиллированная -1 минута, **спирты, ксилолы, заключение в бальзам.** Результат: Нити фибрина окрашиваются от красного (всех оттенков) до серого-голубого (**в зависимости от возраста**). Соединительная ткань в ярко-голубой цвет.

Оранжевый цвет - 0-6 часов.

Оранжево-красный - 6-12 часов.

Зрелый красный - 6-24 часа.

Ярко-красный - 12-18 часов.

Фиолетовый - 18-24 часа (старый фибрин - более 24 часов).

Серо-голубой - более 48 часов.

Приготовление реактивов ОКГ по методике № 2. Оранжевый G: 50 мл 96°спирта + фосфорно-вольфрамовой кислоты + 0,25г оранжевого G. Кисотно-ярко-красный: 1% кисотно-красного на 2,5% водном растворе уксусной кислоты (2,5 мл. + 1 г кисотно-красного + 97,5 дистиллированной воды). Водный раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты: 100 мл (0,1) фосфорно-вольфрамовой кислоты + 100 мл дистиллированной воды. 0,5 % водно-голубого + 1 мл уксусной кислоты + 99 мл дистиллированной воды.

Определение «возраста» фибрина по методике MSB (Marcius Scarlet Blue) или ОКГ (оранжевый-красный-голубой)

«Молодой» фибрин: желто-оранжевый (0 - 6 часов);

«Зрелый» фибрин: оранжево-красный (6 - 12 часов), ярко-красный - (12 - 18 часов), красно-фиолетовый - (18 - 24 часа);

«Старый» фибрин: фиолетовый (более 24 часов), серо-голубой - (более 48 часов), эритроциты - оранжевые, соединительная ткань - синяя, мышечная ткань - фиолетовая.

Примечание: в методике ОКГ заменены:

Brilliant Crystal Scarlet 6R- на кислотный красный

Marcius Gellow - на оранжевый G

Soluble Blue - на водный голубой (химическая формула отечественных красителей соответствует оригинальным зарубежным).

Забор материала

Необходимо отметить, что забор материала для гистологического исследования необходимо производить как можно раньше после наступления смерти.

При изъятии трупного материала в области ссадины, участок кожного покрова вырезают, захватывая не только место повреждения, но и окружающие неповрежденные ткани в пределах 1-1,5 см. от края.

Повреждения на слизистой оболочке изымают с подлежащими тканями. Для предохранения объектов от деформации, перед фиксацией, необходимо промокнуть ткани, освобождая их от крови и прикрепить к картонной подложке (желательно маркировка краев повреждения). Трупный материал из области кровоизлияния следует изымать не только из места наибольшего скрепления в крови, но и на границе с неизменной тканью. Участок ткани забирается с таким, расчетом, чтобы по возможности исключить влияние на микроскопическую картину трупных пятен и гипостазов. Края стенок раневого канала следует изымать совместно с неповрежденными кожными покровами. При глубокой ране аналогично изымают и участок мышечной ткани. Кусочки вырезаются острым ножом, пользоваться ножницами не рекомендуется во избежание размятия тканей. Длина и ширина объектов может быть произвольной, но толщина – не более 1-1,5 см. Объем

фиксирующей жидкости должен превышать объем кусочков не менее чем в 10 раз. Необходимо следить, чтобы кусочки в растворе не слипались и не прилипали ко дну емкости. Для этого на дно кладут слой ваты, и раствор периодически взбалтывают. Целесообразно произвести смену фиксирующего раствора в конце рабочего дня. При изъятии нескольких кусочков одной и той же ткани каждый из них маркируется этикеткой из материала, устойчивого к действию фиксирующей жидкости (фотобумага). Надписи на этикетках делают графитовым карандашом.

Для оценки давности повреждения необходимо комплексный подход, основанный на использовании всех имеющихся в распоряжении медицинского судебного эксперта данных (обстоятельств дела, результатов судебно-медицинского исследования трупа, лабораторных данных, в том числе и гистологических).

