



**Метр Виталий  
Николаевич**



**Лихачёва Светлана  
Николаевна**



**Крылов Андрей  
Юрьевич**  
кандидат медицинских  
наук, доцент

УДК 616-001

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИЖИЗНЕННОСТИ ПОВРЕЖДЕНИЙ КОЖИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАРКЕРА ИНТЕРЛЕЙКИН-1 $\beta$

(DETERMINATION OF THE VITALITY OF SKIN  
LESIONS USING THE IMMUNOHISTOCHEMICAL  
METHOD WITH THE INTERLEUKIN-1 $\beta$  MARKER)

Статья посвящена установлению прижизненности повреждений. Авторы предлагают использовать иммуногистохимические методы, позволяющие выявлять молекулярные маркеры воспаления, такие как IL-1 $\beta$  (интерлейкин-1 бета), до формирования морфологических признаков иммунного ответа. Результаты показали, что экспрессия IL-1 $\beta$  в эпидермисе поврежденных участков кожи статистически значимо выше, чем в интактных участках из области контроля, что подтверждает информативность данного маркера для диагностики прижизненности повреждений. Значимых различий в экспрессии IL-1 $\beta$  между дермой из поврежденных и неповрежденных участков кожи не выявлено. Применение программного обеспечения позволяет объективно оценивать результаты иммуногистохимических исследований, исключая субъективный фактор, и предоставляет количественные данные, пригодные для статистического анализа.

*Ключевые слова:* прижизненность образования повреждений; поверхностные мягкие ткани; иммуногистохимия; интерлейкин-1 бета; морфометрия

**Введение.** Установление прижизненности возникновения повреждений является одной из наиболее важных задач с момента появления судебно-медицинской экспертизы. Оно имеет непосредственное юридическое значение, поскольку способствует формированию правовой оценки события.

**Метр Виталий Николаевич**, старший преподаватель кафедры патологической анатомии Гомельского государственного медицинского университета (Беларусь, 246000, г. Гомель, ул. Ланге, 5; e-mail: v.metr@mail.ru; тел./tel.: +375296801984)

**Лихачёва Светлана Николаевна**, начальник управления судебно-гистологических экспертиз главного управления судебно-медицинских экспертиз центрального аппарата Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь (Беларусь, 220080, г. Минск, Долгиновский тракт, 160а; e-mail: Likhacheva7@gmail.com; тел./tel.: +375173086770)

**Крылов Андрей Юрьевич**, заведующий кафедрой судебной медицины Института повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, государственный медицинский судебный эксперт, врач-патологоанатом высшей категории (Беларусь, 220033, г. Минск, пр-т Партизанский, 2/5-3; e-mail: andrei\_krlov@mail.ru; тел./tel.: +375173612634), кандидат медицинских наук, доцент

**Vitali N. Metr**, Gomel State Medical University (Gomel, Belarus)

**Svetlana N. Likhacheva**, State Forensic Examination Committee of the Republic of Belarus (Minsk, Belarus)

**Andrey Y. Krylov**, Institute of Further Training and Retraining of the Personnel of the State Forensic Examination Committee of the Republic of Belarus (Minsk, Belarus), Ph. D. in Medicine, Associate Professor

Диагностика факта прижизненности повреждений относится к числу ключевых элементов проведения судебно-медицинской экспертизы трупа, от достоверности, качества и обоснованности выполнения которой зависят не только выводы эксперта, но и дальнейшие юридические перспективы дела.

Усовершенствование современных методов диагностики прижизненности повреждений остается одной из наиболее значимых и приоритетных задач в судебно-медицинской практике [1-3].

Применяемые на текущем этапе развития судебно-медицинской науки методы установления прижизненности образования повреждений, основанные на последовательной смене этапов воспалительно-репаративного процесса, не в полной мере удовлетворяют современным реалиям. Данные методы на этапе агонального периода, непосредственно перед наступлением смерти, не позволяют уверенно диагностировать прижизненность возникновения либо исключить таковую, поскольку их чувствительность не способна выявить процессы на молекулярном уровне, в частности медиаторы воспаления [4; 5].

