

**КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра судебной медицины

Л.Г. Александрова, В.А. Спиридонов

**ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ СУДЕБНО-
МЕДИЦИНСКОЙ ОЦЕНКИ ИНОРОДНЫХ ЧАСТИЦ
ПРИ ОТРАВЛЕНИЯХ ОПИОИДАМИ**

Учебное пособие

Для врачей-ординаторов по специальности
31.08.10 - Судебно-медицинская экспертиза

Казань
2018

УДК 612.086:343.612.1-02:663.991(075.8)

ББК 58.1я73

Г51

Печатается по решению
Центрального координационно-методического совета
Казанский ГМУ Минздрава России

Рецензенты:

Доктор медицинских наук, профессор, начальник Кировского областного бюро судебно-медицинской экспертизы, заведующий кафедрой судебной медицины ФГБОУ ВО «Кировской ГМА» МЗ РФ,

А.Е. Мальцев,

Доктор медицинских наук, профессор кафедры общей патологии Казанского ГМУ Минздрава России **Д.Э. Цыплаков**

Л.Г. Александрова, В.А. Спиридонов

Г51 Гистологические критерии судебно-медицинской оценки инородных частиц при отравлениях опиоидами: учеб. пособие для врачей-ординаторов по специальности 31.08.10 Судебно-медицинская экспертиза / Л.Г. Александрова, В.А. Спиридонов. – Казань: Казанский ГМУ, 2018. – 26 с.

В учебном пособии приведены основные положения и принципы работы при судебно-гистологическом исследовании тканей в случаях при подозрении на отравление наркотическими веществами. Изложены правила и последовательность применения разных методов микроскопии с оценкой результатов исследования, представлен перечень основных разрешаемых вопросов.

Учебное пособие предназначено для формирования у врачей-ординаторов профессиональной компетенции в диагностической деятельности по определению патологических состояний, симптомов, синдромов заболеваний, нозологических форм в соответствии с Международной классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем, при производстве судебно-гистологических экспертиз (исследований). Пособие также может быть использовано врачами-судебно-медицинскими экспертами для закрепления этой компетенции и применения при решении специальных задач.

УДК 612.086:343.612.1-02:663.991(075.8)

ББК 58.1я73

© Александрова Л.Г., Спиридонов В.А., 2018;

© Казанский ГМУ, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	4
Об инородных частицах	5
Особенности изъятия материала для судебно - гистологического исследования	7
Подготовка тканей и сравнительных образцов к исследованию	8
Методы микроскопического исследования	9
Изучение гистологических препаратов	14
Этапы изучения гистологических препаратов	15
Приложения	20
1. 1. Примеры описания тканей и судебно - гистологического заключения	20
1.2. Тестовые задания.	22
1.3. Правильные ответы к тестовым заданиям	24
Библиографический список	25

ПРЕДИСЛОВИЕ

Вопросы, связанные с диагностикой отравлений наркотическими веществами, в том числе опиоидами, актуальны в судебной медицине. В их решении особую роль играет гистологический метод исследования, возможности которого, к сожалению, не всегда используются в полной мере. Вместе с тем, от эффективности, полноты проведенных исследований, оценки выявленных изменений могут зависеть не только результаты судебно-медицинской экспертизы трупа, но и последующие судебно-следственные мероприятия.

В данном пособии обобщаются методические приемы и последовательность действий, которыми может руководствоваться врач при судебно-гистологическом исследовании тканей при подозрении на употребление наркотических веществ. Эти знания будут способствовать формированию умений и навыков в соответствии с задачами практической деятельности у врачей-ординаторов, вырабатывать профессиональную компетенцию по применению дифференциально-диагностических приемов в трупном материале при диагностике патологических состояний, симптомов, синдромов заболеваний, нозологических форм в соответствии с Международной классификацией болезней и проблем, связанных по здоровьем, на предмет установления возможного факта внутривенного употребления при жизни наркотических средств.

Авторы надеются, что представленные материалы окажут помощь ординаторам в учебном процессе, а также будут полезны в повседневных действиях практикующим врачам судебно-медицинским экспертам. Все пожелания, замечания и дополнения будут приняты с благодарностью.

ОБ ИНОРОДНЫХ ЧАСТИЦАХ

Наркотики знакомы людям уже несколько тысяч лет. В условиях возросшего уровня их употребления наркомания стала важной социальной проблемой, несмотря на все предпринимаемые усилия по её преодолению. Данная проблема имеет многогранный характер, включающий экономический, медицинский, правовой и воспитательный аспекты.

Учитывая сложность ситуации, Президентом России был подписан федеральный закон Российской Федерации от 8.01.1998 №3-ФЗ «О наркотических средствах и психотропных веществах» (принят ГД ФС РФ от 10.12.1997г.). Закон устанавливает правовые основы государственной политики в сфере оборота наркотических средств, психотропных веществ и в области противодействия их незаконному обороту в целях охраны здоровья граждан, государственной и общественной безопасности.

Сложности диагностики наркомании и токсикомании связаны с недостатком критериев, несовершенством, либо отсутствием имеющихся методических разработок. Востребована системность в решении вопросов морфологической диагностики и применении критериев, расширяющих и укрепляющих доказательную базу в диагностике наркомании и связанной с ней патологии.