Таблица №7

Морфодинамика реактивных изменений при повреждении, сопровождающимся кровоизлиянием (по Белянину В.Л., 1996)

Длительность посттравматического периода	Морфодинамика реактивных изменений
Первый 10 мин	Спазм артериол
Через 10 мин	Феномен краевого стояния лейкоцитов в сосудах, эмиграция лейкоцитов и скопление их вокруг сосудов
Через 1 час	Скопление лейкоцитов (очаговая реакция)
Через 3 часа	Укрепление скоплений лейкоцитов около сосудов (в очаге до 60 нейтрофилов)
Через 6 часов	Удвоение их количества
С 3 до 6 часов	Распад лейкоцитов (это отличительный показатель воспалительного процесса от воспалительной реакции; при 25-30% распадающихся лейкоцитов – воспалительный процесс выражен).
Через 12-14 часа	Слабое окружение лейкоцитов
Через 18-24 часа	Обнаружение макрофагов
Через 48 часа	Появление групп макрофагов и первых лимфоцитов
Через 72 часа	Лимфоциты, плазмоциты, начало появления фибробластов, сосудистых почек, формирование капилляров
С 4-го дня	Гемосидерофаги
4-6 дня	Качественных изменений реактивных процессов не отмечается («немые дни»)
7-й день	Развитие соединительной ткани, капилляров, формирование молодой грануляционной ткани,

	много фибробластов, фиброцитов нет, появление внеклеточного гемосидерина.
8-14 дни	«Немые дни»
14 день	Коллагенизация и фиброзирование очага воспаления
Через 1 мес	Формируется рубец

Таблица №8

Сводная таблица характера течения воспалительной реакции в кровоподтеках в зависимости от длительности посттравматического периода
(по Воробьеву В.НГ., Шершевскому А.Л., 1998 г.)

Длительность посттравматического периода	Характер течения воспалительной реакции
От нескольких минут до 3-х часов	Выход единичных лейкоцитов за пределы сосудистой стенки
От 3 до 6 часов	Более интенсивный выход лейкоцитов за пределы сосудистой стенки. Лейкоцитарные инфильтраты в виде «муфт» вокруг сосудов. От инфильтратов отходят «дорожки» с формированием на границе поврежденной и неповрежденной ткани скоплений лейкоцитов, напоминающих лейкоцитарный вал. Количество клеток гистиофиброцитарного ряда и лейкоцитов увеличиваются.
От 6 до 12 часов	Пролиферация фибробластов и клеток сосудистых стенок; гемолиз эритроцитов; обширные лейкоцитарные инфильтраты; начальные признаки распада лейкоцитов в области кровоизлияния и лейкоцитарного вала; диффузная гистиофиброцитарная инфильтрация; появление единичных макрофагов, тучных клеток
От 12 до 24 часов	Выход лейкоцитов в межтканевую ткань с образованием максимальной диффузной лейкоцитарной инфильтрации геморрагических фокусов появляются периваскулярные лимфо- и гистиоцитарные инфильтраты; обнаруживается большое количество макрофагов и тучных клеток
1-3 суток	Лейкоцитарная инфильтрация может или нарастать, или уменьшаться с образованием по периферии кровоизлияния подобия лейкоцитарного вала; в большом количестве макрофаги и тучные клетки; пролиферация фибробластов; к концу 3-х суток появляются

	сидерофаги
3-5 сутки	Уменьшение количества лейкоцитов. Следы воспалительной реакции выявляются в основном в очагах геморрагических фокусов. К концу 5-х суток в цитоплазме макрофагов обнаруживается гемосидерин.

Таблица №9

**Изменения, выявленные при микроскопическим исследованием
травмированных мягких тканей в различные сроки
посттравматического периода**
(по Громову А.П., Науменко В.Г., Беликову В.К., Мазуренко М.Д., 1990 г)