Визуально определяемые критерии – кровоизлияния, воспалительно-репаративные явления, их динамика – нередко являются основой для установления прижизненности повреждений.

Достижения современной науки позволяют диагностировать прижизненность образования повреждения с помощью морфологических, цитологических и молекулярно-биологических методов [6-8].

Применение иммуногистохимических (ИГХ) методов дает возможность установить достоверные критерии прижизненности образования повреждений на этапе, когда подходы, основанные на рутинной световой микроскопии сосудисто-стромальных реакций, не имеют достаточной чувствительности, то есть в период, когда смерть наступила до формирования четкой микроскопически определяемой воспалительной реакции [9].

Одним из элементов, вызывающих обоснованные сомнения в беспристрастности при формировании подтверждения прижизненности образования повреждений, является визуальное (субъективное, чувственное) восприятие результатов полученной иммуногистохимической реакции, основанной на оценке степени экспрессии: отсутствие окрашивания, мини-

мальная экспрессия, умеренная экспрессия, интенсивная экспрессия. Применение современного программного обеспечения позволяет избегать субъективного элемента при оценке уровня экспрессии и использовать конкретные значения площади и/или интенсивности экспрессии для обоснования положительного или отрицательного ответа [10].

Данное исследование основано на экспрессии маркера IL-1 $\beta$  (интерлейкин-1 бета), который синтезируется в виде предшественника и активируется каспазой-1 либо матриксными металлопротеиназами, незначительно экспрессируется в интактной коже и выраженно выявляется после травмы [7]. Внутриклеточно действует как алармин: в случае гибели клетки после разрушения клеточной мембраны происходит его высвобождение во внеклеточное пространство, благодаря чему активизируется воспалительная реакция [11]. Кроме того, имеются данные о росте экспрессии IL-1 $\beta$  при повреждении ДНК. В таком случае IL-1 $\beta$  выступает в качестве сигнала генотоксического повреждения без потери целостности клетки [12].

**Цель.** Определение возможности диагностики прижизненности повреждений кожи с использованием маркера IL-1 $\beta$  с применением программного обеспечения для анализа изображений.

**Материалы и методы.** Для проведения исследования были задействованы результаты всех иммуногистохимических реакций, проведенных в управлениях судебно-гистологических экспертиз главного управления судебно-медицинских экспертиз центрального аппарата Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь за 2023 год.

Забор материала осуществлялся от трупов, соответствовавших критериям включения: давность наступления смерти – не более 24 часов, в случае хранения трупов в холодильной камере при температуре 4-10 °С – в течение 72 часов; все повреждения имели заведомо прижизненное происхождение. Критерии исключения – наличие визуально определяемых начальных гнилостных изменений (гнилостной венозной сети, трупной эмфиземы, пузырей, заполненных гнилостной жидкостью), в том числе и при давности наступления смерти менее 24 часов. Таким образом, материал был получен от 12 умерших, всего исследовано 22 среза в 70 полях зрения.

Забор материала осуществлялся из области наружного повреждения, также изымался контрольный образец тканей из неповрежденной

области на расстоянии не менее 15 см от повреждения или с контрлатеральной стороны тела. Размеры кусочков кожи не превышали более 1,5-2,0 см длиной, 1,0-1,5 см шириной и 0,5-0,8 см толщиной, материал изымался по периферии повреждения с захватом неповрежденной ткани. Забор материала осуществлялся исключительно в 10%-ный нейтральный забуференный формалин, препараты маркировались. В емкость с фиксирующей жидкостью изъятый для исследования материал помещался сразу либо не позднее 15-20 минут; объем материала – не более 1/3 объема жидкости. Продолжительность фиксации составляла от 24 до 48 часов.