Для установления диагноза «Отравление наркотическим веществом» в основном опираются на результаты химического исследования биологических жидкостей и тканей трупа. Однако в половине проводимых судебно-химических исследований на обнаружение наркотического вещества приходится иметь дело с отрицательными результатами исследования.

Не исключено, что в ряде случаев, помимо прочего, это было связано с применением так называемого «дизайнерского» героина, и в арсенале судебных химиков на момент исследования отсутствовали необходимые методики для их выявления.

В случае использования любого запрещенного наркотика или использования наркотика в немедицинских целях не приходится говорить о правильном подборе, рекомендуемой дозе или о стандартах качества производства. Потребители сталкиваются с неопределенностью качества покупаемого товара. При этом наркотики намеренно разбавляют разнообразными наполнителями. Загрязнения появляются также в процессе их производства, хранения, транспортировки.

В большинстве проблемных регионов около 90% зарегистрированных потребителей наркотиков применяли опиоиды. Но помимо героина употребляются внутривенно и другие наркотики: синтезированные на основе эфедрина («винт»), опиоиды домашнего изготовления («черный», «ханка», «черняшка» и пр.), медицинские препараты.

Токсичность примесей и чистота героина сильно различается у уличных продавцов. Так называемый «уличный героин», изымаемый из незаконного оборота, представляет собой, как правило, многокомпонентную смесь, содержащую, кроме самого героина, различные добавки, как фармакологически активные, так и нейтральные. Установить в биологических средах содержание примесей судебно-химическими методами исследования не всегда представляется возможным. Однако примеси в виде инородных частиц иногда можно обнаружить при морфологическом исследовании в тканях внутренних органов. Разновидности инородных частиц, обнаруживаемых в тканях внутренних органов, отражены в таблице 1.

Таблица 1

Разновидности инородных частиц, обнаруживаемых
в тканях внутренних органов

Разновидности инородных частиц	Орган, в котором обнаруживаются частицы
Гиалиноподобные	Лёгкое, головной мозг
Кристаллические	Лёгкое, кожа и мягкие ткани с области инъекций, печень
Волокнистые	Лёгкое
Гелеподобные	Кожа и мягкие ткани из области инъекций, лёгкое

Криминалистические исследования показали, что в последние годы в качестве нейтральных добавок часто используются различные углеводы, такие как крахмал, мальтоза, сахароза, лактоза, глюкоза и т.п., а фармакологически активные добавки встречаются реже. Содержание активного компонента в «уличном героине» может меняться в широких пределах – от 1–2 до 98%.

Наиболее сложным является решение верификационных задач, связанных с отождествлением конкретных частиц, с установлением общей групповой принадлежности и источника происхождения.

Трудности во многом обусловлены самим объектом исследования: сложностью и неоднородностью состава по объему, неустойчивостью внешних форм (сыпучестью) и т.д. Проведение сравнительного исследования связано с информацией о качественном и количественном содержании макро- и микроэлементов в исследуемых объектах.

В судебно-медицинской литературе имеются отдельные публикации, отражающие обнаружение инородных частиц во внутренних органах трупов. Однако при отсутствии комплексного подхода к вопросу верификации обнаруживаемых инородных частиц сложно в полной мере воспользоваться результатами лабораторных исследований, которые могли бы помочь, а также в выяснении источника их происхождения. Для этого необходима системность в обнаружении и выявления характерных особенностей инородных частиц в тканях внутренних органов с применением методов, способных расширить доказательные возможности судебно-медицинской экспертизы отравлений наркотическими веществами.

ОСОБЕННОСТИ ИЗЪЯТИЯ МАТЕРИАЛА ДЛЯ СУДЕБНО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

При выборе органов и тканей для гистологического исследования судебно-медицинский эксперт должен руководствоваться рекомендациями действующих «Правил судебно-медицинского исследования трупа».

Кусочки органов и тканей при вскрытии трупа берет судебно-медицинский эксперт, производящий исследование. Инородные частицы чаще обнаруживаются в тканях лёгких и в мягких тканях с области инъекций. Поэтому, если предполагается отравление наркотическим веществом, введенным внутривенно, и есть вероятность загрязнения этого вещества инородными примесями, то врачу-судебно-медицинскому эксперту следует уделить особое внимание тому, чтобы кусочки лёгких и мягких тканей были подвергнуты гистологическому исследованию. Кусочки вырезают острым ножом. Использование ножниц не рекомендуется во избежание размятия тканей. Рыхлые и распадающиеся ткани берут на нож, без использования пинцета и сразу погружают в фиксирующую жидкость в подвешенном состоянии в мешочке из марли или в специальном контейнере.

Кусочки вырезают толщиной 0,5 см, не более 1 см, учитывая низкую скорость диффузии фиксирующей жидкости. Длина и ширина их могут быть 1x1,5 см или 1,5x2 см, чтобы получаемый срез умещался под стандартное покровное стекло.

При направлении в лабораторию кусочков органов и тканей в сопроводительном документе, помимо сведений об умершем, обстоятельствах дела и данных вскрытия, судебно-медицинский эксперт указывает, какие органы направляются, способ их фиксации, количество кусочков и задачи судебно-гистологического исследования.

