

**БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**ІМЕНІ П.Л. ШУПИКА**

**АСОЦІАЦІЯ СУДОВИХ МЕДИКІВ УКРАЇНИ**

**ДСУ «ГОЛОВНЕ БЮРО СУДОВО-МЕДИЧНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ МІНІСТЕРСТВА**  
**ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»**

## **СУДОВО-МЕДИЧНА ЕКСПЕРТИЗА**

**Науково-практичний рецензований журнал № 1/2023**

*Заснований у грудні 2010 р.*

*Виходить 2 рази на рік*

**ISSN 2218-838X (Print)**

**ISSN 2707-8728 (Online)**

### **Засновники журналу:**

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика  
Буковинський державний медичний університет  
Асоціація судових медиків України  
ДСУ «Головне бюро судово-медичної експертизи МОЗ України»

Наказом МОН України № 735 від 29.06.2021 р. «Про затвердження рішень Атестаційної колегії Міністерства» журнал включено до Переліку наукових фахових видань України категорії «Б» (свідectво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації КВ № 25013-14953ПР), галузь науки «Медицина», спеціальність – 222.

Журнал включений у каталоги та наукометричні бази: Національна бібліотека ім. В.І. Вернадського (National Library of Ukraine), «Українська науково-освітня телекомунікаційна мережа URAN» (Open Journal Systems), CrossRef.

**Мова видання:** українська та англійська

### **Головний редактор:**

**Бачинський Віктор Теодосович** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, КМУ «Обласне бюро судово-медичної експертизи» департаменту охорони здоров'я Чернівецької ОДА, м. Чернівці, Україна

### **Заступник головного редактора:**

**Ванчуляк Олег Ярославович** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

### **Редакційна рада:**

**Андрієць О.А.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Борисюк А.С.** – д.психол.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Войченко В.В.** – к.мед.н., доц., Голова Асоціації судових медиків України, м. Дніпро, Україна

**Воронов В.Т.** – д.мед.н., проф., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, Україна

**Гаврилюк А.О.** – д.мед.н., проф., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, Україна

**Герасименко О.І.** – д.мед.н., проф., Донецький національний медичний університет, м. Кропивницький, Україна

**Гуров О.М.** – д.мед.н., проф., Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна

**Джозеф Сідло (Jozef Sidlo)** – к.мед.н., доц., Інститут судової медицини Медичного університету ім. Коменського, м. Братислава, Республіка Словаччина

**Захарчук О.І.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Зорій Н.І.** – к.філос.н., доц., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Ілащук Т.О.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Колоскова О.К.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Костенко Є.Я.** – д.мед.н., проф., Голова Асоціації судових стоматологів України, Ужгородський національний університет, м. Ужгород, Україна

**Кривда Г.Ф.** – д.мед.н., проф., Одеський національний медичний університет, м. Одеса, Україна

**Курт Трубнер (Kurt Truebner)** – Голова Асоціації судових медиків Східної Європи, Інститут судової медицини Дуйсбург-Ессенського Університету, м. Ессен, Федеративна Республіка Німеччина

**Михайличенко Б.В.** – д.мед.н., проф., Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

**Мішалов В.Д.** – д.мед.н., проф., Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна

**Нечитайло Ю.М.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Падуре А.М.** – д.мед.н., проф., Державний університет медицини і фармації ім. М. Тестеміцану, м. Кишинів, Республіка Молдова

**Пашковський В.М.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Пенішкевич Я.І.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Полянський І.Ю.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Савка І.Г.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Сілке Грабхер (Silke Grabherr)** – д.мед.н., проф., Науково-Практичний Центр Судової Медицини, Університетська Клініка Женеви та Лозанни, м. Лозанна, Швейцарська Конфедерація

**Сокольник С.О.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Ташук В.К.** – д.мед.н., проф., Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

**Ушенко О.Г.** – д.фіз.-мат.н., проф., Академік АН Вищої школи України, Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, м. Чернівці, Україна

#### **Редакційна колегія:**

**Білоус Т.М.** (д.мед.н., доц.), **Вербицька Ю.С.**, **Гараздук М.С.** (к.мед.н., доц.), **Гунас В.І.** (д.мед.н., доц.), **Давиденко І.С.** (д.мед.н., проф.), **Давтян Л.Л.** (д.фарм.н., проф.), **Дейнека С.Є.** (д.мед.н., проф.), **Дунаєв О.В.** (д.мед.н., проф.), **Заморський І.І.** (д.мед.н., проф.), **Козань Н.М.** (д.мед.н., проф.), **Козлов С.В.** (д.мед.н., проф.), **Корнілова Є.О.**, **Кривецький В.В.** (д.мед.н., проф.), **Кузняк Н.Б.** (д.мед.н., доц.), **Москалюк В.Д.** (д.мед.н., проф.), **Навчук І.В.** (к.мед.н., доц.), **Пономаренко М.С.** (д.фарм.н., проф.), **Слободян О.М.** (д.мед.н., проф.), **Струк І.М.** (к. філол. н.), **Федів В.І.** (д.фіз.-мат.н., проф.), **Федонюк Л.Я.** (д.мед.н., проф.), **Франчук В.В.** (д.мед.н., проф.), **Хухліна О.С.** (д.мед.н., проф.), **Цигикало О.В.** (д.мед.н., проф.), **Чайковський Ю.Б.** (ч.-к. НАМН України, д.мед.н., проф.), **Шаповалова В.О.** (д.фарм.н., проф.), **Шаповалов В.В.** (д.фарм.н., проф.), **Шевчук М.М.** (к.мед.н., доц.), **Шепітько В.Ю.** (акад. НАМН України, д.юр.н., проф.), **Шкварковський І.В.** (д.мед.н., проф.)