При изготовлении парафиновых блоков температура парафина не превышала 60 °С. С парафиновых блоков от каждого объекта получали срезы толщиной 5 мкм, после чего проводили ИГХ-исследование с использованием антител IL-1 $\beta$ . Гистологические срезы промывали в двух порциях фосфатного буфера pH 7,3 в течение 5 минут. Наносили первичные антитела к IL-1 $\beta$  (1:50, Abcam, Великобритания) и инкубировали во влажной камере на протяжении 60 минут. Затем гистологические срезы снова промывали в двух порциях фосфатного буфера pH 7,3 в течение 5 минут. Наносили на них вторичные антитела системы визуализации Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB ICH Detection Kit – Micro-polymer и инкубировали во влажной камере в течение 30 минут. После этого срезы промывали еще раз в двух порциях буферного раствора фосфатного буфера pH 7,3 в течение 5 минут и заключали под покровные стекла с использованием монтирующей среды Biomount

(BioOptica, Италия). Проводился негативный контроль иммуногистохимического исследования [13]. Изготовленные срезы предварительно анализировались посредством световой микроскопии, после чего при помощи оборудования Motic EasyScan (Motic China Group Co., Ltd., КНР) были изготовлены цифровые сканы полученных срезов. Цифровые сканы полученных гистологических препаратов изучались с применением программного обеспечения, поставляемого с оборудованием Motic EasyScan – Motic VM 3.0 – Motic Digital Slide Assistant (Motic China Group Co., Ltd., КНР) на увеличении 400х. В каждом отсканированном срезе исследовалось не менее пяти полей зрения с последующим их фотографированием (рисунок 1).

Методика передачи цвета в современных цифровых устройствах основана на RGB-технологии, в которой любой из цветов представляется комбинацией трех основных: красного, зеленого и синего. Их сочетание определяет цвет пикселя – наименьшей единицы цифрового изображения. Совокупность всех пикселей и представляется нам как изображение.

Цвет иммуногистохимической окраски выделялся из общего пула цветов на цифровой фотографии при помощи функции Color Deconvolution (Цветовая деконволюция), которая разделяет имеющиеся цвета на изображении с известными RGB-параметрами пикселей, и один из них (Colour2) определяет цвет маркера (DAB-хромоген): Colour2: R2: 0,268; G2: 0,57; B2: 0,776.

В результате цветовой деконволюции получали «отдельно взятый» цвет из исходной цифровой фотографии, соответствующий DAB-хромогену (рисунок 2).

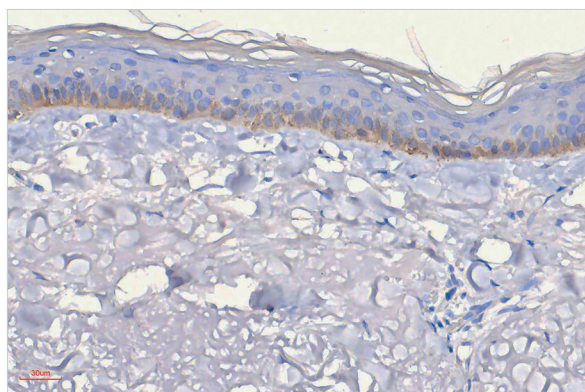


Рисунок 1. Поле зрения с экспрессией IL-1 $\beta$  базальными клетками эпителия. Контр-окрашивание – гематоксилин Майера, увеличение – 400х

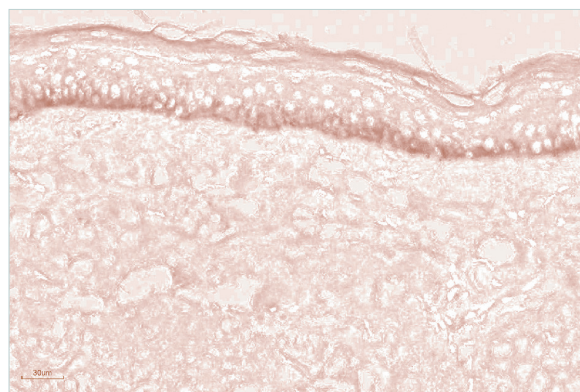


Рисунок 2. Цифровая фотография поля зрения окраски ИГХ-методом с антителами к IL-1 $\beta$  после цветовой деконволюции с параметрами R2: 0,268; G2: 0,57; B2: 0,776