ПОДГОТОВКА ТКАНЕЙ И СРАВНИТЕЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ К ИССЛЕДОВАНИЮ

Ткани внутренних органов с целью обнаружения в них инородных частиц подвергаются гистологическому исследованию, которое на подготовительном этапе не отличается от обычного.

Наличие микрочастиц возможно выявить лишь в лабораторных условиях. Особенностью данного вида экспертиз является обнаружение и исследование малого количества следов в объекте-носителе. Следует учитывать, что микрочастицы часто непрочны связаны с предметом-носителем, а поэтому могут быть легко утеряны в таком многоступенчатом методе, каковым является гистологический метод исследования тканей. По этой же причине инородные частицы могут быть привнесены в исследуемые препараты извне.

Для получения качественных препаратов и обеспечения надежности результатов гистологических и гистохимических исследований целесообразно пользоваться апробированными прописями методик проведения каждого этапа их изготовления. При исследовании инородных частиц помимо окраски гематоксилином и эозином, возможно применение дополнительных окрасок, например, по ван Гизону, на крахмал водным раствором йода и пр.

В случае предоставления образцов сравнения предполагаемых примесей их подвергают тем же этапам гистологической обработки, что и изучаемые ткани, с изготовлением из образцов сравнения гистологических препаратов привычного вида.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Микроскопические методы исследования прочно вошли в практику судебно-медицинской экспертизы. Технические возможности современных судебно-гистологических лабораторий высоки и позволяют определить ряд характерных особенностей инородных частиц, выявляемых в тканях внутренних органов. Инородные частицы несут в себе дополнительную информацию и могут быть предметом отдельного изучения специалистами. Исследование характеристик инородных частиц, обнаруживаемых при смертельных отравлениях наркотическими веществами и при хронической наркотической интоксикации, могло бы существенно повысить значимость судебно-медицинских находок в практике раскрытия преступлений, связанных, в частности, с незаконным оборотом наркотиков.

Первичное исследование гистопрепаратов

Первичное исследование гистопрепаратов проводится применением световой микроскопии в проходящем свете. Исследование производится при увеличении 100^X , 200^X , 400^X (окуляры 10^X объективы 10^X , 20^X , 40^X).

При обнаружении инородных частиц производится их подсчёт, измерение, описание свойств.

Специальные методы исследования

Следующие специальные методы исследования способны повысить частоту обнаружения инородных частиц в тканях, в гистологических препаратах внутренних органов с базовой окраской гематоксилин-эозином при употреблении наркотических веществ:

- люминесцентная микроскопия;
- поляризационная микроскопия;
- фазово-контрастная микроскопия.

Гистохимические методы исследования

Способы изучения изменений в тканях в ряде случаев дополнены гистохимическими методами исследования с изготовлением дополнительных препаратов. Применение дополнительных окрасок также способствует выявлению свойств инородных частиц:

- окраска на крахмал реактивом Люголя;

- окраска на соединительную ткань по ван-Гизону.

Количественные характеристики инородных частиц

Количественные характеристики свойств обнаруживаемых инородных частиц в тканях внутренних органов при употреблении наркотических веществ позволяют установить следующие методы:

- оценка цветовых координат;
- микроспектрофотометрия;
- конфокальная микроскопия.

Фотомикрографирование

Фотомикрография – это фотографическая съемка микроскопических объектов, выполняемая с помощью микроскопа или специальных микрофотографических устройств. Фотомикрографирование применяется в целях документирования и демонстрации результатов, полученных с помощью микроскопических методов исследования.

Необходимо использовать и фотомикрографирование, позволяющее не только передать особенности микрочастиц и сделать эти объекты доступными для восприятия всеми участниками, производящими экспертизу и следственные действия, но и провести дополнительные виды исследовательских работ с полученным изображением, например, оценить цветовые координаты.

Фазово-контрастная микроскопия

Фазово-контрастный микроскоп служит для получения изображений прозрачных и бесцветных объектов, не видимых при наблюдении в светлом поле. При фазово-контрастной микроскопии луч света подвергается дифракции в зависимости от особенностей изучаемого объекта. При этом изменяется длина и фаза световой волны. Для неокрашенных объектов различия касаются лишь изменений фазы света. Принцип фазово-контрастной микроскопии заключается в том, что свет, не отклоненный объектом, проходит через фазовое кольцо, нанесенное на одну из линз объектива, смещающее его фазу на четверть длины волны и ослабляющее его интенсивность, а дифрагированный (отклоненный) свет проходит мимо фазового кольца. В плоскости изображения происходит интерференция световых волн, прошедших и не прошедших через фазовое кольцо. При этом возникают различия в амплитуде, отражающие изменения фазы в зависимости от

свойств участков объекта. В отличие от фазовых изменений амплитудные изменения световых волн хорошо видны глазом и могут быть зарегистрированы. Результатом интерференции света в плоскости изображения становится контрастное изображение структуры препарата, формы, контуров исследуемых объектов.

