

На правах рукописи

Пяткова Екатерина Владимировна

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ
УШНОЙ РАКОВИНЫ И ЕЕ СТРОЕНИЯ
В РАЗЛИЧНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ ЧЕЛОВЕКА**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

14.03.05 – судебная медицина

Автореферат диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2014

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Новоселов Владимир Павлович

доктор медицинских наук, профессор

Савченко Сергей Владимирович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Потапова Оксана Валентиновна

(Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, г. Новосибирск, руководитель лаборатории структурных основ патогенеза социально значимых заболеваний)

доктор медицинских наук, профессор

Алябьев Федор Валерьевич

(Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, заведующий кафедрой судебной медицины с курсом токсикологической химии)

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «____»_____2014 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.05 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; <http://www.ngmu.ru/dissertation/332>)

Автореферат разослан «____»_____2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

А. В. Волков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Ушная раковина человека является структурным образованием, которое начинает определяться уже с 4-й недели беременности, к 20-й неделе приобретает форму, практически полностью соответствующую уху взрослого человека, и сохраняет свои индивидуальные особенности, характеризующие конкретного индивидуума на протяжении всей его жизни (Хэм А., Кормак Д., 1983; Ianarelli, A. V., 1989; Cameriere R., 2011).

Несмотря на подробное изучение структуры тканей ушной раковины, вопросы, связанные с изменениями, протекающими в хряще в различные возрастные периоды жизни человека, остаются исследованными не в полной мере (Павлова В.Н., и соавт., 1988; Игнатьева Н.Ю., 2011). Решение этих вопросов возможно при использовании современных гистоморфометрических методик, а также информативных методов иммуногистохимической идентификации специфических белков (Автандилов Г.Г., 1990; 2001; Дедух Н.В., 2012; Dabbs D.J., 2002; Kiani C. и соавт., 2002). Получение новых данных о структурных и иммуногистохимических особенностях хряща ушной раковины в различные возрастные периоды жизни человека является информативным не только для морфологов-гистологов, но и для судебных медиков. Структура ушной раковины, основу которой составляет хрящевая ткань, позволяет ей оставаться сохранной на протяжении длительного постмортального периода, что может быть использовано для экспертных целей при установлении возраста. Кроме того, индивидуальные особенности морфологии ушной раковины, учитывая ее конфигурацию, также могут быть использованы при антропометрической оценке в случаях отождествления личности (Волошин Г. Я. и соавт., 1977; Каныгина О.В., 2005; Пипия И.Ш., 2007; Малахов Д.В., 2007; Чкадуа Т. З., 2010; Звягин В.Н. и соавт., 2012; Rehman M. И., Islami A., 2007; Victor B., 2002).

Цель исследования. Провести оценку гистологических особенностей хрящевой ткани ушной раковины и ее строения в различные возрастные периоды человека.

Задачи

1. Выявить особенности структуры эластического хряща ушной раковины человека в юношеском, зрелом и пожилом возрасте.
2. С помощью иммуногистохимического исследования провести оценку содержания агрекана в хряще ушной раковины в различных возрастных группах.
3. Выявить информативность антропометрического исследования ушных раковин для определения пола.

Новизна исследования. Получены новые данные о возрастных особенностях эластического хряща ушной раковины у человека в юношеском, первом и втором зрелом возрасте, а также в старческом возрасте. Выявлены особенности структуры эластического хряща ушной раковины человека в различные возрастные периоды на основе морфометрической оценки выраженности зоны молодого хряща, объемной плотности межклеточного вещества, численной плотности одиночных хондроцитов и изо групп, а также плотности эластических волокон зрелого хряща. Впервые с использованием иммуногистохимической методики определено содержание агрекана в хряще ушной раковины в различные возрастные периоды жизни человека. Полученные антропометрические данные, основанные на определении 16 реперных точек, 12 метрических размеров по 4 направляющим осевым линиям, позволяют определить пол человека.

Теоретическая и практическая значимость. Новые оригинальные данные по гистологии и иммуногистохимии эластического хряща ушной раковины в различные возрастные периоды имеют теоретическое значение и могут быть внедрены в образовательный процесс на кафедрах гистологии, эмбриологии и цитологии, а также кафедрах судебной медицины медицинских вузов. Полученные в результате выполнения работы новые данные о структуре хряща ушной раковины имеют важное практическое значение и могут быть рекомендованы для использования в судебно-гистологических и медико-криминалистических отделениях бюро судебно-медицинской экспертизы при

установлении возраста и пола.

Положения, выносимые на защиту

1. Эластический хрящ ушной раковины в молодом, зрелом и пожилом возрасте характеризуется структурными особенностями, связанными с изменениями выраженности молодого хряща, а также численной плотности хондроцитов, изогрупп клеток, объемной плотности межклеточного вещества и эластических волокон зрелого хряща.

2. Содержание агрекана в хряще ушной раковины с использованием иммуногистохимического исследования имеет коррелятивные изменения в молодом, зрелом и пожилом возрасте человека.

3. Антропометрическое исследование ушных раковин с использованием методики нанесения направляющих осевых линий, реперных точек и определения метрических размеров позволяет установить пол человека.