#### **Відповідальний редактор електронної версії журналу в системі Open Journal Systems (OJS):**

Саркісова Ю.В. (доктор філософії)

#### **Рекомендовано до друку та поширення через мережу Internet:**

Вченою радою Буковинського державного медичного університету (протокол №14 від 21.06.2023р.)

Президією Асоціації судових медиків України (протокол №9 від 07.07.2023 р.)

**Офіційний web-сайт журналу:** <http://forensic.bsmu.edu.ua/>

**Електронна версія журналу представлена:** Національна бібліотека ім. В.І.Вернадського (м Київ, Україна), Наукова періодика України, web-сайт: <http://www.irbis-nbuv.gov.ua/>

---

**ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ**

---

DOI: <https://doi.org/10.24061/2707-8728.1.2023.4>  
УДК 340.6:617.747-073.55-091**POSSIBILITIES OF DETERMINING THE TIME SINCE DEATH  
USING THE METHODS OF MULTIDIMENSIONAL POLARIZATION  
AND AUTOFLUORESCENCE MICROSCOPY OF THE HUMAN  
VITREOUS BODY****Bachynskyi V. T., Sarkisova Yu.V.**

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

**Summary.** Given the current state of affairs in practical forensic medicine and the considerable amount of scientific research on the exact determination of the postmortem interval, we conclude that the determination of the time since death is a key problem, but not yet sufficiently solved. Accurately estimating the time since death is critical to many investigations and remains one of the most challenging variables.

Carrying out an accurate determination of the time of death is important using a complex approach, since solving this problem requires taking into account all aspects of thanatogenesis, the influence of environmental factors and other circumstances of the case. This leads to an increase in the popularity of global research involving the latest advances in medicine, chemistry, physics and forensics. The use of comprehensive research allows us to come closer to establishing the approximate range of the time since death.

**Aim of the work.** Development of a complex of objective forensic medical criteria to improve the possibilities of accurately determining the time since death over a long period of time by using multidimensional polarization and autofluorescence microscopy of the human vitreous body.

**Materials and methods.** The object of the study were samples of human vitreous body, deceased from cardiovascular pathology, with a known time of death.

The following research methods were used: Mueller-matrix mapping, microscopic polarization tomography, spectral-selective laser-induced autofluorescence, statistical and wavelet analysis of the results of experimental data.

**Results.** The significant effectiveness of the proposed methods in accurately determining the time of death has been demonstrated. In particular, polarization microscopic tomography using scale-selective wavelet analysis of distributions of linear birefringence of human vitreous body layers provides a diagnostic range for determining the time since death of 36 hours with an accuracy of up to 14-16 minutes, which was not achieved by any of the existing laser polarization methods. At the same time, the combination of polarization tomography of biological tissues with spectral-selective laser fluorescence microscopy – one of the most sensitive methods, due to the assessment of the concentration parameters of molecules, opens a new window of possibilities and establishing the time since death and diagnosis of various pathological conditions. The obtained results confirm the effectiveness of this technique and show the diagnostic range of determining the time since death of 36 hours with an accuracy of up to 15-20 minutes.

**Conclusions.** The innovative approach proposed in the scientific study makes a significant contribution to the development of forensic medical examination, providing more accurate and reliable identification of the time since death, which can be useful in criminal investigations and in solving other forensic tasks.

**Keywords:** forensic medicine, vitreous body, time since death, diagnosis.

**Introduction.** One of the key challenges in forensic medicine is the accurate determination of time since death (TSD) at various stages of postmortem morphological changes in human biological tissues. At the current stage, the modernization and development of new, more advanced criteria,

methods and approaches to the determination of TSD remain an extremely urgent task in the field of forensic science and practice. Improving the accuracy and objectivity of the expert assessment of the TSD a significant practical effect, contributing to more effective investigations of crimes against the lives of citizens [1-4].

To determine the TSD, experts use various approaches, in particular, visual and descriptive analysis of early and late cadaveric phenomena, supravital reactions, as well as instrumental and laboratory methods, such as biochemical analysis, physical and mathematical models of changes in biological tissues after death [5]. However, traditional methods often do not achieve high accuracy and objectivity due to various limitations and shortcomings that may arise depending on the individual characteristics of the organism and environmental conditions [6, 7].

Therefore, in order to improve the determination of the TSD, scientists are looking for new ways, including the use of modern laboratory and instrumental methods that allow quantitative assessment of changes in biological tissues after death [5-7]. Such changes associated with various physical, metabolic, autolytic, physiological and biochemical processes that occur in the body after death alternately with the passage of time, which makes it possible to evaluate them and helps to make assumptions about the possible antiquity of the TSD. However, further research and improvement of these methods is necessary in order to increase the accuracy and objectivity of determining the TSD in forensic medical practice [8, 9].

In the world scientific literary sources, a number of scientific works are known, dedicated to the possibilities of objective biophysical monitoring of changes in the biochemical and polycrystalline structures of biological tissues. The implementation of these methods in forensic science and practice was carried out by Prof. V. T. Bachynskyi and scientists of his school [10-12]. Significant fundamental results were achieved [10], however, in our opinion, it is important to develop methods that would allow obtaining more accurate results in working with depolarizing and partially depolarizing tissues of the human body. In particular, it is necessary to expand the arsenal of experimental methods for the study of such objects based on differential Mueller-matrix mapping and autofluorescence microscopy of human tissue.