Полученные изображения имели очевидное фоновое окрашивание, которое перед проведением расчетов нивелировалось путем регулировки максимального и минимального пороговых значений для окрашивания DAB, как указано на рисунке 3.

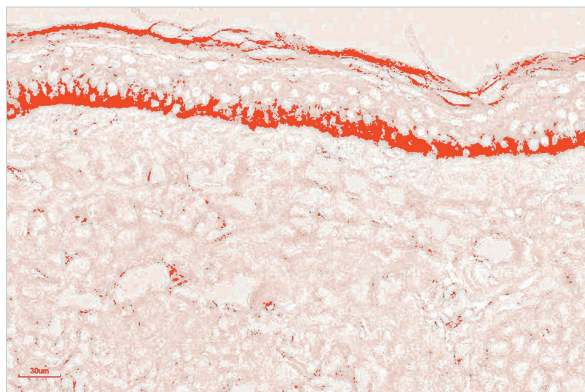


Рисунок 3. Установленные пороговые значения для окрашивания DAB

Далее проводилось выделение области анализа полученного изображения без попадания в нее явных артефактов (складки среза, зерна и т. д.), рогового слоя кожи, а также элементов придатков кожи, крупных сосудов. Для каждой цифровой фотографии были определены две отдельные области анализа – для эпидермиса и дермы. Границей области исследования эпидермиса являлись базальная мембрана и блестящий слой. Дерма исследовалась от базальной мембраны и до подкожно-жировой клетчатки при наличии таковой. Каждая из областей анализировалась отдельно при помощи программного обеспечения Fiji. Площадь экспрессии представляет собой объективные данные, полученные в результате программного расчета площади окрашивания DAB (площади экспрессии антигена) в процентах относительно выделенной области. В данном конкретном случае (анализ цифровой фотографии на рисунке 3)

площадь экспрессии антигена для эпидермиса составила 16,081636401 %, для дермы – 0,176094575 %, как указано на рисунке 4.

Аналогичные измерения проводились для каждой цифровой фотографии (поля зрения), полученные результаты заносятся в таблицу Microsoft Excel с указанием данных исследования (маркировки) и цифровой фотографии как эпидермиса, так и дермы для кожи из областей повреждения и контроля.

Статистический анализ полученных данных произведен с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 10. Проведена проверка нормальности их распределения с помощью теста Шапиро – Уилка отдельно для данных эпидермиса, дермы из областей повреждения и контроля. В результате установлены признаки ненормального распределения данных, что стало основанием для применения критерия Манна – Уитни (также известный как U-тест Манна – Уитни или Wilcoxon rank-sum test).

**Результаты и их обсуждение.** Данные теста Шапиро – Уилка для эпидермиса представлены в таблице 1. По его результатам обе выборки не прошли проверку на нормальность ( $p$ -значение меньше 0,05), то есть данные в них нормально не распределены. Для дальнейшего анализа (сравнения выборок) принято решение использовать непараметрический тест Манна – Уитни, результаты которого представлены на рисунке 5 и в таблице 2.