Апробация работы. Материалы диссертации и основные положения данного исследования докладывались на 9-й Российско-немецкой научно-практической конференции Форума им. Р. Коха и И.И. Мечникова «Новые горизонты: инновации и сотрудничество в медицине и здравоохранении» (Новосибирск, 2010), на научно-практической конференции, посвящённой 85-летию образования судебно-медицинской службы Свердловской области и 75-летию кафедры судебной медицины Уральской государственной медицинской академии (Екатеринбург, 2010), на совместных заседаниях сотрудников кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии и кафедры судебной медицины Новосибирского государственного медицинского университета (Новосибирск, 2013), на научно-практической конференции ассоциации «Судебные медики Сибири» (Кемерово, 2014), на итоговых научно-практических конференциях молодых ученых и студентов «Авиценна» (Новосибирск, 2011, 2012, 2013, 2014).

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии и кафедре судебной медицины

Новосибирского государственного медицинского университета, на кафедре гистологии и кафедре судебной медицины с основами права Алтайского государственного медицинского университета, на кафедре анатомии и гистологии человека и кафедре судебной медицины ИПО Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии и кафедре судебной медицины Кемеровской государственной медицинской академии. Результаты диссертационного исследования внедрены в практическую работу судебно-гистологических отделений и медико-криминалистических отделов областных/краевых бюро судебно-медицинской экспертизы (Новосибирск, Омск, Тюмень, Красноярск).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 12 работ, в том числе 3 статьи в научных журналах, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов диссертации.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 107 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описаний материала и методов исследования, трех глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Список литературы включает 132 отечественных и зарубежных источника. Работа иллюстрирована 39 рисунками, 8 таблицами и имеет 1 приложение.

Личный вклад автора. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором. Диссертационное исследование одобрено локальным этическим комитетом Новосибирского государственного медицинского университета.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основу работы составили данные, полученные при комплексной оценке морфогистохимических изменений хрящевой ткани и антропометрических параметров ушных раковин человека. Материалом для исследования

послужили ушные раковины и фрагменты ее хряща, полученные при проведении аутопсии у погибших лиц от различных причин. Всего исследовано 580 ушных раковин мужчин и женщин различных возрастных групп. Забор материала для исследования осуществлялся от трупов, поступивших в танатологические отделения Красноярского краевого бюро судебно-медицинской экспертизы и Новосибирского областного клинического бюро судебно-медицинской экспертизы в период с 2010 по 2012 годы.

Исследуемый материал был систематизирован по возрастным группам в соответствии со схемой постнатального онтогенеза согласно классификации, принятой на Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии АПН СССР (1965). Первая группа (юношеский возраст): 17 – 20 лет; 2-я группа (зрелый возраст): 21 – 35 лет; 3-я группа (первый период зрелого возраста): 36 – 50 лет; 4-я группа (второй период зрелого возраста): 51 – 60 лет; 5-я группа (пожилой возраст): 61 – 75 лет. Все исследования проводились с письменного разрешения близких или родных умершего на основе принципа добровольности.

Объектом для микроскопического исследования явились фрагменты хряща правой и левой ушной раковины. Фрагменты хрящевой ткани извлекали непосредственно из ушной раковины трупа, отсекая ее в месте проекции треугольной ямки, верхней и нижней ножек противозавитка, а также межкозелковой вырезки, размерами 8×7 мм на всю толщину хряща. Для светоптического исследования образцы хряща ушной раковины фиксировали в 10 % водном растворе нейтрального формалина, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации с последующим заключением в парафин. На санном микротоме изготавливали срезы толщиной 5–6 мкм, окрашивали их гематоксилином и эозином. Для выявления и оценки эластических волокон хряща срезы окрашивали орсеином, а для выявления соединительной ткани – по Ван Гизону. От каждого объекта изготавливали по 3-4 гистологических среза.

Морфометрическое исследование проводилось в соответствии с

имеющимися по этому вопросу рекомендациями (Автандилов Г. Г., 1992). Морфометрию структур эластического хряща осуществляли с помощью закрытой тестовой системы из 100 точек площадью $1,16 \times 10^5$ мкм².

Подсчитывали численную плотность хондроцитов (N_{ai}) эластического хряща ушной раковины на единицу тестовой площади и диаметр хондроцитов и изогенных групп, объёмную плотность (V_v) зон расположения хондроцитов, а также численную (N_{ai}) и объёмную (V_v) плотности эластических волокон.

Гистологические срезы исследовали в световом микроскопе «Carl Zeiss Scope A. 1» (Carl Zeiss, Германия). В процессе морфометрического исследования величины определяемых параметров рассчитывали по приведенным ниже формулам.

Численная плотность структур в тестовой площади рассчитывалась по формуле:

$$N_{ai} = N_{ti}/A_t,$$

где N_{ai} – численная плотность структур;

N_{ti} – количество профилей исследуемых структур, попавших в тестовую площадь A_t .

Объёмная площадь структур рассчитывалась по формуле:

$$V_{vi} = P_i/P_t,$$

где P_i – количество точек тестовой системы, попавших на профиль исследуемой структуры;

P_t – общее число точек тестовой системы, попавших на профиль среза исследуемого объекта.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в соответствии с принципами вариационной статистики (Богомольский М. Р., 2001; Боровиков В., 2001; Афанасьев Ю. И. и соавт., 2012; Гланц С., 1998).