**Aim of the work.** Development of a complex of objective forensic medical criteria to improve the possibilities of accurately establishing the TSD over a long period of time by using multidimensional polarization and autofluorescence microscopy of the human vitreous body (VB).

**Materials and methods.** To establish the diagnostic possibilities of laser polarization-correlation and autofluorescence methods in the diagnosis of TSD, samples of the VB of corpses, who died of cardiovascular pathology with a known TSD were studied. Exclusion criteria were: presence of brain and eyeball injury, laboratory confirmed presence of any endogenous and exogenous intoxications.

The following research methods were used: Mueller-matrix mapping, microscopic polarization tomography, spectral-selective laser-induced autofluorescence, statistical and wavelet analysis of the results of experimental data. These forensic methods are based on the definition and diagnostic use of a set of objective relationships between the distributions of the obtained experimental data and the TSD.

Using the methods of polarization and spectrally selective fluorescence microscopy, a series of coordinate distributions of the information parameters of the set of experimental data for VB layers with different TSD was determined. The time elapsed since death was determined according to the following algorithm:

$$\tau_x(TSD) = \frac{SM_j^{(1)} - SM_j^{(0)}}{SM_j^{(2)} - SM_j^{(1)}} (\tau_2 - \tau_1)$$

**Results.** The obtained results show that the main factor in the formation of the coordinate structure of the parameter distributions of polarization microscopic images is the optical anisotropy of biological objects. This mechanism leads to phase shifts between the orthogonal components of the laser radiation amplitude at the points of the microscopic image of the VB layer.



Such phase distributions in the microscopic image are formed due to the influence of the following factors:

- structural anisotropy of a spatially ordered network of collagen fibrils – linear birefringence (LB);
- «partial» anisotropy of molecular protein complexes of the VB – circular birefringence (CB);
- multiple scattering of laser radiation in the volume of the optical anisotropic of the VB layer.

Due to the last factor, the distributions of the polarization parameters of microscopic images are averaged and the phase modulation is reduced in the plane of the microscopic image of the VB samples.

Based on this, it is possible to formulate the following scenario of the dynamics of the transformation of polarization manifestations of postmortem changes in the polycrystalline structure of the human VB layers at different TSD:

- 1) with an increase in TSD, the level of optical anisotropy of the VB decreases – the collagen network is disordered and the concentration of protein complexes decreases;
- 2) optically, this process of postmortem changes is manifested in a decrease in the depth of phase modulation of laser radiation by polycrystalline structures of the VB;
- 3) statistically, an increase in the degree of postmortem destruction of the polycrystalline component of the VB is accompanied by a decrease in the mean ( $SM_1$ ) and variance ( $SM_2$ ), and at the same time, a decrease in the level of LB and CB of VB leads to an increase in the value of asymmetry ( $SM_3$ ) and excess ( $SM_4$ ).

It is known that the disadvantage of Stokes-polarimetric and Mueller-matrix mapping, which were proposed in the works of other authors, is the poor reproducibility of the methods due to the azimuthal dependence of the azimuth value and the ellipticity of the polarization on the rotation of the sample relative to the direction of irradiation or changes in the state of polarization of the probing beam [8, 13]. The mentioned techniques belong to the case of diagnosing the structure of optically thin biological layers that do not depolarize laser radiation, but only transform it. At the same time, it is practically impossible to achieve such an approach in the real practice of a forensic experiment. Since the VB belongs to partially depolarizing biological tissues, the best results were achieved by using polarization microscopic tomography (reconstruction) of human VB preparations with different TSD. This method provides obtaining diagnostically important relationships between the distributions of the average values of the anisotropy parameters of biological layers and its spatial transformations.

We will demonstrate the obtained results on the example of the LB of the crystalline component of human VB. Fig. 1 shows the distributions of the LB values of the VB layers of the deceased with TSD at 3 hours and 12 hours. The obtained results illustrate the existence of differences between the data of microscopic polarization tomography of the LB polycrystalline component of the VB layers of the deceased with different TSD.

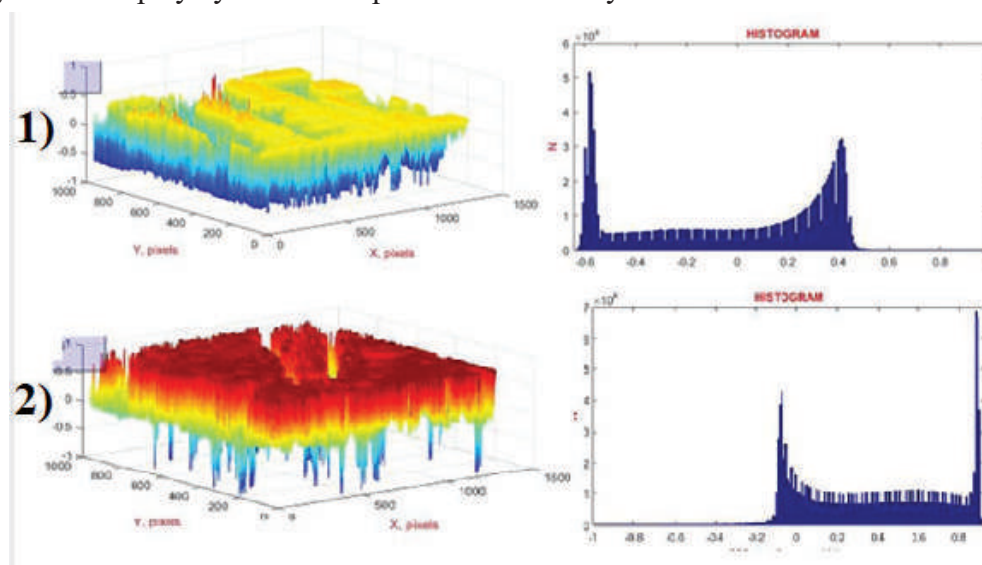


Fig. 1. Distributions of LB values of the crystalline fraction of the VB layers with the TSD of 3 hours (1) and 12 hours (2).