Длительность посттравматического периода	Микроскопическая картина
К концу 1-го часа	На фоне начинающегося отека в травмированных тканях определяется значительное расширение капилляров, мелких артерий и вен. Увеличивается пристеночное расположение лейкоцитов и просветах расширенных сосудов.
Ко 2-му часу	Эритроциты начинают выщелачиваться и распадаться, наблюдается выпадение кровяного пигмента. При этом определяется периваскулярное скопление хорошо окрашенных лейкоцитов с преобладанием в них сегментоядерных клеток (по отношению к лимфоидным). Лейкоциты начинают проникать в кровяной сверток, конфигурация их ядер и цитоплазмы определяются четко.
К 3-му часу	Нарастает отек кожи, обусловленный повышенной проницаемостью кровеносных и лимфатических сосудов, возникают массивные плазмо- и лимфоррагии. По краю кровоизлияния начинает определяться лейкоцитарный вал виде фокусов клеточных сгущений и разряжений, обусловленный скоплением клеток белой крови по краю кровоизлияния. Продукты распада крови распадаются, выделяя при этом протеолитические ферменты, фастично фагоцитируются лейкоцитами. Дезинтеграция крови ускоряется.
К 6-8 часу	Лейкоцитарная инфильтрация достигает максимальной степени, выражена как перифокальная, так и в самом кровоизлиянии. Наблюдаются лейкостазы. В результате

	увеличения числа гистиоцитов и появления единичных тучных клеток активируется макрофагальная функция. В макрофагах кровяной пигмент подвергается дальнейшим превращениям с образованием метгемоглобина.
Конец 1-х суток	Происходит дальнейшая резорбция излившейся крови, наибольшее участие в которой принимают макрофаги. В их цитоплазме отмечается накопление кислых мукополисахаридов. Кровоподтек к этому времени приобретает сине-фиолетовый цвет за счет интенсивного превращения пигмента крови в метгемоглобина. Поврежденные коллагеновые волокна по Маллори окрашиваются в буро-желтый цвет (вместо обычного голубого). Изменения в нервных волокнах увеличиваются.
К 3-м суткам	Экссудативное воспаление ослабевает. Образуется лимфоидные инфильтраты. Вокруг кровоизлияния выражена макрофагальная реакция, в которой наряду с гистиоцитами важную роль играют фибробласты, причем в эти сроки в основном проявляется их фагоцитарная и ферментативная функция.
В последующие 3-6	Происходит дальнейшее превращение гемоглобина с образованием биливердина, что обуславливает появление зеленого оттенка кровоподтека
На 5-12 сутки	В макрофагах и внеклеточно появляется гемосидерин, наибольшее количество, которого отмечается к 15-17 дню. Кровоподтек приобретает желтую окраску
	В последующем происходит постепенное удаление этого пигмента по лимфатическим сосудам, окраска кровоподтека бледнеет.

Таблица №10

Давность повреждений в мягких тканях и коже (по Челнокову)

0,5-1 час	Очаговая гиперемия, парез сосудов. В крупных сосудах отмечается спазм.
1,5-2 часа	Лейкоциты в сосудах.
3 часа	Краевое стояние лейкоцитов. Периваскулярная миграция лейкоцитов (до 30-40 в поле зрения при большом увеличении).
3-6 часа	Увеличение лейкоцитарной инфильтрации (40-60

	иногда 110-115 лейкоцитов и лимфоцитов) распад лейкоцитов.
После 6-12 часов – конец 1х суток	Лейкоцитов от 100 до 150-300
Несколько суток	Лимфоциты, единичные лейкоциты, гемосидерин внутриклеточные.
4-е сутки	Гемосидерин.

Таблица №11

Давность кровоподтека по макро и микроскопическим изменениям

Сроки	Макро и микроскопические изменения
1 час	Макро – красно-багровая припухлость. Микро – выраженная инфильтрация конструированными и ярко окрашенными эритроцитами подкожной клетчатки и нижних слоев кожи.
6 часов	Макро – сине-багровая припухлость.
12 часов	Микро – выщелачивание эритроцитов, их распад, выпадение кровяного пигмента, лейкоциты по краю кровоизлияний.
1 сутки	Макро – сине-багровая припухлость. Микро – завершение распада и выщелачивания эритроцитов, появление тучных клеток, гистиоциты, метгемоглобин.
2 сутки	Макро – буро-зеленоватое окрашивание по краям. Микро – выражена макрофагальная реакция гистиоцитарными клетками по краям кровоизлияния.
3-5 сутки	Макро – буровато-зеленоватое окрашивание по краям. Микро –наряду с гистиоцитами появляются фибробласты, выявляется биливердин.
7-10 сутки	Макро – багрово-синие окрашивание в центре, зеленоватое в средней зоне, желтоватое по периферии. Микро – превалирование фибробластов, выявляется гемосидерин.
10-15 сутки	Макро – восстановление окраски кожи. Микро – на бывшее кровоизлияние указывает гемосидерин внеклеточно и в макрофагах.