Давность различий сравнительных средних величин определяли на основании критерия Стьюдента. Различия между средними величинами считали достоверными при $p < 0,05$. При расчетах учитывали, что распределение исследуемых признаков было близко к нормальному.

При проведении иммуногистохимического исследования использовали аппарат «Microm HM 550» (Carl Zeiss, Германия), PBS (промывочный фосфатно-солевой раствор), антитела «Texas Red» (rabbit anti mouse), 10 % раствор глицерина, окрашивание «DAPI» (флуоресцентных краситель (DAPI-4,6-диамидин-2-фенилиндол), термошейкер (Biosan) и имеющий возможности регистрации иммунофлуоресценции микроскоп «Carl Zeiss Axioscop FL40», filter set 00 (569\ 613).

Содержание агрегана в хряще выявлялось методом непрямой иммунофлуоресценции.

Из каждого фрагмента хряща, после его выделения из ушной раковины, на аппарате «Microm HM 550» (Carl Zeiss, Германия) готовились криостатные срезы толщиной 10 мкм. Затем их помещали на предметные стекла в одной плоскости, обработанные поли-L-лизином. В дальнейшем, в течение 60 минут, проводилась инкубация с первичными антителами «антиагрегана Ab» (R&D, mouse anti human). Затем осуществлялась отмывка фрагментов в PBS троекратно. После этого исследуемый материал был окрашен вторичными антителами «Texas Red» (rabbit anti mouse). В результате полученный субстрат заключался в 10 % раствор глицерина для более прочного прилегания срезов. Помимо этого был использован дополнительный метод окрашивания «DAPI». Инкубация первичными и вторичными антителами проводилась при температуре 24 °C на термошейкере (Biosan). Флуометрия образцов проводилась при стандартных условиях при температуре 24 °C на микроскопе «Axioscop FL40» с использованием filter set 00 (569\ 613). Данные, полученные в ходе исследования, обрабатывались на персональном компьютере.

В процессе выполнения антропометрии измерялись размеры правой и левой ушной раковины мужчин и женщин с помощью горизонтальной,

вертикальной и двух диагональных направляющих линий. Визуально определяли 16 реперных точек, ограничивающих ушную раковину, где R – right (правая), L – left (левая). R1, R6 (L1, L6) – были представлены крайними боковыми точками завитка на верхней вертикальной направляющей линии; R2, R7 (L2, L7) – крайние боковые точки завитка на верхней диагональной направляющей линии; R3, R8 (L3, L8) – крайние боковые точки завитка на горизонтальной направляющей линии; R4, R9 (L4, L9) – крайние боковые точки завитка на нижней диагональной направляющей линии; R10 (L10) – край раковины на верхней вертикальной направляющей линии; R11 (L11) – край раковины на верхней диагональной направляющей линии; R12 (L12) – край раковины на горизонтальной направляющей линии; R13 (L13) – край раковины на нижней диагональной направляющей линии; R14 (L14) – край противокозелка на нижней вертикальной направляющей линии; R16 (L16) – край козелка на горизонтальной направляющей линии; R15 (L15) – край раковины на нижней диагональной направляющей линии; R5 (L5) – край мочки на нижней вертикальной направляющей линии (Рисунок 1)

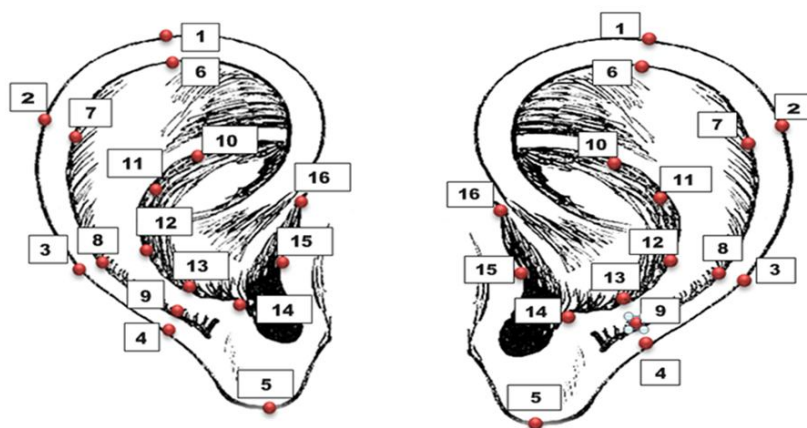


Рисунок 1 – Разметка реперных точек на ушных раковинах

Согласно реперным точкам, определяли 12 метрических размеров (R1 – R12, L1 – L12), где R – right (правая), L – left (левая): R1 (L1) – длина верхней части оправы завитка (на вертикальной направляющей линии); R2 (L2) – длина верхней части оправы завитка (на верхней диагональной направляющей линии);

R3 (L3) – длина части оправы завитка (на горизонтальной направляющей линии); R4 (L4) – длина окончания оправы завитка (на нижней диагональной направляющей линии); R5 (L5) – длина верхней части противозавитка (на вертикальной направляющей линии); R6 (L6) – длина верхней части противозавитка (на верхней диагональной направляющей линии); R7 (L7) – длина части противозавитка (на горизонтальной направляющей линии); R8 (L8) – длина окончания противозавитка (на нижней диагональной направляющей линии); R9 (L9) – полная длина раковины (на вертикальной направляющей линии); R10 (L10) – полная ширина раковины (на горизонтальной направляющей линии); R11 (L11) – диагональная длина раковины (на диагональной направляющей линии); R12 (L12) – длина мочки (на вертикальной направляющей линии) (Рисунок 2).