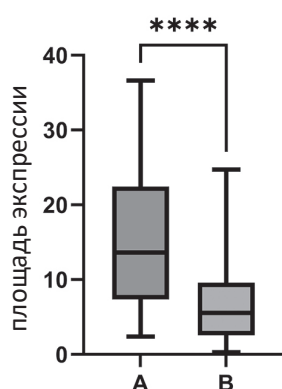
Таблица 1. Данные теста Шапиро – Уилка для эпидермиса

	Эпидермис из области повреждения	Эпидермис из области контроля
W	0,9415	0,8591
P value	0,0389	0,0010
Passed normality test (alpha = 0,05)	No	No
P value summary	*	***

	Label	Area	StdDev	%Area	MinThr	MaxThr
1	u1-2361-n3p-k4 il1_T1.png-(Colour_2)	35025	20.484708210	16.081636401	0	200
2	u1-2361-n3p-k4 il1_T1.png-(Colour_2)	1427	86.072329597	0.176094575	0	200

Рисунок 4. Результаты анализа выделенных областей при помощи программного обеспечения Fiji

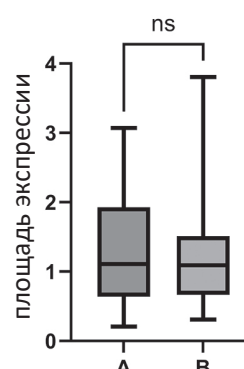
Визуализация распределения данных



A – эпидермис из области повреждения  
B – эпидермис из области контроля

Рисунок 5. Графическое представление для сравнительной характеристики распределения данных для групп эпидермиса

Визуализация распределения данных



A – дерма из области повреждения  
B – дерма из области контроля

Рисунок 6. Графическое представление для сравнительной характеристики распределения данных для групп дермы

Таблица 2. Данные теста Манна – Уитни для эпидермиса

P value	< 0,0001
Exact or approximate P value	Exact
P value summary	****
Significantly different (P < 0,05)	Yes
One- or two-tailed P value	Two-tailed
Sum of ranks in column A, B	1 761 – сумма рангов для выборки A 724 – сумма рангов для выборки B
Difference between medians	Median of column A: 13,62 (n = 40) Median of column B: 5,544 (n = 30) Difference: Actual: -8,072 Difference: Hodges-Lehmann: -7,596

Таблица 4. Данные теста Манна – Уитни для дермы

P value	0,8828
Exact or approximate P value	Exact
P value summary	ns
Significantly different (P < 0,05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A, B	1 433 – сумма рангов для выборки A 1 052 – сумма рангов для выборки B
Difference between medians	Median of column A: 1,107 (n = 40) Median of column B: 1,093 (n = 30) Difference: Actual: -0,01391 Difference: Hodges-Lehmann: -0,02876

Таблица 3. Данные теста Шапиро – Уилка для дермы

	Дерма из области повреждения	Дерма из области контроля
W	0,9357	0,8382
P value	0,0249	0,0004
Passed normality test (alpha = 0,05)	No	No
P value summary	*	***

Итоги сравнения площади экспрессии IL-1 $\beta$  для эпидермиса из областей повреждения и контроля указывают на наличие статистически значимых различий (p-значение < 0,0001) – нулевая гипотеза (отсутствие различий между

выборками) отвергнута. Разница между медианами (-8,072) показывает, что медиана выборки A (13,62) значительно выше медианы выборки B (5,544). Сумма рангов для выборки A (1 761) значительно выше, чем для выборки B (724). Это указывает на то, что значения в выборке A в целом больше, чем в выборке B.

Данные теста Шапиро – Уилка для дермы представлены в таблице 3. По ним был сделан вывод, что обе выборки не прошли проверку на нормальность (p-значение меньше 0,05), то есть данные нормально не распределены. Для дальнейшего анализа (сравнения выборок) принято решение использовать непараметрический тест Манна – Уитни (рисунок 6 и таблица 4).

Полученные результаты сравнения площади экспрессии IL-1 $\beta$  для дермы из областей

повреждения и контроля указывают на отсутствие статистически значимых различий между выборками ( $p$ -значение (0,8828) значительно больше 0,05) – нулевая гипотеза (отсутствие различий между выборками) не отвергается. Разница между медианами (-0,01391) очень мала, что подтверждается методом Ходжеса – Лемана (-0,02876) и говорит о том, что медианы двух выборок практически одинаковы. Сумма рангов для выборки А (1 433) немного выше, чем для выборки В (1 052), однако это различие не является статистически значимым. Показатели в выборке А в целом не имеют значимых различий с выборкой В.