It was established that the coordinate distributions of the LB value of the VB samples of with a greater TSD (12 hours) are characterized by a smaller average value ( $SM_1=0,68$ ) and a range of dispersion ( $SM_2=0,34$ ) of random values compared to histograms ( $SM_1=0,86$ ,  $SM_2=0,48$ ), that were obtained for the LB of the polycrystalline component of the sample of VB layers with TSD 3 hours (table 1).

Table 1

**Temporal dynamics of changes in the value of statistical moments of the 1st-4th orders ( $SM_{i=1;2;3;4}$ ), which characterize the distributions of the LB value of the crystalline fraction of human VB layers with different TSD (T, hour)**

$SM_i \times 10^{-2}$	T=1	T=3	T=6	T=12	T=18	T=24
$SM_1$	0,92±0,043	0,86±0,038	0,81±0,035	0,68±0,031	0,56±0,025	0,41±0,019
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$SM_2$	0,53±0,026	0,48±0,024	0,43±0,021	0,34±0,015	0,24±0,011	0,14±0,006
P	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$SM_3$	0,71±0,036	0,82±0,041	0,92±0,045	1,13±0,055	1,34±0,059	1,54±0,068
P	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$SM_4$	1,21±0,054	1,35±0,058	1,49±0,065	1,76±0,073	2,04±0,092	2,32±0,098
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

We observed that this regularity is associated with destructive changes in the polycrystalline layers of human VB after death. Polarizing manifestations of these changes are accompanied by a decrease in the value of LB, which is determined by the spatial organization of fibrillar collagen networks. With the increase in the duration of the postmortem period, this organization of networks is destroyed, which as a result leads to a decrease in the value of LB.

The statistical analysis of the obtained results showed that the values of the average, dispersion, asymmetry and excess, which characterize the LB maps of the fibrillar collagen meshes of the VB layers of a person with different TSD, change linearly within 24 hours.

The following results were obtained for the accuracy of determination of the TSD by the method of microscopic polarization tomography of LB collagen meshes of layers of VB of a person with different TSD (table 2).

Table 2

**Accuracy ( $\pm\Delta T$ ) of determination of TSD by the method of microscopic polarization tomography of LB of collagen meshes of human VB layers, min**

$SM_i$	T=1	T=3	T=6	T=12	T=18	T=24
$SM_1$	40	41	41	40	42	43
$SM_2$	36	38	37	38	38	38
$SM_3$	24	25	24	25	25	25
$SM_4$	19	20	20	20	21	21

The analysis of the given results revealed that with the help of this method, the maximum level (highlighted in gray) of accuracy in determining the TSD was achieved within 19-21 minutes. This level of accuracy exceeds the previously known temporal parameters of TSD determination.

Given the fact that postmortem changes in the polycrystalline structure of VB begin with changes in the structure of small-scale protein complexes, the maximum differences between the postmortem states of VB samples with different TSD should be sought on the small scales of changes in the structure of microscopic image maps. Therefore, to improve the effectiveness of the applied methods, a scale-selective wavelet analysis of the coordinate distributions of the obtained parameters of the microscopic images of human VB layers was used.

A comparative analysis of the results of the study of the dependences of the amplitudes of the wavelet coefficients  $W_{a,b}(x, y)$ , characterizing different scales of structural elements of maps of LB collagen meshes of VB layers of deceased people with different TSD, revealed postmortem transformations of the fibrillar structure, the manifestations of which are shown in table 3.

The analysis of the given data revealed an increase to 36 hours in the linear range of the determination of TSD – changes in the value of the set of all statistical moments of the 1st-4th orders, which characterize the maps of wavelet coefficients  $C_{a=15,b}$  of the distributions of the LB collagen meshes of the layers of the human VB.

Table 3

**Temporal dynamics of changes in the value of statistical moments of the 1st-4th orders, characterizing the distributions of the linear section  $C_{15,b}$  of the map of the wavelet coefficients  $W_{a,b}$  of the LB value of the crystalline fraction of VB layers with different TSD (T, hour)**

$SM_i$	T=1	T=6	T=12	T=18	T=24	T=36
$SM_1$	0,59±0,023	0,45±0,019	0,31±0,014	0,16±0,007	0,013±0,006	0,004±0,002
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$SM_2$	0,45±0,021	0,38±0,016	0,32±0,014	0,25±0,011	0,19±0,009	0,054±0,002
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$SM_3$	0,31±0,014	0,54±0,024	0,78±0,033	1,01±0,044	1,25±0,054	1,71±0,077
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$SM_4$	0,38±0,016	0,72±0,031	1,05±0,044	1,39±0,054	1,72±0,065	2,39±0,108
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

The obtained data illustrate that the values  $SM_{1;2;3;4}$ , which characterize the distributions of the magnitude of the amplitude of the wavelet coefficients of the maps of the polarization-reproduced LB of the collagen networks of the polycrystalline component of the VB layers of the deceased with different TSD, change linearly within 36 hours. At the same time, temporal changes in the magnitude of asymmetry and excess ( $SM_3, SM_4$ ) were the most sensitive to postmortem changes in the fibrillar structure of collagen fibers of such samples. Quantitatively, this was manifested in the growth of the angles of inclination of the linear dependences of the statistical moments of higher orders, which characterize the distributions of the amplitude of the wavelet coefficients of the maps of the polarization-reproduced LB of collagen networks, compared to the similar parameters of the maps of the polarization manifestations of the structure of the collagen networks of the human VB layers with different TSD. Therefore, the sensitivity of the wavelet analysis method increased, and the accuracy of the TSD determination improved by 5 minutes (table 4).