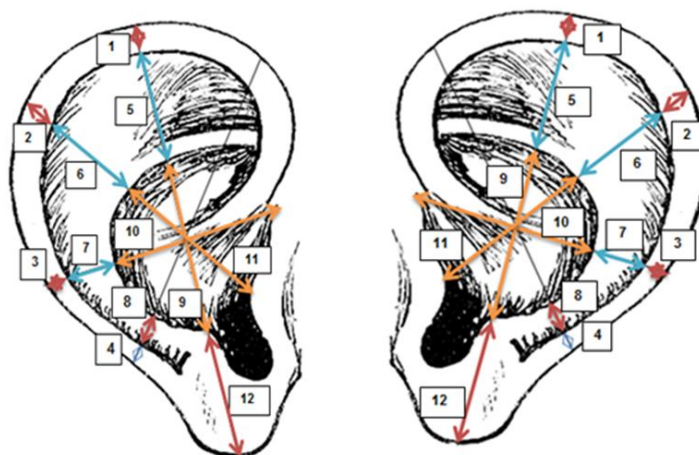


Рисунок 2 – Определение метрических размеров ушных раковин

Статистическую обработку антропометрических данных проводили с использованием Ms Excel 9.0, Statistica for Windows 6.0. Для описания изучаемых признаков использовали среднее арифметическое (M), среднее квадратическое отклонение (σ), медиану (Me), минимальное (Min), максимальное (Max) значение признака, процентиля ($P_{25;75}$) и ($P_{33;67}$). Сравнение выборочных долей проводили при помощи z-критерия.

Также в работе использовали метод корреляционного анализа с вычислением ранговой корреляции Спирмена (r_s). При значении коэффициента

корреляции $r \geq 0,7$ связь между признаками расценивалась как сильная, при коэффициенте $0,5 \leq r < 0,7$ – связь средней силы, при $0,3 \leq r < 0,5$ – слабая степень корреляции и при значении $r < 0,3$ – связь между признаками отсутствует.

При помощи методов регрессионного анализа исследовалась количественная связь между отдельными признаками с определением уравнений линейной регрессии. Исследовались признаки, имеющие коэффициент корреляции не менее 0,5 с последующим построением корреляционных полей, которые позволяли наглядно оценить степень зависимости и дисперсию исследуемых признаков. При проверке статистических гипотез принимали во внимание уровни значимости: $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,005$, $p < 0,001$.

Статистическую обработку всех данных, полученных при светооптическом, гистохимическом и морфометрическом исследовании, проводили с помощью пакета программ «Statistica 5.0» на Pentium 4. Полученные результаты представлены в виде графиков и таблиц, созданных с помощью программы Microsoft Excel и Microsoft Word.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопическом исследовании срезов эластического хряща ушной раковины, окрашенных гематоксилином и эозином, обращали внимание на толщину хрящевой пластинки ушной раковины, состояние надхрящницы, а также на толщину слоя молодого хряща, прилежащего к зрелому хрящу.

При оценке зоны зрелого хряща оценивали клетки хрящевой ткани – хондроциты, определяли в разных полях зрения каждого из срезов численную плотность одиночных клеток и изо групп, а также количество хондроцитов, входящих в состав изо групп. Оценивали структуру одиночных хондроцитов и изо групп с различным количеством клеток.

В срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, определяли объемную плотность межклеточного вещества в различные возрастные периоды, а при окраске орсеином устанавливали объемную плотность эластических волокон.

Проведенное микроскопическое исследование показало, что с возрастом

отмечается увеличение ширины хрящевой пластинки эластического хряща ушной раковины; так, если в юношеском возрасте толщина хрящевой пластинки ушной раковины составляла $(777,80 \pm 25,81)$ мкм, то в пожилом возрасте ее толщина достигала $(940,94 \pm 30,01)$ мкм (Таблица 1).

Таблица 1 – Результаты морфометрического исследования возрастных особенностей хрящевой ткани ушной раковины у людей в разные возрастные периоды ($M \pm m$).