**Заключение.** На основании проведенного исследования можно утверждать, что применение программного обеспечения для анализа изображений с целью оценки результатов ДАВ-окраски оправдано. Такой анализ позволяет исключить искусственные данные на этапе выделения области исследования, получить результаты ИГХ-исследования в виде конкретной цифры (значения площади в процентах относительно выделенной области) без присутствия субъективной оценки, которая без труда

поддается статистическому анализу, представить полученные данные в виде наглядной иллюстрации, понятной для людей без специальной подготовки (образования).

Статистически достоверно подтверждена информативность применения IL-1 $\beta$  для диагностики прижизненности повреждений ( $p$ -значение < 0,0001) в случае оценки его экспрессии в эпидермисе из области повреждения относительно интактного эпидермиса, исключена его информативность ( $p$ -значение (0,8828) значительно больше 0,05) в случае оценки его экспрессии в дерме из области повреждения относительно интактной дермы.

Иммуногистохимические методы исследования в судебной медицине представляют возможности, ранее не используемые в данной отрасли. Они на субклеточном уровне позволяют обосновать заключение эксперта-гистолога и танотолога, на молекулярном – определить предшественников морфологических изменений, что в совокупности с современным программным обеспечением способствует решению задач, которые до этого не имели шанса на объективное обоснование.

### Список литературы

1. Куприянов, Д. Д. Выявление некоторых маркеров ранней фазы воспалительно-репаративного процесса при механических повреждениях кожи / Д. Д. Куприянов, М. В. Федулова // Судебно-медицинская экспертиза. – 2024. – Т. 67, № 2. – С. 17-19. – DOI: 10.17116/sudmed20246702117.
2. Судебная медицина. Национальное руководство / под ред. Ю. И. Пиголкина. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 576 с.
3. Суркова, Е. И. Определение давности механических повреждений иммуногистохимическим методом / Е. И. Суркова // Проблемы экспертизы в медицине. – 2014. – Т. 14, № 4 (56). – С. 12-14. – EDN: UYWUCB.
4. Федулова, М. В. Достоверность иммуногистохимической оценки прижизненности и давности повреждений: анализ и перспективы исследований / М. В. Федулова, Д. Д. Куприянов // Судебно-медицинская экспертиза. – 2020. – Т. 63, № 2. – С. 52-57. – DOI: 10.17116/sudmed20206302152.
5. Ohshima, T. Forensic wound examination / T. Ohshima // Forensic Science International. – 2000. – Vol. 113, № 1-3. – P. 153-164. – DOI: 10.1016/s0379-0738(00)00269-3. – PMID: 10978618.
6. Cecchi, R. Estimating wound age: looking into the future / R. Cecchi // International Journal of Legal Medicine. – 2010. – Vol. 124. – P. 523-536. – DOI: 10.1007/s00414-010-0505-x.
7. Les marqueurs de vitalité des blessures en pathologie médico-légale [The markers of wound vitality in forensic pathology] / G. Gauchotte, L. Martrille, F. Plénat, J. M. Vignaud // Annales de Pathologie. – 2013. – Vol. 33, № 2. – P. 93-101. – DOI: 10.1016/j.annpat.2013.02.006. – PMID: 23582835.
8. Grellner, W. Demands on scientific studies: vitality of wounds and wound age estimation / W. Grellner, B. Madea // Forensic Science International. – 2007. – Vol. 165. – P. 150-154. – DOI: 10.1016/j.forsciint.2006.05.029.
9. Review of the current and potential use of biological and molecular methods for the estimation of the postmortem interval in animals and humans / N. Wenzlow, D. Mills, J. Byrd [et al.] // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. – 2023. – Vol. 35, № 2. – P. 97-108. – DOI: 10.1177/10406387231153930. – PMID: 36744749; PMCID: PMC999395.
10. Crowe, A. R. Semi-quantitative determination of protein expression using immunohistochemistry staining and analysis: an integrated protocol / A. R. Crowe, W. Yue // Bio-Protocol. – 2019. – Vol. 9, № 24. – Article e3465. – DOI: 10.21769/BioProtoc.3465. – PMID: 31867411; PMCID: PMC6924920.
11. Induction of cytokine (interleukin-1 $\alpha$  and tumor necrosis factor- $\alpha$ ) and chemokine (CCL20, CCL27, and CXCL8) alarm signals after allergen and irritant exposure / S. W. Spiekstra, M. J. Toebak, S. Sampat-Sardjoepersad [et al.] // Experimental Dermatology. – 2005. – Vol. 14, № 2. – P. 109-116. – DOI: 10.1111/j.0906-6705.2005.00226.x. – PMID: 15679580.
12. IL-1 $\alpha$  is a DNA damage sensor linking genotoxic stress signaling to sterile inflammation and innate immunity / I. Cohen, P. Rider, E. Vornov [et al.] // Scientific Reports. – 2015. – Vol. 5. – Article 14756. – DOI: 10.1038/srep14756. – Erratum in: Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6. – Article 19100. – DOI: 10.1038/srep19100. – PMID: 26439902; PMCID: PMC4593953.