Поляризационная микроскопия

Поляризационный микроскоп позволяет наблюдать изучаемые объекты в поляризованном свете и служит для изучения препаратов, оптические свойства которых неоднородны (анизотропные объекты, в которых скорость распространения поляризованного света зависит от направления его по продольной или поперечной оси объекта). Поляризованный свет формируют при помощи специальных поляризаторов (призмы Николя или поляфильтры), которые помещают между источником света и изучаемым объектом. Образованный ими пучок плоско-поляризованного света разлагается на два луча, поляризованных во взаимно-перпендикулярных плоскостях. Поляризация, сообщенная при этом свету, меняется при последующем его прохождении через препарат. Один из этих лучей проходит через анизотропные структуры объекта, запаздывая относительно другого. При выходе из объекта оба луча оказываются в разных фазах. Это позволяет выделить различные элементы в препарате и их ориентацию в пространстве.

Люминесцентная микроскопия

В основе люминесцентной микроскопии лежит способность некоторых веществ поглощать свет определенной части спектра, энергия которого затем частично испускается в виде света, отличаясь от поглощенного света длиной волны и интенсивностью. В соответствии с правилом Стокса длина волны испускаемого света больше, чем длина волны поглощаемого света. Эта разность длин волн лежит в основе наблюдения флуоресценции при люминесцентной микроскопии.

Источником монохроматического излучения в ультрафиолетовом, видимом и инфракрасном участках спектра в данном случае служит лазерное излучение. Оно обладает монохроматичностью и когерентностью, т.е. волны, идущие от всех атомов и молекул, находятся в одной и той же фазе. Благодаря когерентности коллимированный

поток лазерного излучения мало расходится при распространении. Это позволяет концентрировать большое количество энергии на небольшой мишени, находящейся даже на значительном расстоянии.

Микроспектрофотометрические методы исследования

Микроспектрофотометрические методы исследования позволяют осуществлять спектрофотометрические исследования микрообъекта, включая регистрацию производных спектра. Люминесцентный микроспектральный анализ основан на регистрации и анализе характерных спектров люминесценции в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, свойственных целому ряду химических соединений. Незначительные изменения в структуре молекул приводят зачастую к резкому уменьшению флуоресценции или к полному ее уничтожению. Флуоресценция обусловлена, как правило, переходами внешних валентных электронов, за счет которых образуются химические связи между атомами в молекуле. Поэтому возникновение новых связей в молекуле и динамика ее взаимодействия со средой приводят к изменениям энергетических уровней. В силу этого существует тесная зависимость основных характеристик флуоресценции от физико-химического состояния молекул любого вещества. Это определяет высокую информативность люминесцентного анализа молекулярной структуры вещества и ее динамики. Микроспектрофотометр содержит в своем составе микроскоп, монохроматор, спектр анализирующую систему и систему регистрации с возможностью записи. Такая система позволяет одновременно проводить морфологические исследования и спектральный анализ различных структур в микропрепарате.

Сканирующий микроскоп позволяет осуществлять последовательный осмотр объекта в каждой точке или его изображения фотоэлектрическим преобразователем с измерением интенсивности света, прошедшего через объект или отраженного от него. Сканирование объекта сводится к последовательному измерению коэффициента пропускания или отражения лучей света от объекта в каждой его точке и преобразованию его в электрический сигнал. Таким образом, сканирующий микроскоп представляет собой сочетание собственно микроскопа и информационной сканирующей системы. Источником возбуждающего света в нем служит лазер. По техническим причинам лазер является оптимальным источником света для конфокального микроскопа, поскольку излучает монохромный когерентный свет

большой мощности. Параллельный ход лучей в пучке позволяет сфокусировать его в точку минимально возможного для оптической системы размера, ограниченного дифракцией света в оптической системе. Свет лазера проходит через фильтр, который меняет свои оптические свойства в зависимости от подаваемого на него напряжения и служит для выделения нужных спектральных линий и изменения их яркости. Для разделения лучей используются интерференционные фильтры (дихроики), которые по-разному отражают и пропускают световые волны разной длины. Сканирующие зеркала системы последовательно сканируют заданную рамку в поле зрения. Яркость флуоресценции в этих точках регистрируется фотоумножителем, посылается на вход аналого-цифрового преобразователя, оцифровывается и записывается в память компьютера в виде пикселей различной яркости. Так создается оптический срез толщиной менее 0,5 микрона. После записи всех пикселей данного среза система перефокусирует объектив на следующую оптическую плоскость и процесс повторяется. В итоге создается набор «объемных» пикселей (вокселей), в котором зарегистрирована вся флуоресценция в выбранном объеме препарата. В дальнейшем можно рассматривать отдельные оптические срезы или, складывая пиксели из различных срезов, получать и рассматривать под разными углами оптические проекции, в которых будет сфокусирована вся флуоресценция в выбранном объеме.