Параметры	Возрастные периоды				
	юношеский 17 – 20 лет	первый зрелый 21 – 35 лет	второй зрелый		пожилой 61 – 75 лет
			36 – 50 лет	51 – 60 лет	
Ширина хрящевой пластинки, мкм	$777,80 \pm 25,81$	$808,42 \pm 27,49$	$861,02 \pm 25,58$	$934,80 \pm 32,39$	$940,94 \pm 30,01$
Ширина зоны молодого хряща, %	$12,78 \pm 0,49$	$11,28 \pm 0,36^*$	$8,89 \pm 0,22^*$	$7,76 \pm 0,27^*$	$5,83 \pm 0,20^*$
Ширина зоны зрелого хряща, %	$87,22 \pm 0,49$	$88,72 \pm 0,36^*$	$91,11 \pm 0,22^*$	$92,24 \pm 0,27^*$	$94,17 \pm 0,20^*$
Отношение зон зрелого и молодого хряща	6,82	7,86	10,25	11,89	16,17
Объемная плотность (Vv) эластических волокон, %	$31,32 \pm 1,05$	$28,48 \pm 1,04^*$	$25,32 \pm 0,82^*$	$21,70 \pm 0,67^*$	$14,82 \pm 0,50^*$
Примечание. * отмечены величины, достоверно отличающиеся от величин аналогичных параметров в предыдущем возрастном периоде (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$).					

При исследовании срезов эластического хряща уха, окрашенных гематоксилином и эозином, было отмечено уменьшение зоны молодого хряща в пожилом возрасте (61 – 75 лет) по сравнению с юношеским периодом (17 – 20 лет). Это связано с изменениями метаболизма хрящевой ткани, развивающимися по мере увеличения возраста. При оценке зрелого хряща в

молодом возрасте обращала на себя внимание большая объемная плотность среды межклеточного вещества и одиночных хондроцитов, отмечались митозы. При этом выявлялись лишь единичные изо группы, состоящие из 4–5 хондроцитов (Таблица 2).

Таблица 2 – Результаты сравнительного морфометрического исследования численной плотности хондроцитов в хрящевой пластинке ушной раковины у людей в разные возрастные периоды ($M \pm m$).

Численная плотность (N_{ai}) хондроцитов, $3,64 \times 10^5 \text{ мкм}^2$	Возрастные периоды				
	Юношеский 17–20 лет	Первый зрелый 21–35 лет	Второй зрелый		Пожилой 61–75 лет
			36–50 лет	51–60 лет	
Одиночных	$199,06 \pm 6,56$	$201,36 \pm 7,13$	$244,74 \pm 8,30^*$	$230,44 \pm 9,04$	$209,76 \pm 7,67$
Изо групп из 2–3 хондроцитов	$17,66 \pm 0,52$	$20,62 \pm 0,54^*$	$25,74 \pm 0,82^*$	$22,40 \pm 0,88^*$	$22,42 \pm 0,74$
Изо групп из 4–5 хондроцитов	$2,54 \pm 0,07$	$5,40 \pm 0,17^*$	$7,02 \pm 0,24^*$	$7,58 \pm 0,25$	$8,12 \pm 0,25$
Примечание. * отмечены величины, достоверно отличающиеся от величин аналогичных параметров в предыдущем возрастном периоде (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$).					

Микроскопическое исследование структуры хряща в первом зрелом возрасте было сходным с юношеским возрастом, однако было отмечено увеличение количества изо групп, содержащих по 2–3 хондроцита, а также увеличение численной плотности изо групп, состоящих из 4–5 клеток. Было выявлено уменьшение митозов.

В третьей исследуемой группе в возрасте от 36 до 50 лет в сравнении с предыдущими двумя исследуемыми группами отмечалось утолщение хрящевой пластинки за счет зрелого хряща, одновременно прослеживалось уменьшение толщины зоны молодого хряща. При микроскопии зрелого хряща заметно увеличивалась численная плотности всех изо групп. Нарастало количество одиночных хондроцитов.

В четвертой исследуемой группе, возраст в которой составил от 51 до 60 лет, при микроскопическом исследовании срезов эластического хряща ушной раковины, окрашенных гематоксилином и эозином, отмечали еще большее уменьшение зоны молодого хряща, увеличение толщины хрящевой пластинки и, соответственно, толщины зоны зрелого хряща. В зрелом хряще отмечали некоторое уменьшение численной плотности изо групп, содержащих 2–3 хондроцита, а численная плотность изо групп, в составе которых было по 4–5 хондроцитов, увеличилась. В этой возрастной группе начинало уменьшаться количества одиночных хондроцитов, по сравнению с предыдущей.

При гистологическом исследовании эластического хряща ушной раковины в последней группе (61 – 75 лет) толщина хрящевой пластинки и ширина зрелого хряща достигли максимума, по сравнению со всеми предыдущими возрастными группами, и соответственно составили $(940,94 \pm 0,01)$ мкм и $(94,17 \pm 0,20)$ %. Наряду с описанными изменениями, связанными с утолщением хряща ушной раковины, отмечали истончение зоны молодого хряща. В пожилом возрасте, как и в предыдущей группе, происходило уменьшение численной плотности одиночных хондроцитов; численная плотность изо групп, содержащих по 2–3 клетки, почти не изменилась по сравнению с группой возрастного периода 51 – 60 лет. Наряду с этими изменениями наблюдали увеличение изо групп, содержащих по 4 и 5 клеток.