Table 4

**Accuracy ( $\pm\Delta T$ ) of determination of TSD by the method of wavelet analysis of polarization reproduction of the distributions of linear birefringence of the polycrystalline component of the layers of the vitreous body, min**

$SM_i$	T=1	T=6	T=12	T=18	T=24	T=36
$SM_1$	35	36	36	36	37	37
$SM_2$	31	32	32	32	33	33
$SM_3$	18	19	19	20	20	21
$SM_4$	14	15	15	15	15	16

Thus, the effectiveness of the scale-selective wavelet analysis of the LB value distributions of the VB layers at the established TSD has been demonstrated: it provides an increase in the range of sensitivity to 36 hours and an increase in the accuracy of the TSD determination to 14-16 minutes, which was not achieved by any of the existing laser polarization methods.

A new step in the development of methods of optical diagnostics of biological layers was the successful combination of polarimetric and fluorescent methods. Spectral-selective laser fluorescence microscopy is one of the most sensitive methods due to the assessment of concentration parameters of molecules (the greater the number of fluorophores, the higher the fluorescence intensity). The phenomenon of fluorescence is formed as a result of the absorption of optical radiation by various biological compounds with subsequent reradiation into other spectral regions. Due to the differently oriented spatial structure of the fibrils of fluorophores, different directions of oscillations of individual fluorescence bands arise, accordingly, the distribution of azimuths of the polarization of fluorescent radiation is formed, which is of important diagnostic value for the assessment of postmortem changes.

Therefore, the issue of establishing the diagnostic efficiency of spectrally selective laser-induced autofluorescence microscopy of the layers of the VB in the diagnosis of the TSD is relevant.

In our work, two types of interference filters were used for spectral selection of manifestations of different types of fluorophores:  $\lambda_1=0,55 \mu\text{m}$  – amorphous component of the VB;  $\lambda_1=0,45 \mu\text{m}$  – polycrystalline (protein) component of the VB.

Figure 2 shows the distributions of the intensity of laser autofluorescence of the polycrystalline component of the layers of the human VB with the TSD 3 hours (1) and 6 hours (2).

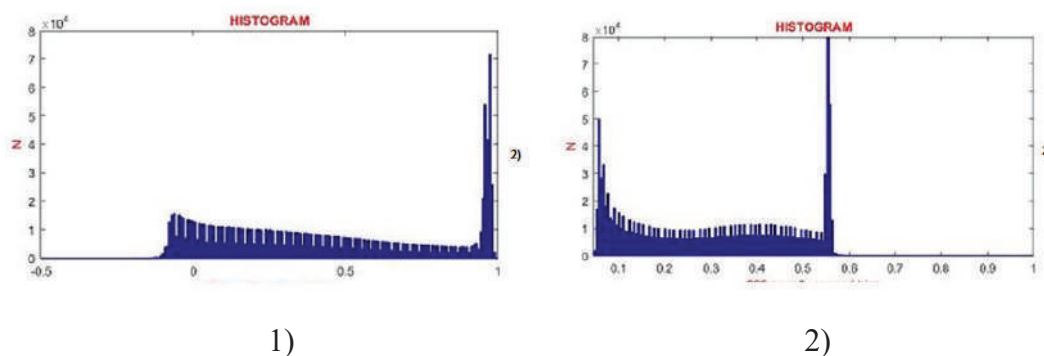


Fig. 2. Distributions of the intensity of the laser spectral-selective autofluorescence ( $\lambda_2=0,45 \mu\text{m}$ ) of the polycrystalline component of the human VB layers with the TSD 3 hours (1) and 6 hours (2).

A «decrease» of laser fluorescence with increasing of the TSD was experimentally demonstrated: coordinate distributions of the value of laser autofluorescence of the polycrystalline component of the VB layers with a larger TSD were characterized by a smaller average value ( $SM_1=0,52$ ) and the range of dispersion ( $SM_2=0,25$ ) of random values of the fluorescence intensity compared to the data obtained for the polycrystalline component of the VB layers with a smaller TSD ( $SM_1=0,78$ ;  $SM_2=0,42$ ). At the same time, with an increase in the TSD, an increase in the value of  $SM_3$  and excess  $SM_4$  was noted (table 5).

Table 5

**Temporal dynamics of changes in the value of statistical moments of the 1st-4th orders, which characterize the distributions of the intensity of laser spectral-selective autofluorescence of the polycrystalline component of the VB layers with different DNS (T, hour)**

$SM_i$	T=1	T=6	T=12	T=18	T=24	T=36
$SM_1$	0,83±0,039	0,78±0,033	0,67±0,029	0,52±0,022	0,36±0,014	0,21±0,009
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$SM_2$	0,47±0,021	0,42±0,018	0,36±0,015	0,25±0,011	0,15±0,007	0,03±0,002
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$SM_3$	0,22±0,009	0,35±0,015	0,48±0,018	0,75±0,031	1,01±0,044	1,27±0,057
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$SM_4$	0,11±0,005	0,51±0,022	0,71±0,031	1,11±0,046	1,52±0,069	1,91±0,087
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05



The analysis of the obtained data on the time dependence of the postmortem changes in the magnitude of the set of statistical moments of the 1st-4th orders, which characterize the coordinate distributions of the magnitude of the intensity of the fluorescence maps of the polycrystalline fraction of the human VB layers, revealed the highest possible level (highlighted in gray) of accuracy in the determination of the TSD in the range of 15-17 minute for 36 hours (table 6).