Цветовые характеристики инородных частиц

Цвет гистологических препаратов оценивается обычно субъективно со всей гаммой физиологических (инерционность восприятия световых раздражений, пространственное усреднение цвета, ограниченная разрешающая способность цветового зрения) и психологических тонкостей (яркостная и цветовая адаптация), с особенностями восприятия цвета, связанными с эффектами зрительного контраста (светового, цветового, последовательного). Последствия субъективности восприятия цвета могут быть устранены при использовании математического описания цвета. В цветовой системе каждый цвет может быть выражен тремя числами, представляющими собой значения координат, отсчитываемых по координатным осям. Эти три числа, физически соответствующие для реальных цветов количествам трех основных цветов в смеси (R – красный, G – зеленый, B – синий), зрительно уравнивающей данный цвет, называются координатами цвета. Измерение цветовых характеристик структур, окрашенных

различными методами, возможно методом компьютерной колориметрии, когда оценивается компьютерное изображение гистологического препарата. В литературе, описывающей обработку цветных изображений с помощью компьютеров, цветообразующих узлов цифровых камер, сканеров, видеомониторов, принтеров и др., используется система RGB. Этими приборами оснащены и современные судебно-гистологические лаборатории. Работа на них чаще всего осуществляется в операционной системе Windows, в которой цветовая модель RGB используется по умолчанию. Цветовые координаты можно оценить применением программы Adobe Photoshop. Поскольку речь в данном случае идет об оценке цветовых характеристик, то исследуются таким способом лишь частицы, способные воспринять гистологическую окраску. Определение цветовых характеристик (координат цвета) можно производить с целью верификации объектов, оценки качества окраски препаратов, создания банка данных.

ИЗУЧЕНИЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

В процессе изучения препаратов их вначале просматривают с целью оценки качества окраски, выявления нарушений в технике гистологической обработки материала, аутолитических изменений и артефактов. После этого приступают к детальному исследованию препаратов. При описании характеризуют присланный на исследование объект и состояние всех структурных элементов ткани. При этом пользуются терминами, принятыми в «Международной гистологической номенклатуре», избегая диагностических определений.

Для верификации обнаруженных объектов определяют характерные особенности, отличающие их от других: форма, восприятие окраски, прозрачность, наличие рисунка или исчерченности, регистрируют и сравнивают спектры пропускания (поглощения), спектры отражения и спектры интенсивности люминесценции, а также цветовые характеристики.

В образцах сравнения регистрируются признаки частиц, происхождение которых было известно. Проводится сравнительное изучение этих признаков с признаками частиц неизвестного происхождения, обнаруженными в тканях внутренних органов. Определяются их спектральные и цветовые характеристики.

Для обнаружения и подсчета частиц последовательно осматриваются все поля зрения гистологических препаратов при разных увеличениях. Оценить распределение инородных частиц (С) в тканях можно применив формулу:

$$C = N / S \times 10, \text{ где}$$

N - количество инородных частиц, обнаруженных в препарате;

S - количество единиц полей зрения, которое занимает препарат при малом увеличении;

10 – коэффициент, для оценки среднего содержания инородных частиц в 10 полях зрения.

Значимые величины инородных частиц учитываются от величины двух диаметров эритроцита: 14 мкм. Величина частиц менее 2-4 диаметров эритроцита оценивается как малая (14-29 мкм), в пределах 4-8 диаметров эритроцита – как средняя (30-54 мкм) и более 8 диаметров эритроцита – как большая (55-65 мкм). Частицы большей величины в просветах сосудов легких обычно не обнаруживаются.

По окончании исследования препарата составляют гистологический диагноз, где приводят результаты исследования в диагностической форме и в порядке их патогенетической значимости.

При необходимости изготавливают микрофотографии значимых участков объектов исследования с оформлением фототаблиц, где указывают номер заключения эксперта (акта судебно-гистологического исследования), год, порядковый номер кусочка и другие обозначения по маркировке. Прилагают результаты исследования.

ЭТАПЫ ИЗУЧЕНИЯ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Таким образом, исследование инородных частиц включает в себя три этапа:

1. Предварительный этап исследования.
2. Этап лабораторных исследований.
3. Этап формулирования заключения.

1. На предварительном этапе осуществляются следующие действия:

1.1. Сбор предварительной информации и анализ всех обстоятельств дела для уяснения задач дальнейших экспертных действий. Эта информация включает в себя следующие группы:

1.1.1. Сведения из катамнеза и с места происшествия;

- 1.1.2. Результаты судебно-медицинского исследования трупа;
 - 1.1.3. Результаты судебно-химического исследования.
 - 1.2. Формулирование вопросов.
 - 1.3. Выбор методов с определением последовательности исследований и возможных результатов, с учетом поставленных вопросов.
2. На этапе лабораторных исследований проводится формирование опытной и контрольной групп исследования по итогам предыдущего этапа.
- 2.1. Работа с экспертизой сравниваемых групп вначале включает:
 - 2.1.1. Первичное исследование гистопрепаратов методом световой микроскопии;
 - 2.1.2. При обнаружении инородных частиц производится их подсчет, измерение, описание, изучение при окраске гематоксилин-эозином с занесением в регистрационную карту гистологического скрининга.
 - 2.2. Работа с частицами образца сравнения вначале включает в себя:
 - 2.2.1. Получение образца сравнения;
 - 2.2.2. Изготовление гистологического препарата этого образца;
 - 2.2.3. Первичное исследование изготовленного препарата образца сравнения в светлом поле.
 - 2.3. Этап сравнительного изучения обнаруженной инородной частицы и образца сравнения с применением выбранных методов исследования:
 - 2.3.1. поляризационной микроскопией;
 - 2.3.2. фазово-контрастной микроскопией;
 - 2.3.3. специальными методами гистологической окраски (по ван Гизону, окраской йодсодержащими реактивами);
 - 2.3.4. люминесцентной микроскопией;
 - 2.3.5. конфокальной микроскопией;
 - 2.3.6. микроспектрофотометрией;
 - 2.3.7. фотомикрографией;
 - 2.3.8. применением программных средств по определению и регистрации цветовых координат RGB.
3. На заключительном этапе:
- 3.1. Формируется база данных.
 - 3.1.1. Результаты проведенных исследований фиксируются в регистрационной карте расширенного исследования;
 - 3.1.2. Важнейшие результаты исследований сохраняются в виде фотомикрографий, рисунков, графиков;

3.1.3. Проводится статистическая обработка.