При оценке структуры эластического хряща ушной раковины в случаях окраски срезов орсеином хондоциты хорошо контурировали, они были достаточно крупными, преобладали одиночные клетки. Как и при микроскопии срезов с использованием окраски гематоксилином и эозином, обращало на себя внимание преобладание межклеточного вещества в юношеском возрасте, которое постепенно уменьшалось в течение зрелого и совсем было снижено в пожилом возрасте. При оценке срезов, окрашенных орсеином, для первой группы характерным была высокая объемная плотность эластических волокон, составившая $(31,32 \pm 01,05)$ %, которая постепенно с возрастом снижалась и

достигала в пожилом возрасте ($14,82 \pm 0,50$) %. Наряду с этими изменениями по мере «старения хряща» отмечалось появление дегенеративных изменений эластического хряща в виде очаговых зон резорбции, а также увеличения содержания коллагеновых волокон.

Таким образом, в результате проведенного морфологического анализа, основанного на оценке структуры эластического хряща ушной раковины у человека и морфометрическом исследовании численной плотности хондроцитов и объемной плотности межклеточного вещества в хрящевой пластинке, были выявлены характерные изменения для различных возрастных периодов. Выявленные при микроскопическом исследовании структурные изменения хряща ушной раковины в различных возрастных группах могут быть использованы при отождествлении личности.

Проведенное нами морфогистохимическое исследование хрящевой ткани позволило получить конкретные данные о морфологических изменениях и интенсивности флуоресценции, отражающее состояние и распределение агрекана в хрящевой ткани ушной раковины.

Анализ интенсивности гистофлуоресценции исследуемых фрагментов хрящевой ткани выявил увеличение показателей (Рисунок 3).

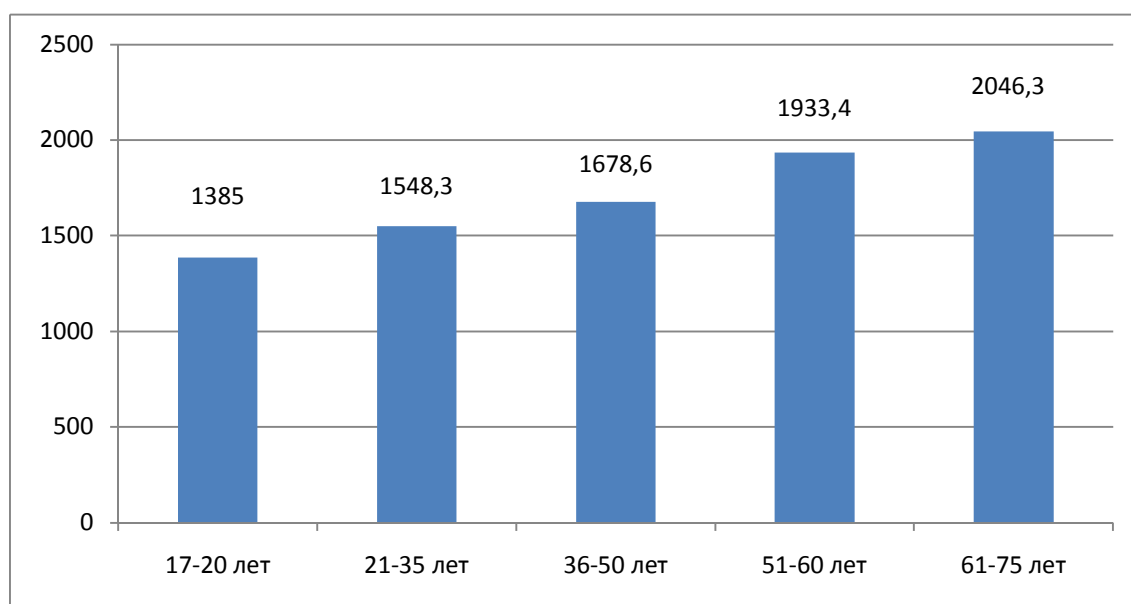


Рисунок 3 – Выявленные результаты, отражающие интенсивность гистофлуоресценции агрекана (в условных единицах) в хряще в различных возрастных группах

Наглядно мы это можем наблюдать на рисунке 3 при сравнительном анализе среднего значения интенсивности флуоресценции, где в возрастной группе от 17 до 20 лет среднее значение составило 1385 усл. ед., от 21 до 35 лет – 1548,3 усл. ед., в возрасте от 36 до 50 лет – 1678,6 усл. ед., в возрасте от 51 до 60 лет – 1933,4 усл. ед., а возрасте от 61 до 75 лет – 2046,3 усл. ед.

При проведении антропометрии 580 ушных раковин мужчин и женщин выявлен ряд изменений, имеющий индивидуальный характер. В анализе результатов наших исследований выявлено, что морфологические параметры правой ушной раковины не всегда совпадают с морфологическими параметрами левой ушной раковины у одного и того же человека.

Длина правой ушной раковины у женщин колеблется от 5,2 до 8,3 см, разброс значений в пределах межцентильного интервала P_{25-75} составляет 6,8-7,8 см, значение медианы – 7,2 см; длина левой ушной раковины – от 5,1 – 7,6 см, разброс значений в пределах межцентильного интервала P_{25-75} составляет 6,5 - 7,0 см, значение медианы – 6,8 см. Ширина правой УР у женщин колеблется от 2,1 до 4,0 см, разброс значений в пределах межцентильного интервала P_{25-75} составляет 2,8 – 3,5 см, значение медианы – 3,0 см, а левой – от 2,3 до 4,7 см, разброс значений в пределах межцентильного интервала P_{25-75} – 2,8 – 4,2 см, значение медианы – 3,8 см (Таблица 3).