Table 6

**Accuracy of determination of the TSD by laser spectral-selective fluorescence microscopy of human VB layers, min**

$SM_i$	T=1	T=6	T=12	T=18	T=24	T=36
$SM_1$	37	37	37	38	38	39
$SM_2$	34	34	35	35	35	36
$SM_3$	22	23	23	23	24	24
$SM_4$	15	15	15	16	16	17

Thus, the analysis of the temporal dynamics of postmortem changes in the magnitude of statistical moments of the 3rd-4th orders, which characterize the distributions of random values of the fluorescence intensity of the polycrystalline component of the VB layers, made it possible to establish a sensitivity range of 36 hours with an accuracy of determining the TSD of 15 minutes.

So, the observed fact of a practically linear change in the magnitude of the statistical moments of the 1st-4th orders, which characterize the distributions of the objective parameters of laser microscopic images of histological sections of biological tissues, became the basis for generalizing the results of the scientists of the school of V. T. Bachynskyi, who initiated a pleiad of studies of biological tissues using polarization techniques. Thus, on this basis, an analytical algorithm was developed to determine and increase the accuracy of establishing of the TSD while maintaining the value of the time intervals.

### Conclusions.

1. A comprehensive comparative study of the informativeness of the set of multidimensional polarization and autofluorescence microscopy systems through statistical and wavelet analysis of the temporal dynamics of changes in the optically anisotropic and biochemical structure of the partially depolarizing layers of the VB in the diagnosis of TSD revealed the most informative methods: scale-selective wavelet analysis of coordinate distributions of maps polarization-reproduced LB of collagen networks of the polycrystalline component of the layers of the human VB; spectral-selective laser fluorescence microscopy of the polycrystalline fraction of the layers of the human VB.
2. The paper proved that the use of microscopic polarization tomography and spectral-selective autofluorescence microscopy of images of the VB layers allows determining the TSD within 36 hours with an accuracy of 14-20 minutes.

### Literature

1. Madea B, editor. Estimation of the Time Since Death. 3rd ed. London: CRC Press; 2015. 292 p. doi: 10.1201/b19276
2. De-Giorgio F, Grassi S, d'Aloja E, Pascali VL. Post-mortem ocular changes and time since death: Scoping review and future perspective. Leg Med (Tokyo) [Internet]. 2021 May [cited 2023 May 26]; 50:101862. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1344622321000262?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.legalmed.2021.101862
3. Laplace K, Baccino E, Peyron P-A. Estimation of the time since death based on body cooling: a comparative study of four temperature-based methods. Int J Legal Med. 2021;135(6):2479-87. doi: 10.1007/s00414-021-02635-7

4. Kaliszan M, Wujtewicz M. Eye temperature measured after death in human bodies as an alternative method of time of death estimation in the early post mortem period. A successive study on new series of cases with exactly known time of death. *Leg Med (Tokyo)*. 2019;38:10-3. doi: 10.1016/j.legalmed.2019.03.004
5. Donaldson AE, Lamont IL. Estimation of post-mortem interval using biochemical markers. *Aust J Forensic Sci*. 2014;46(1):8-26. doi: 10.1080/00450618.2013.784356
6. Rathinam RD, Singh A, Jayaprakash K, Goyal P, Chikkara P, Khichi SK, et al. Vitreous potassium concentration as a predictor of postmortem interval: A cross-sectional study among natural death cases at a tertiary care center in rural Haryana. *Muller J Med Sci Res*. 2016;7(2):96-9. doi: 10.4103/0975-9727.185004
7. Paul PM, Sneha S, Pradhan P, Kumar PS. Estimation of post-mortem interval from vitreous potassium: An autopsy based study. *J Indian Acad Forensic Med*. 2021;43(4):370-3.
8. Focardi M, Lanzilao L, Bonari A, Lazzeretti M, Lorubbio M, Ognibene A, et al. Improvement in estimation of time since death by albumin and potassium concentrations in vitreous humor. *Forensic Sci Int [Internet]*. 2020 Sep [cited 2023 May 26];314:110393. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0379073820302553?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.forsciint.2020.110393
9. Ushenko A, Sdobnov A, Dubolazov A, Grytsiuk M, Ushenko Y, Bykov A, et al. Stokes-Correlometry Analysis of Biological Tissues with Polycrystalline Structure. *IEEE J Sel Top Quantum Electron [Internet]*. 2019 Jan-Feb [cited 2023 May 26];25(1):7101612. Available from: <https://ieeexplore.ieee.org/document/8438957> doi: 10.1109/JSTQE.2018.2865443
10. Vanchulyak O, Ushenko O, Zhytaryuk V, Dvorjak V, Pavlyukovich O, Dubolazov O, et al. Stokes-correlometry of polycrystalline films of biological fluids in the early diagnostics of system pathologies. In: *Proc SPIE*. 11105, Novel Optical Systems, Methods, and Applications XXII, 1110519 [Internet]. 2019 Sep 09 [cited 2023 May 26]. Available from: <https://spie.org/Publications/Proceedings/Paper/10.1117/12.2529348> doi: 10.1117/12.2529348
11. Borovkova M, Peyvasteh M, Dubolazov O, Ushenko Y, Ushenko V, Bykov A, et al. Complementary analysis of Mueller-matrix images of optically anisotropic highly scattering biological tissues. *J Eur Opt Soc-Rapid Publ [Internet]*. 2018 Aug [cited 2023 May 26];14:20. Available from: <https://jeos.springeropen.com/articles/10.1186/s41476-018-0085-9> doi: 10.1186/s41476-018-0085-9
12. Ushenko VA, Sdobnov AYu, Mishalov WD, Dubolazov AV, Olar OV, Bachinskyi VT, et al. Biomedical applications of jones-matrix tomography to polycrystalline films of biological fluids. *J Innov Opt Health Sci*. 2019 Jul [cited 2023 May 26];12(6):1950017. Available from: <https://www.worldscientific.com/doi/10.1142/S1793545819500172> doi: 10.1142/S1793545819500172
13. Dubolazov AV, Olar OV, Pidkamin LY, Arkhelyuk AD, Motrich AV, Shaplavskiy MV, et al. Polarization-phase reconstruction of polycrystalline structure of biological tissues. In: *Proc SPIE*. 11087, Biosensing and Nanomedicine XII, 1108714 [Internet]. 2019 Sep 09 [cited 2023 May 26]. Available from: <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/11087/2529182/Polarization-phase-reconstruction-of-polycrystalline-structure-of-biological-tissues/10.1117/12.2529182.full> doi: 10.1117/12.2529182