3.2. Формулируется заключение.

Проведение этапов исследования в пределах пункта 1. и пункта 2.1. дает основание занести результаты исследования в регистрационную карту гистологического скрининга. Более полное выполнение вышеуказанных этапов исследования позволяет занести их результаты в регистрационную карту расширенного гистологического исследования. Регистрационные карты рекомендуется применять для удобства и для унификации процесса верификации.

Регистрационная карта инородной частицы (гистологический скрининг)				
№ акта морга	№ гистологического исследования	Пол	Возраст	Дата смерти
Дата исследования трупа	Время фиксации тканей	Количество кусочков тканей	Медицинские манипуляции	
Судебно-медицинский диагноз				
Шприцы, упаковки на месте происшествия _____				
Повреждения, локализация _____ Следы свежих инъекций _____				
Количество точечных ран _____ Рубцы, шахты _____				
Сведения из катанеза (согласно направления):				
Состоял ли на учете _____ «стаж» наркотизма _____ Наркотики _____				
Локализация частиц в тканях	Лёгкое	Кожа	Другое	
Вид частиц				
Инкапсуляция частиц				
Количество препаратов и полей зрения				
Количество частиц				
Форма				
Величина				
Рисунок				
Примечания				

Рис. 1. Регистрационная карта инородной частицы для скрининга

Регистрационная карта инородной частицы (расширенное исследование)				
№ акта морга	№ гистологического исследования	Пол	Возраст	Дата смерти
Дата исследования трупа	Время фиксации тканей	Количество кусочков тканей		Медицинские манипуляции
Адрес места жительства (район)		Адрес места наступления смерти (район)		Место наступления смерти
Судебно-медицинский диагноз				
Шприцы, упаковки на месте происшествия _____ Повреждения, локализация _____ Следы свежих инъекций Количество точечных ран _____ Рубцы, шахты _____				
Сведения из катамнеза (согласно направления): Состоял ли на учете _____ «стаж» наркотизма _____ Наркотики _____				
Алкоголь в крови _____ алкоголь в моче _____				
Наркотики _____ Лекарственные препараты _____				
Содержание наркотика в:				
крови (мг/мл)	моче (мг/мл)	желчи (мг/мл)	печени (мг/кг)	почке (мг/кг)
Локализация частиц в тканях		Лёгкое	Кожа	Другое
Вид частиц				
Инкапсуляция частиц				
Количество препаратов и полей зрения				
Количество частиц				
Форма				
Величина				
Рисунок				
Окраска				
Примечания				
Сравнительная микроскопия обнаруженных частиц				
	Инородная частица		Образец сравнения	
Поляризация				
Фазовый контраст				
Люминесценция				
Другое				

Рис. 2. Регистрационная карта инородной частицы для расширенного исследования

Количественные признаки отражаются в абсолютных цифрах. Выраженность качественного признака оценивается в балльной шкале по его наличию и степени выраженности для объективности описания и снижения субъективизма оценки относительно выраженности того или иного признака:

«+» - имеет место,

«-» - отсутствует,

«0» - нет данных,

1 – слабая выраженность признака,

2 – сильная выраженность признака,

3 – очень сильная выраженность признака.

Применение регистрационных карт носит рекомендательный характер. Кроме значительного облегчения поиска их в архивном материале, использование таких карт позволяет унифицировать проведение судебно-гистологических исследования тканей и таким образом значительно повысить качество судебно-гистологических экспертиз. Это дает возможность сделать оценку выявленных инородных частиц объективно, упорядочив применение методов исследования и учет результатов. Регистрация их позволяет организовать базы данных и автоматический поиск данных, идентичных исследуемым образцам. Кроме того, следует отметить, что и регистрационные карты и описанные подходы к изучению инородных частиц универсальны и могут быть использованы для оценки любых инородных частиц, выявленных при гистологическом исследовании тканей.

ПРИЛОЖЕНИЯ

1.1. Варианты примерного описания гистологических препаратов и судебно-гистологического заключения при обнаружении инородных частиц

Препарат №1- Лёгкое (2+2 фазовый контраст, +2 поляризация; использованы окуляры 10^X объективы 10^X, 20^X, 40^X).