Признаки прижизненности (кожа)

Полнокровие	Минуты, непосредственно после повреждения
Отек	1 час
Фибрин	1 час
Сосуды пусты	Кровоизлияние сразу, 1 час
Распад L	3 час-30 часов
Изменение формы эритроцитов	Через 3 часа сморщивание
Деструкция, декомпозиция, некроз	3 часа. 1 час, 6 часов некробиоз
Некробиоз	1-2 часа
Гиперхроматоз ядер эпидермиса	1-2 часа
Макрофаги	10 часов
Регенерация	12-17 часов
Фибробласты	20 часов 15 (?) гистиоциты
Пролиферация эндотелия	20 часов
Новообразование капилляров	30 часов
Лизис эритроцитов	4 часа
Грануляция ткани	72 часа
Гемосидерин	24 часа в клетках
Гематойдин	неделя

Таблица №13

Признаки прижизненности повреждений, выявляемые визуальным исследованием

Связанные с активным дыханием	Связанные с активной сердечной деятельностью
Аспирация крови из повреждений соответствующей локализации.	Наружное кровотечение; признаки вытекания крови под давлением.
Копоть в дыхательных путях, в пазухе лобной и основной костей.	Вид кровоподтека на разрезе: массивность, несминаемость крови.
Ожоги дыхательных путей.	Кровоизлияния в межмышечные пространства, под фасции мышц.
Жидкость, сыпучее вещество в пазухе основной кости.	При расчленении трупа: кровоизлияния в местах прикрепления мышц.
При повреждениях сообщающих воздухоносные пути легких с клетчатой – подкожная эмфизема.	При повреждениях соответствующих сосудов – воздушная эмболия.
	Малокровие органов и тканей, пятна. Минакова под внутренней оболочкой сердце.

Таблица №14

Признаки прижизненности повреждений, выявляемые в зоне повреждения и вне ее лабораторными методами исследования

Микроскопия	Биохимия, спектральные методы
Геморрагические фокусы и широкое рассеивание эритроцитов в тканях.	Увеличение гистамина и серотонина в зоне повреждения.
Более интенсивная окраска эритроцитов.	Появления в крови и моче миоглобина.
Эмболия воздушная жировая, паренхиматозная, инородными частицами.	Нарушение углеводного обмена в поврежденной мышечной ткани.
Наличие фибрина в очагах кровоизлияний.	Изменение содержание белка в скелетных мышцах.
Краевое стояние лейкоцитов в сосудах.	Креатинин и креатин в травмированных мышцах.
Артериальная, капиллярная гиперемия.	Свертывающая и фибринолитическая активность крови.
Образование артериальных и капиллярных тромбов.	Перераспределение во внутренних органах макро- и микроэлементов.
Перифокальный отек, некроз клеток, другие воспалительные явления.	

РЕКОМЕНДАЦИИ:

Для проведения судебно-гистологического исследования мягких тканей и получения наиболее достоверной информации микроскопического исследования необходимо следующее: судебно-медицинскому эксперту следует правильно оформить направление на судебно-гистологическое исследование, при этом обязательно указать всю имеющуюся информацию – обязательства дела, сведения о давности наступления смерти; указать характер оказанной медицинской помощи, время пребывания в стационаре, полный клинический и патологоанатомический диагнозы, описать макроскопическую картину повреждения мягких тканей с указанием предположительной давности кровоизлияния (кровоподтека). Правильно произвести забор аутопсийного материала для гистологического исследования. Для этого кусочки мягких тканей вырезают в центре кровоизлияния и на его границе с неизменной тканью (по одному кусочку). При наличии травматического кровоизлияния в зоне трупного пятна обязательно отразить эти сведения в направлении. Кусочки мягких тканей с кровоизлияниями различной локализации необходимо маркировать.