Таблица 3 – Средние размеры ушных раковин (М – среднее арифметическое)

Параметры	Женщины				Мужчины			
	R		L		R		L	
	max-min	M	max-min	M	max-min	M	max-min	M
Общая длина	8,3–5,2	6,436	7,6–5,1	6,479	8,8–5,6	6,643	8,0–5,4	6,583
Общая ширина	4,0–2,1	3,021	4,7–2,3	2,988	4,5–1,8	3,104	4,3–1,7	3,077

У мужчин длина правой ушной раковины колеблется от 5,4 до 8,5 см, значение медианы – 6,8 см; длина левой ушной раковины от 5,4 до 8,0 см,

значение медианы – 7,2 см. Ширина правой УР у мужчин колеблется от 1,8 до 4,5 см, значение медианы – 3,2 см, а левой – от 1,7 до 4,3 см, значение медианы – 2,8 см. Ширина ушной раковины у мужчин всегда меньше (при $p < 0,05$) длины, их соотношение составляет 1 : 1,5, а у женщин соответствует (при $p < 0,05$) 1 : 2.

Наиболее значимые результаты были отмечены при оценке длины противозавитка по верхней диагональной направляющей линии. Асимметрия по этому признаку в 2 раза чаще встречалась у мужчин, чем у женщин. Длина противозавитка по горизонтальной направляющей линии отмечалась чаще у женщин, она встречалась в 27 % случаях, этот признак у мужчин встречался в 13 % случаев. Эти признаки являются наиболее информативными для установления половой принадлежности.

Все новые данные, которые возможно получить при комплексной морфологической оценке хряща ушной раковины и ее морфологических особенностях, могут быть использованы для прикладных целей в экспертной практике.

ВЫВОДЫ

1. Эластический хрящ ушной раковины человека в различные возрастные периоды жизни характеризуется структурными изменениями, связанными с увеличением толщины хрящевой пластинки и изменений соотношения зон зрелого и молодого хряща, а также объемной плотности межклеточного вещества и эластических волокон в сочетании с изменениями численной плотности одиночных хондроцитов и изогрупп.

2. Хрящ ушной раковины в юношеском возрасте характеризуется: более выраженной зоной молодого хряща, большой объемной плотностью эластических волокон и межклеточного вещества зрелого хряща, преобладанием одиночных хондроцитов, наличием в них митозов, небольшим количеством изогрупп, состоящих из 2–3 хондроцитов, единичными изогруппами, в состав которых входит 4–5 хондроцитов.

3. В зрелом возрасте структура эластического хряща ушной раковины характеризуется постепенным увеличением ширины хрящевой пластинки;

уменьшением зоны молодого хряща, объемной плотности эластических волокон и межклеточного вещества; увеличением ширины зрелого хряща с увеличением количества одиночных клеток и изо групп, имеющих в составе от 2 до 5 клеток.

4. Для пожилого возраста характерными структурными особенностями хряща ушной раковины являются увеличение ширины хрящевой пластинки и зоны зрелого хряща; истончение молодого хряща; некоторое уменьшение одиночных хондроцитов; увеличение изо групп, в составе которых 4–5 хондроцитов; значительное снижение объемной плотности эластических волокон.

5. При гистохимическом исследовании эластического хряща ушной раковины с использованием гистофлюоресценции в различные возрастные периоды отмечается изменение содержания агрекана, которое составляет: а) в юношеском возрасте (17 до 20 года) – 1385 условных единиц, б) в различные периоды зрелого возраста: от 21 до 35 лет – 1548,3 условных единиц; от 36 до 50 лет – 1678,6 условных единиц; от 51 до 60 лет – 1933,4 условных единиц; в пожилом возрасте от 61 до 75 лет – 2046,3 условных единиц.

6. Выявленные при комплексной морфологической оценке характерные особенности хряща ушной раковины и ее строения позволяют устанавливать возраст и пол человека, они могут быть использованы при отождествлении личности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для использования предложенной методики комплексной морфологической оценки ушной раковины необходима определенная последовательность выполнения основных этапов исследования.

2. На первом этапе проводится определение 12 метрических размеров между 16 реперными точками, нанесенными на каждую из ушных раковин по 4 направляющим осевым линиям.

3. Осуществляется забор 2 фрагментов хряща из каждой ушной раковины конкретного исследуемого с последующей стандартной фиксацией,

гистологической проводкой образцов и окраской срезов гематоксилином и эозином, а также орсеином и по Ван-Гизону.

4. Для иммуногистохимического исследования при заборе фрагментов хряща из каждой ушной раковины проводится стандартизация кусочков, помещение их в лиофилизатор, изготовление срезов и их окрашивание антителами.

5. При световом гистологическом исследовании срезов хряща ушной раковины следует провести оценку выраженности зоны молодого хряща, численной плотности хондроцитов и сформированных изогрупп зрелого хряща, а также объемной плотности межклеточного вещества и эластических волокон.