Препараты, окрашенные гематоксилин-эозином, представлены периферическими участками лёгочной ткани с тонкой висцеральной плеврой и мелкими бронхиолами. Просветы альвеол расширены резко с относительным истончением, малокровием и нарушением целостности межальвеолярных перегородок или щелевидны. Выполнены серозно-геморрагическими массами с примесью клеток типа макрофагов, в том числе с бурым пигментом в цитоплазме, а также с обнаружением полинуклеарных форм и десквамированных альвеолоцитов. Артериальные и венозные сосуды гиперемированы с внутрисосудистыми стазами и агглютинацией эритроцитов, сепарацией крови. Периваскулярно располагаются группы круглых клеток. Эпителий бронхиол разрыхлен, десквамирован в просветы, где обнаруживаются эритроциты и фрагменты инородных частиц, напоминающих частично лизированные миоциты и растительную клетчатку. Наблюдается перибронхиальная гиперемия сосудов, фиброз, пролиферация гладких мышц, группы круглых клеток. В представленных на исследование препаратах на 25 полях зрения малого увеличения обнаруживаются гиалиноподобные частицы разных оттенков базофильного (типа гранул крахмала), две из которых крупные, одна средней величины, местами полностью обтурируя просвет, несколько более отчетливые в условиях фазового контраста. Кроме того, обнаруживаются инкапсулированные мелкие сероватые кристаллические частицы (типа талька) с легким волокнистым рисунком, сияющие ярко в условиях поляризации в количестве 25, равномерно распределяясь в препарате, преимущественно вблизи сосудов.

Судебно-гистологическое заключение:

В пределах представленных на исследование препаратов лёгких обнаружены морфологические признаки аспирации пищевых масс в виде обнаруженных в просветах бронхиол эритроцитов и инородных

частиц, напоминающих фрагменты лизированных миоцитов и растительной клетчатки. Очаговая эмфизема, очаговые дистелектазы лёгких. Серозно-геморрагическая инфильтрация лёгких. Катарально-десквамативный альвеолит с макрофагальной реакцией. Хронический бронхит. В пределах представленных препаратов лёгких в просветах сосудов, местами полностью обтурируя их, обнаружены многочисленные базофильные инородные частицы гиалиноподобной структуры (типа гранул крахмала), а также многочисленные мелкие инкапсулированные инородные частицы кристаллической структуры (типа талька).

Препарат №2 - Мягкие ткани (1+1 поляризация, +1 фазовый контраст; использованы окуляры 10^X объективы 10^X , 20^X , 40^X).

Препарат, окрашенный гематоксилин-эозином, представлен жировой клетчаткой с примесью соединительной ткани с очагами фиброза, круглоклеточной инфильтрации и признаками продуктивного васкулита, с обнаружением на 12 полях зрения малого увеличения инкапсулированных гелеподобных частиц, две из которых крупные (более 4-х диаметров эритроцита-лимфоцита) и 5 средней величины (более 2-х и менее 4-х диаметров эритроцита-лимфоцита), серовато-зеленоватых, несколько более отчётливых, переливающихся оттенками золотистого в условиях фазового контраста. Кроме того, среди них обнаруживаются мелкие сероватые кристаллические частицы (типа талька) с лёгким волокнистым рисунком, сияющие ярко в условиях поляризации в количестве 25, неравномерно распределяясь в препарате вблизи сосудов. В пределах представленного на исследование препарата обнаружены очагово-инфильтрирующие скопления слитно расположенных эритроцитов, выполняющих все поля зрения, с примесью равномерно распределенных лейкоцитов с полиморфными ядрами до 10-15 в поле зрения ($\times 300$), что соответствует обычному содержанию лейкоцитов в просветах сосудов. Сосуды дистоничны, с набухшими стенками, слабо пропитанными гомогенными слабо-эозинофильными массами, с пристеночной агглютинацией форменных элементов крови. Отек тканей.

Судебно-гистологическое заключение:

В пределах представленного на исследование препарата мягких тканей с области точечной раны задней поверхности средней трети правого предплечья на фоне признаков продуктивного дерматопан-

никулита с обнаружением инкапсулированных инородных частиц кристаллической структуры (типа талька) и инкапсулированных инородных частиц гелеподобной структуры с очаговыми инфильтрирующими кровоизлияниями с перифокальным нарушением тонуса и кровенаполнения сосудов, отеком тканей, внутрисосудистой агглютинацией эритроцитов, пр.

1.2. Тестовые задания

Выберите один правильный ответ:

1. Что имеет значение для обнаружения инородных частиц в просветах сосудов:
 - а) возраст
 - б) внутривенное употребление наркотических веществ
 - в) употребление алкоголя
 - г) все перечисленное

2. Комплекс сосудисто-тканевых реакций в месте обнаружения инородной частицы:
 - а) асептическое воспаление
 - б) формирование гранулемы инородного тела
 - в) неспецифическое воспаление
 - г) экссудативное воспаление

3. Для какого способа употребления наркотических веществ наиболее характерно обнаружение инородных частиц в просветах сосудов:
 - а) внутривенно
 - б) перорально
 - в) инсуффляция
 - г) все перечисленное

4. Наиболее распространенная окраска тканей для выявления инородных частиц в сосудах:
 - а) гематоксилин-эозин
 - б) по Грам
 - в) по Перлс
 - г) по ван Гизон