## References

1. Madea B, editor. *Estimation of the Time Since Death*. 3rd ed. London: CRC Press; 2015. 292 p. doi: 10.1201/b19276
2. De-Giorgio F, Grassi S, d'Aloja E, Pascali VL. Post-mortem ocular changes and time since death: Scoping review and future perspective. *Leg Med (Tokyo) [Internet]*. 2021 May [cited

- 2023 May 26];50:101862. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1344622321000262?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.legalmed.2021.101862
3. Laplace K, Baccino E, Peyron P-A. Estimation of the time since death based on body cooling: a comparative study of four temperature-based methods. *Int J Legal Med.* 2021;135(6):2479-87. doi: 10.1007/s00414-021-02635-7
  4. Kaliszan M, Wujtewicz M. Eye temperature measured after death in human bodies as an alternative method of time of death estimation in the early post mortem period. A successive study on new series of cases with exactly known time of death. *Leg Med (Tokyo).* 2019;38:10-3. doi: 10.1016/j.legalmed.2019.03.004
  5. Donaldson AE, Lamont IL. Estimation of post-mortem interval using biochemical markers. *Aust J Forensic Sci.* 2014;46(1):8-26. doi: 10.1080/00450618.2013.784356
  6. Rathinam RD, Singh A, Jayaprakash K, Goyal P, Chikkara P, Khichi SK, et al. Vitreous potassium concentration as a predictor of postmortem interval: A cross-sectional study among natural death cases at a tertiary care center in rural Haryana. *Muller J Med Sci Res.* 2016;7(2):96-9. doi: 10.4103/0975-9727.185004
  7. Paul PM, Sneha S, Pradhan P, Kumar PS. Estimation of post-mortem interval from vitreous potassium: An autopsy based study. *J Indian Acad Forensic Med.* 2021;43(4):370-3.
  8. Focardi M, Lanzilao L, Bonari A, Lazzeretti M, Lorubbio M, Ognibene A, et al. Improvement in estimation of time since death by albumin and potassium concentrations in vitreous humor. *Forensic Sci Int [Internet].* 2020 Sep [cited 2023 May 26];314:110393. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0379073820302553?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.forsciint.2020.110393
  9. Ushenko A, Sdobnov A, Dubolazov A, Grytsiuk M, Ushenko Y, Bykov A, et al. Stokes-Correlometry Analysis of Biological Tissues with Polycrystalline Structure. *IEEE J Sel Top Quantum Electron [Internet].* 2019 Jan-Feb [cited 2023 May 26];25(1):7101612. Available from: <https://ieeexplore.ieee.org/document/8438957> doi: 10.1109/JSTQE.2018.2865443
  10. Vanchulyak O, Ushenko O, Zhytaryuk V, Dvorjak V, Pavlyukovich O, Dubolazov O, et al. Stokes-correlometry of polycrystalline films of biological fluids in the early diagnostics of system pathologies. In: *Proc SPIE. 11105, Novel Optical Systems, Methods, and Applications XXII, 1110519 [Internet].* 2019 Sep 09 [cited 2023 May 26]. Available from: <https://spie.org/Publications/Proceedings/Paper/10.1117/12.2529348> doi: 10.1117/12.2529348
  11. Borovkova M, Peyvasteh M, Dubolazov O, Ushenko Y, Ushenko V, Bykov A, et al. Complementary analysis of Mueller-matrix images of optically anisotropic highly scattering biological tissues. *J Eur Opt Soc-Rapid Publ [Internet].* 2018 Aug [cited 2023 May 26];14:20. Available from: <https://jeos.springeropen.com/articles/10.1186/s41476-018-0085-9> doi: 10.1186/s41476-018-0085-9
  12. Ushenko VA, Sdobnov AYü, Mishalov WD, Dubolazov AV, Olar OV, Bachinskyi VT, et al. Biomedical applications of jones-matrix tomography to polycrystalline films of biological fluids. *J Innov Opt Health Sci.* 2019 Jul [cited 2023 May 26];12(6):1950017. Available from: <https://www.worldscientific.com/doi/10.1142/S1793545819500172> doi: 10.1142/S1793545819500172
  13. Dubolazov AV, Olar OV, Pidkamin LY, Arkhelyuk AD, Motrich AV, Shaplavskiy MV, et al. Polarization-phase reconstruction of polycrystalline structure of biological tissues. In: *Proc SPIE. 11087, Biosensing and Nanomedicine XII, 1108714 [Internet].* 2019 Sep 09 [cited 2023 May 26]. Available from: <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/11087/2529182/Polarization-phase-reconstruction-of-polycrystalline-structure-of-biological-tissues/10.1117/12.2529182.full> doi: 10.1117/12.2529182