6. Определение содержания аггрекана в хряще ушной раковины проводят на основании оценки выраженности гистофлюоресценции.

7. Сравнительная оценка полученных данных при гистологическом и иммуногистохимическом исследовании позволяет решить вопрос о возрасте человека.

8. Оценка выявленных антропометрических показателей при исследовании ушных раковин позволяет определить пол человека. Предложенный способ антропометрии ушной раковины существенно расширяет возможности судебно-медицинской экспертизы и может быть рекомендован для повышения эффективности идентификации личности, в том числе по останкам неизвестных с целью определения пола.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гистохимическое определение содержания остеопонтина и аггрекана в хряще ушной раковины при установлении возраста / В.П. Новоселов, С.В. Савченко, **Е.В. Пяткова**, Е.В. Царенко // **Сибирский медицинский журнал**. – Томск, 2011. – Том № 26. – С. 19-21.

2. Новоселов, В.П. Современные возможности экспертной оценки особенностей строения ушной раковины при идентификации личности / В.П. Новоселов, С.В. Савченко, **Е.В. Пяткова** // **Медицинская экспертиза и право**. – Новосибирск, 2013. – №6. – С. 8-11.

3. Возможность установления пола при судебно-медицинской идентификации личности с использованием ушной раковины / В.П. Новоселов, С.В. Савченко, **Е.В. Пяткова**, М.Ю. Гусева, Ю.В. Чикинев, А. Н. Надеев, С.А. Старостин // **Медицина и образование в Сибири.** – Новосибирск, 2013. – № 6.

4. Новоселов, В.П. Оценка морфогистохимических особенностей хряща ушной раковины при идентификации личности при идентификации личности / В.П. Новоселов, С.В. Савченко, **Е.В. Пяткова** // Вестник судебной медицины. – Новосибирск, 2014. – № 2, Том 3. – С. 22-25.

5. Пяткова, Е.В. Ушная раковина как объект идентификации личности / Е.В. Пяткова // Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики : сборник научно-практических работ с международным участием. – Выпуск 18 / под. ред. В.П. Новоселова, Б.А. Саркисяна, А.Б. Шадымова. – Барнаул-Новосибирск, 2012. – С.239-241.

6. Новоселов, В.П. Морфологическая характеристика хондритов хряща ушной раковины в различные возрастные периоды человека/ В.П. Новоселов, С.В. Савченко, **Е.В. Пяткова** // Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики : сборник научно-практических работ / под. ред. В.П. Новоселова, Б.А. Саркисяна, А.Б. Шадымова. – Новосибирск, СТТ, 2014. – Вып. 20. – С.181-284.

7. Современные возможности гистохимии при идентификации личности / В.П. Новоселов, С.В. Савченко, **Е.В. Пяткова**, Е.В.Царенко // Новые горизонты: инновации и сотрудничество в медицине и здравоохранении : материалы 9-й Российско-немецкой научно-практической конференции Форума им. Р.Коха и И.И. Мечникова. – Новосибирск, 2010. – С. 147-149.

8. Возрастная изменчивость содержания остепонтин в хряще ушной раковины / В.П. Новоселов, С.В. Савченко, **Е.В. Пяткова**, Е.В. Царенко // Морфология критических и терминальных состояний : материалы научно-практической конференции с международным участием, просвещённой

85-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки РФ, профессора В.И. Алисиевича. – Москва, 2011. – С. 139-140.

9. **Пяткова, Е.В.** Возможности установления возраста человека по содержанию стабильных протеогликанов хряща ушной раковины / **Е.В. Пяткова, Е.В. Царенко** // Авиценна-2011 : материалы 2-й Российской (итоговой) конкурс-конференции студентов и молодых ученых. – Новосибирск : Сибмедиздат НГМУ, 2011. – С. 415-416.

10. Экспертная оценка изменений количества состава агрекана в хрящевой ткани ушной раковины в возрастном аспекте для целей идентификации личности / **Е.В. Пяткова, И.А. Суханов, А.С. Морозова, А. В. Смагина** // Авиценна-2014 : материалы 5-й Российской (итоговой) научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых : в 2 т. – Новосибирск : Сибмедиздат НГМУ, 2014. – Новосибирск, 2014. – Том № 2. – С. 251-252.

11. Ушная раковина как объект идентификации личности / **Е.В. Пяткова, В.В. Ложкин, А.С. Морозова, А. В. Смагина** // Авиценна-2014 : материалы 5-й Российской (итоговой) научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых : в 2 т. – Новосибирск : Сибмедиздат НГМУ, 2014. – Том № 2. – С. 252-253.

12. Изменения содержания агрекана в хряще ушной раковины в возрастном аспекте / В.П. Новоселов, С.В. Савченко, **Е.В. Пяткова, Е.В. Царенко** // Современные вопросы судебно-медицинской науки и практики : материалы научно-практической конференции, посвященной 85-летию образования судебно- медицинской службы Свердловской области: сб. научных статей / под. ред. Д.Л. Кондрашова, Г. А. Вишневого. – Екатеринбург, 2010. – Екатеринбург : полиграфист, «Типография для Вас», 2010. – С. 263-266.