5. Методы выявления инородных частиц в тканях:
- а) световая микроскопия
 - б) фазово-контрастная микроскопия
 - в) гистохимические окраски
 - г) все перечисленное
6. Обнаруженные инородные частицы в сосудах дифференцируют с:
- а) фибрином
 - б) форменными элементами крови
 - в) патогенной микрофлорой
 - г) все перечисленное
7. Чем могут являться инородные частицы в сосудах:
- а) крахмал
 - б) тальк
 - в) и то, и другое
 - г) ни то, ни другое
8. Что может препятствовать обнаружению инородных частиц в тканях:
- а) гнилостные изменения тканей
 - б) длительное хранение парафиновых гистоблоков
 - в) отсутствие сведений о частицах в направительном документе
 - г) все ответы не верны
9. Для обнаружения инородных частиц наиболее целесообразно исследование:
- а) мягкие ткани с области инъекции
 - б) ткань легкого
 - в) ни то, ни другое
 - г) и то, и другое
10. О чем говорит обнаружение инородных частиц в просветах сосудов:
- а) факт внутривенного применения наркотического средства
 - б) о наличии примесей в использовавшемся наркотическом средстве
 - в) косвенно - о кратности внутривенного использования наркотических веществ
 - г) все перечисленное.

1.3. ПРАВИЛЬНЫЕ ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1.	б)
2.	б)
3.	а)
4.	а)
5.	г)
6.	г)
7.	в)
8.	г)
9.	г)
10.	г)

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА:

1. Пиголкин, Ю.И. Морфологическая диагностика наркотических интоксикаций в судебной медицине / Ю.И. Пиголкин - М.: Медицина, 2004. — 304 с.
2. Шигеев, В.Б., Шигеев, С.В. Меконизм: судебно-медицинские аспекты / В.Б. Шигеев, С.В. Шигеев – М., 2010. — 360 с.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов, Г.Г. Введение в количественную патологическую морфометрию / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1980. – 216 с.
2. Александрова, Л.Г. Судебно-медицинская оценка инородных частиц при отравлениях опиоидами. Москва, Российская медицинская академия последипломного образования: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Александрова Лилия Гафаровна, 2010. – 24 с.
3. Большая медицинская энциклопедия в 30-ти т. АМН СССР. Гл. ред. Б.В. Петровский. - 3-е изд. – М.: Советская энциклопедия.
4. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. – М.: Медицина, 1996. – 543 с.
5. Морфологическая диагностика наркотических интоксикаций в судебной медицине. Под ред. чл.-кор. Ю.И.Пиголкина - М.: Медицина, 2004. – 304 с.
6. Мухитов, А.Р., Архипова, С.С., Никольский, Е.Е. Современная световая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях / А.Р. Мухитов, С.С. Архипова, Е.Е. Никольский – М.: «Наука», 2011. – 140 с.
7. Саломзес, Дж. А., Чебурсон, В., Соколовский, Г. Наркотики и общество / Дж. А. Саломзес, В. Чебурсон, Г. Соколовский – М.: «ООО «Иллойн»», 1998. – 192 с.
8. Нигматуллин, Н.Ш., Хромова, А.М., Газизянова, Р.М., Александрова, Л.Г., Самитов, А.Ш. К вопросу судебно-медицинской диагностики острой и хронической наркотической интоксикации / Н.Ш. Нигматуллин, А.М. Хромова, Р.М. Газизянова, Л.Г. Александрова, А.Ш. Самитов // Проблемы экспертизы в медицине. - 2004. – Т 4 (июль-сентябрь) - №3. - С. 33-35.

9. Хромова, А.М., Александрова, Л.Г., Никифоров, С.А., Каримова, А.Р. О возможностях использования люминесцентной микроскопии инородных частиц при постмортальной судебно-медицинской диагностике острой и хронической наркотической интоксикации / А.М. Хромова, Л.Г. Александрова, С.А. Никифоров, А.Р. Каримова // Проблемы экспертизы в медицине. – 2005. – Т 5 (июль-сентябрь) - №3. - С. 29-30.

10. Хромова, А.М., Нигматуллин, Н.Ш., Александрова, Л.Г., Никифоров, С.А., Зиганшина, Л.Е., Каримова, А.Р. О возможности судебно-медицинской диагностики острой и хронической наркотической интоксикации / А.М. Хромова, Н.Ш. Нигматуллин, Л.Г. Александрова, С.А. Никифоров, Л.Е. Зиганшина, А.Р. Каримова // Научные труды конференции «Качественное использование лекарств и фармаконадзор» с международным участием, приуроченный к 20-летию основания кафедры клинической фармакологии и фармакотерапии Казанской государственной медицинской академии. Казань, 12-14 октября 2005 г. Клиническая фармакология и терапия. - 2005. - № 4. - С. 64-65.

11. Хромова А.М., Спиридонов В.А., Александрова Л.Г. Использование лазерной конфокальной сканирующей микроскопии для выявления инородных частиц в тканях внутренних органов / А.М. Хромова, В.А. Спиридонов, Л.Г. Александрова // Судебно-медицинская экспертиза. – 2010. – №1. - С. 34-36.

Гистологические критерии судебно-медицинской оценки инородных частиц при отравлениях опиоидами: учеб. пособие для врачей-ординаторов по специальности 31.08.10 Судебно-медицинская экспертиза / Л.Г. Александрова, В.А. Спиридонов.