## МОЖЛИВОСТІ ВСТАНОВЛЕННЯ ДАВНОСТІ НАСТАННЯ СМЕРТІ ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДІВ БАГАТОМІРНОЇ ПОЛЯРИЗАЦІЙНОЇ Й АВТОФЛУОРЕСЦЕНТНОЇ МІКРОСКОПІЇ СКЛОВИДНОГО ТІЛА ЛЮДИНИ

Бачинський В.Т, Саркісова Ю. В.

Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна

**Резюме.** Враховуючи поточний стан справ у практичній судово-медичній експертизі та значну кількість наукових досліджень з точного визначення посмертного інтервалу, ми приходимо до висновку, що встановлення часу після смерті є ключовою, але поки що недостатньо вирішеною проблемою. Точна оцінка давності настання смерті має вирішальне значення для багатьох розслідувань і залишається однією з найскладніших змінних.

Для проведення точного визначення давності настання смерті важливо застосовувати комплексний підхід, оскільки розв'язання цієї проблеми вимагає урахування всіх аспектів танатогенезу, впливу факторів зовнішнього середовища й інших обставин справи. Це призводить до зростання популярності світових досліджень, що залучають новітні досягнення медицини, хімії, фізики та криміналістики. Використання комплексних досліджень дозволяє наблизитися до встановлення приблизного діапазону давності настання смерті.

**Мета дослідження.** Розробка комплексу об'єктивних судово-медичних критеріїв для покращення можливостей точного встановлення давності настання смерті на тривалому періоді шляхом застосування багатомірної поляризаційної й автофлуоресцентної мікроскопії скловидного тіла людини.

**Матеріали та методи.** Об'єктом дослідження були зразки скловидного тіла людей, померлих від серцево-судинної патології, з відомим часом настання смерті.

Використовували наступні методи дослідження: Мюллер-матричне картографування, мікроскопічна поляризаційна томографія, спектрально-селективна лазерно-індукована автофлуоресценція, статистичний і вейвлет-аналізи результатів експериментальних даних.

**Результати.** Продемонстрована значна ефективність запропонованих методик у точному встановленні давності настання смерті. Зокрема, поляризаційна мікроскопічна томографія з використанням масштабно-селективного вейвлет-аналізу розподілів величини лінійного двоприменезаломлення шарів склистого тіла людини забезпечує діагностичний діапазон визначення давності настання смерті 36 год з точністю до 14-16 хв, що не було досягнуто жодним з існуючих лазерних поляризаційних методів. Водночас поєднання поляризаційної томографії біологічних тканин зі спектрально-селективною лазерною флуоресцентною мікроскопією (одна з найчутливіших методик завдяки оцінці концентраційних параметрів молекул) відкриває нове вікно можливостей у встановленні давності настання смерті та діагностиці різноманітних патологічних станів. Отримані результати підтверджують ефективність даної методики та показують діагностичний діапазон визначення давності настання смерті 36 год з точністю до 15-20 хв.

**Висновки.** Запропонований у науковому дослідженні інноваційний підхід робить значний внесок у розвиток судово-медичної експертизи, забезпечуючи більш точну та надійну ідентифікацію давності настання смерті, що може бути корисним у кримінальних розслідуваннях та при вирішенні інших судово-медичних завдань.

**Ключові слова:** судова медицина, скловидне тіло, давність настання смерті, діагностика.

**Відомості про авторів:**

Бачинський В. Т. – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри судової медицини та медичного правознавства Буковинського державного медичного університету, начальник КМУ «Обласне бюро судово-медичної експертизи» Департаменту охорони здоров'я Чернівецької ОДА, м. Чернівці, Україна, e-mail: [bachynskyi.viktor@bsmu.edu.ua](mailto:bachynskyi.viktor@bsmu.edu.ua), ORCID ID:0000-0002-6955-7507

Саркісова Ю. В. – доктор філософії, лаборант кафедри судової медицини та медичного правознавства Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, Україна, e-mail: [sarkisova\\_y@bsmu.edu.ua](mailto:sarkisova_y@bsmu.edu.ua), ORCID ID: 0000-0001-6095-1957

**Information about authors:**

Bachynskyi V. T. – Doctor of Medical Science, Professor, Head of the Department of Forensic Medicine and Medical Law, Bukovinian State Medical University, Head of the CMI «Regional Bureau of Forensic Medical Examination» of the Department of Health Protection of the Chernivtsi Regional State Administration, Chernivtsi, Ukraine, e-mail: [bachynskyi.viktor@bsmu.edu.ua](mailto:bachynskyi.viktor@bsmu.edu.ua), ORCID ID:0000-0002-6955-7507

Sarkisova Yu.V. – PhD, laboratory assistant of the Department of Forensic Medicine and Medical Law, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine, e-mail: [sarkisova\\_y@bsmu.edu.ua](mailto:sarkisova_y@bsmu.edu.ua), ORCID ID: 0000-0001-6095-1957