При оценке микроскопических данных и их интерпретации судебно-медицинскими гистологами и экспертами-таналогами необходимо учитывать следующее: все выводы или заключения судебно-гистологического исследования о давности повреждения и мягких тканях носят

предположительный характер. В основе оценки давности повреждения мягких тканей лежит выявление реактивных изменений в зоне кровоизлияния. При этом следует ориентироваться на минимальное время, необходимое для развития того или иного морфологического признака. Наличие в зоне повреждения таких реактивных изменений как отек, спазм или полнокровие сосудов, а также инфильтрирующий характер самого кровоизлияния, позволяют высказаться только о его прижизненности. Наиболее информативными признаками для определения давности повреждения (кровоизлияния) являются клеточные реакции. При отсутствии клеточных реакций на кровоизлияние морфологическая картина не информативна для определения его давности. Наличие лейкоцитарной реакции на кровоизлияние следует оценивать в количественном отношении. Небольшая инфильтрация лейкоцитами (десяток клеток) перифокальной зоны кровоизлияния дает возможность высказаться о слабой лейкоцитарной реакции, для развития которой необходимо около часа. Увеличение количества лейкоцитов до десятков и сотни в поле зрения предполагает давность повреждения в несколько часов. При выявлении в лейкоцитарном инфильтрате распадающихся лейкоцитов, что микроскопически характеризуется кариопикнозом и кариорексисом, распадом цитоплазмы и формированием клеточного детрита, можно предполагать давность кровоизлияния в 6-8 часов и более. В это же время могут выявляться морфологические признаки некроза мягких тканей в зоне повреждения. Дальнейшее развитие реактивного процесса в мягких тканях может происходить при незначительном количестве лейкоцитов или при их отсутствии как следствие их распада. В этот период морфологическая картина также может быть неинформативной для ответа на вопрос о давности повреждения и напоминать микроскопическую картину начальных реакций. В тех случаях, когда лейкоцитарная реакция слабая и представлена распадающимися лейкоцитами, или уже отсутствует, но при этом отмечается пролиферативная реакция в виде появления макрофагов со светлой цитоплазмой и фибробластов вокруг сосудов, можно предполагать давность повреждения около суток и более. Появление в зоне кровоизлияния гемосидерофагов свидетельствует о процессе резорбции, начинающийся на 3-4 день с момента повреждения. На 4-7-е сутки в зоне повреждения выявляется вращение фибробластов в виде клеточных тяжей в кровоизлияние, что указывает на начало его организации. Выявление в зоне кровоизлияния при окраске по Перлсу гемосидерофагов различной степени зрелости (со светлой и интенсивно окрашенной цитоплазмой), а также наличие внутри клеточно и внеклеточно расположенных зерен гемосидерина, свидетельствуют о выраженном процессе резорбции, который обычно отмечается на 3 неделе с момента возникновения повреждения (на 17-18 день по данным Н.А. Митяевой). Если в зоне кровоизлияния, с лейкоцитарной реакцией или без нее, выявляются глыбки внеклеточного гемосидерина, можно предположить, что данное кровоизлияние возникло на фоне уже ранее резорбировавшегося кровоизлияния.

Перечень использованных источников:

1. «Инструкция по организации и производству судебно-медицинской экспертизы» (Приказ МЗ РК от 20 мая 2010г. № 368) - Астана, 2010
2. Г. А. Меркулов. Курс патолого гистологической техники. — 1967.
3. Микроскопическая техника: Руководство / Под редакцией Д.С.Саркисова и Ю. Л .Перова. — М.: Медицина, 1996. ISBN 5-225-02-820-9).
4. Струков А.Н. // Патологическая анатомия. - М.: Медицина. - 1979.
5. Хем А., Кормак Д. //Гистология. - М.; Мир. - 1982.
6. Науменко В.Г., Митяева Н.А. // Гистологический и цитологический методы исследования в судебной медицине, - М: Медицина. - 1980.
7. Струков А.И.> Серов В.В., Саркисов Д,С. if Общая патология человека, т.2.- М.: Медицина. - 1982.
8. Крюков В.Н. // Механизмы и морфология повреждений мягких тканей. т. 6. – Новосибирск; Наука. – 2001.
9. Попов В.П. // О методологии установления давности возникновения повреждений – С-Петербург. – 1996.