13. Зиновкин, Д. А. Роль воспалительного компонента опухолевого микроокружения эндометриоидной аденокарциномы тела матки при различных исходах заболевания / Д. А. Зиновкин // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2016. – Т. 12, № 1. – С. 73-78. – DOI: 10.17650/1994-4098-2016-12-1-73-78. – EDN: TWDKWC.
14. Fiji: ImageJ, bundled with plugins. – URL: <https://imagej.net/software/fiji/#publication> (дата обращения: 12.10.2023).

## References

1. Kupriyanov D. D., Fedulova M. V. Vyyavlenie nekotorykh markerov rannej fazy vospalitel'no-reparativnogo processa pri mekhanicheskikh povrezhdeniyah kozhi [Detection of some markers of the early phase of the inflammatory and reparative process in mechanical skin injuries]. *Sudebno-medicinskaya ekspertiza*. 2024. Vol. 67, iss. 2. P. 17-19. DOI: 10.17116/sudmed20246702117. (Russian).
2. Pigolkin Y. I. Sudebnaya medicina. Nacional'noe rukovodstvo [Forensic Medicine. National Guide]. Moscow, GEOTAR-Media, 2018. 576 p. (Russian).
3. Surkova E. I. Opredelenie davnosti mekhanicheskikh povrezhdenij immunogistohimicheskim metodom [Determination of the age of mechanical damage by the immunohistochemical method]. *Problemy ekspertizy v medicine*. 2014. Vol. 14, iss. 4 (56). P. 12-14. EDN: UYWUCB. (Russian).
4. Fedulova M. V., Kupriyanov D. D. Dostovernost' immunogistohimicheskoj ocenki prizhiznennosti i davnosti povrezhdenij: analiz i perspektivy issledovanij [Reliability of the immunohistochemical estimation of vitality and injury age: analysis and perspectives for study]. *Sudebno-medicinskaya ekspertiza*. 2020. Vol. 63, iss. 2. P. 52-57. DOI: 10.17116/sudmed20206302152. (Russian).
5. Ohshima T. Forensic wound examination. *Forensic Science International*. 2000. Vol. 113, iss. 1-3. P. 153-164. DOI: 10.1016/S0379-0738(00)00269-3. PMID: 10978618.
6. Cecchi, R. Estimating wound age: looking into the future. *International Journal of Legal Medicine*. 2010. Vol. 124. P. 523-536. DOI: 10.1007/s00414-010-0505-x.
7. Gauchotte G., Martrille L., Plénat F., Vignaud J. M. Les marqueurs de vitalité des blessures en pathologie médico-légale [The markers of wound vitality in forensic pathology]. *Annales de Pathologie*. 2013. Vol. 33, iss. 2. P. 93-101. DOI: 10.1016/j.anpat.2013.02.006. PMID: 23582835. (French).
8. Grellner W., Madea B. Demands on scientific studies: vitality of wounds and wound age estimation. *Forensic Science International*. 2007. Vol. 165. P. 150-154. DOI: 10.1016/j.forsciint.2006.05.029.
9. Wenzlow N., Mills D., Byrd J., Warren M., Long M. T. Review of the current and potential use of biological and molecular methods for the estimation of the postmortem interval in animals and humans. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2023. Vol. 35, iss. 2. P. 97-108. DOI: 10.1177/10406387231153930. PMID: 36744749; PMCID: PMC9999395.
10. Crowe A. R., Yue W. Semi-quantitative determination of protein expression using immunohistochemistry staining and analysis: an integrated protocol. *Bio-Protocol*. 2019. Vol. 9, iss. 24. Article e3465. DOI: 10.21769/BioProtoc.3465. PMID: 31867411; PMCID: PMC6924920.
11. Spiekstra S. W., Toebak M. J., Sampat-Sardjoepersad S., van Beek P. J., Boorsma D. M., Stoof T. J., von Blomberg B. M. E., Scheper R. J., Bruynzeel D. P., Rustemeyer T., Gibbs S. Induction of cytokine (interleukin-1 $\alpha$ ) and tumor necrosis factor- $\alpha$  and chemokine (CCL20, CCL27, and CXCL8) alarm signals after allergen and irritant exposure. *Experimental Dermatology*. 2005. Vol. 14, iss. 2. P. 109-116. DOI: 10.1111/j.0906-6705.2005.00226.x. PMID: 15679580.
12. Cohen I., Rider P., Vornov E., Tomas M., Tudor C., Wegner M., Brondani L., Freudenberg M., Mittler G., Ferrando-May E., Dinarello C. A., Apte R. N., Schneider R. IL-1 $\alpha$  is a DNA damage sensor linking genotoxic stress signaling to sterile inflammation and innate. *Scientific Reports*. 2015. Vol. 5. Article 14756. DOI: 10.1038/srep14756. Erratum in: *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. Article 19100. DOI: 10.1038/srep19100. PMID: 26439902; PMCID: PMC4593953.
13. Zinovkin D. A. Rol' vospalitel'nogo komponenta opuholevogo mikrookruzheniya endometrioidnoj adenokarcinomy tela matki pri razlichnykh iskhodah zaboлевaniya [The role of the inflammatory component of the tumor microenvironment of endometrioid adenocarcinoma of the uterine body in various disease outcomes]. *Opuholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy*. 2016. Vol. 12, iss. 1. P. 73-78. DOI: 10.17650/1994-4098-2016-12-1-73-78. EDN: TWDKWC. (Russian).
14. Fiji: ImageJ, bundled with plugins. URL: <https://imagej.net/software/fiji/#publication> (accessed: 12.10.2023).

## Abstract. Keywords

The article is devoted to determining the vitality of injuries. The use of immunohistochemical methods is proposed, which allow the detection of molecular markers of inflammation, such as IL-1 $\beta$  (interleukin-1 beta), before the formation of morphological signs of an immune response. The results showed that the expression of IL-1 $\beta$  in the epidermis of damaged skin areas is statistically significantly higher than in intact control areas, confirming the informativeness of this marker for diagnosing the vitality of injuries. However, no significant differences in IL-1 $\beta$  expression were found in the dermis between damaged and undamaged skin areas. The use of software allows for an objective evaluation of immunohistochemical study results, eliminates subjective factors, and provides quantitative data suitable for statistical analysis.

**Keywords:** vitality of injuries; superficial soft tissues; immunohistochemistry; interleukin-1 beta; morphometry

Received (дата поступления): 13.02.2025