|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| **Геннадій Олександрович Можаєв**  **1935 – 1997** |
| Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаєва, Том 17, №3, 2016 р. | |
| **Журнал зареєстровано**  Державним комітетом інформаційної політики, телебачення та радіомовлення України,  свідоцтво КВ № 20979–10779 ПР від 29.07.2014 p.  **Журнал є фаховим виданням для публікації основних результатів дисертаційних робіт**  **у галузі медичних наук**  **(Наказ Міністерства освіти і науки України**  **№ 820 від 11.07.2016 р.)**  **Адреса редакції**  Державний заклад  «Луганський державний медичний університет» 93012, вул. Будівельників, 32  м. Рубіжне, Україна.  Телефон/факс (06453) 7–05–81 e–mail***:*** [ukrmedalm@gmail.com](mailto:ukrmedalm@gmail.com)  веб: [www.ukrzhurnextremmed.ucoz.ua](http://www.ukrzhurnextremmed.ucoz.ua/)  ***Рекомендовано до друку***  Вченою радою  ДЗ «Луганський державний медичний університ»  (протокол №2 від 20.10.2016 р.)  ***Підписано до друку***  24.10.2016 р.  Видавництво ДЗ « Луганський державний медичний університет» Формат 60х84,8.  Папір офсетний. Наклад 100 прим.  **Видавник та виготовлювач**  ДЗ «Луганський державний медичний університет», вул. Будівельників, 32  м. Рубіжне, 93012, Україна | **Головний редактор** Іоффе І.В.  **Заступник головного редактора**  Пінський Л.Л.  **Відповідальний секретар**  Круглова О.В.  **Коректор**  Бондаренко Я.В.  **Члени редакційної колегії:**  Бука Г.Ю. (Рубіжне) Вовк Ю.М. (Рубіжне) Глумчер Ф.С. (Київ) Гоженко А. І. (Рубіжне) Гудзенко О.П. (Рубіжне) Зєльоний І.І. (Рубіжне)  Комаревцев В.М. (Рубіжне) Крижна С. І. (Харків) Малиш І.Р. (Київ) Ничитайло М.Ю. (Київ) Постернак Г.І. (Рубіжне) Сидорчук Р.І. (Чернівці) Суслов В.В. (Київ) |

### 1

*.*

*© Український журнал екстремальної медицини імені Г.О.Можаєва, 2016*

УДК: 340.6:616–003.265:303.447.3

# До питання виявлення менструальної крові за наявністю простагландину F2а в обʼєктах біологічного походження

## К.В. Варуха1, О.П. Бабкіна1, О.М. Скрябіна2, Л.В. Висоцька2, Н.П. Зуєвська3

1Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, м. Київ

2Державний заклад «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне

3 Філія №1 «Консультативно–діагностичний центр», м. Київ

В ході проведеного нами дослідження було встановлено, що одним з критерієв виявлення крові менс- труального походження в наданих на судово–медичну експертизу речових доказів є наявність прос- тогландину F2альфа. Найбільш достовірним методом для виявлення простагландину F2альфа, ми вважали метод тонкошарової хроматогрофії, при проведені якої позитивним результатом було вияв- лення наявності на хроматограммах плям абсорбції фіолетового кольору з фракціями простагланди- ну F2альфа в інтервалі від 41 до 53 мм. В роботі зазначено,що на поділ досліджуваного компонента (простагландин F2альфа) впливає ряд зовнішніх чинників зокрема, склад і властивості елюенту, дис- персність, температура, тощо.

**Ключові слова:** кров менструального походження, судово–медична експертиза, статеві злочини, речові докази.

### Вступ

Важливе значення в розкритті злочинів має вміння виявлення слідів крові. Під слі- дами крові в судовій медицині розуміють будь–яку кількість свіжої або зміненої крові поза живого організму без морфоло- гічної характеристики. Оцінка слідів крові дозволяє встановити місце події або місце виявлення трупа, джерело кровотечі (носо- ве, легеневе, геморроідальне, менструаль- не), висоту його знаходження. В судово– медичній практиці також досить часто ви- никає питання про встановлення менстру- ального походження крові. Кров’ю менст- руального походження називаються рідкі виділення з піхви при менструації.

До теперешнього часу в сучасній судо- во–медичній практиці не розроблено дос- татньо доставірних методів визначення менструального походження крові в нада- них на експертизу об’єктах, у зв'язку з чим

питання, яке нерідко має принципове зна- чення для слідства, як правило, залишаєть- ся без відповіді. Тому визначення регіона- льного походження окремих компонентів змішаних плям (крові) є важливою і, в той же час, складною проблемою.

Для вирішення питання регіонального походження компонентів змішених плям (крові) пропонувалися визначити різні критерії: наявність клітин вагінального епітелію, циліндричного епітелію матки, а також великої кількості бактерій – коків, бацил; присутність особливої речовини – менотоксіна; фібринолітичної активності, особливості макро– та мікроелементного складу, тощо [1–8]. Наприклад, для порів- няльного дослідження піддавали плями крові при неменструальній кровотечі із статевих шляхів жінок і при кровотечах з інших джерел [5, 7]. Однак, наведені різ- ними авторами дослідження не виходили

за межі наукового пошуку, у зв'язку з чим сучасна судово–медична практика не має будь–якого надійного методу визначення крові менструального походження.

### Мета дослідження

Метою дослідження була розробка кри- теріїв для встановлення крові менструаль- ного походження за виявленням наявності в наданих на дослідження обʼєктах гормо- нів, а саме простагландину F2альфа.

### Матеріал та методи дослідження

Об’єктом дослідження була висушена на марлі менструальна кров, що взята у 18 жінок у віці від 20 до 40 років з нормаль- ним менструальним циклом, яка до момен- ту дослідження зберігалася у сухому ви- гляді в звичайних умовах. З метою вияв- лення крові менструального походження нами була застосована методика препара- тивного виділення і систематичного ходу аналізу простагландинів, отриманих мето- дом біосинтеза, запропонована Р.В. Боби- льовим та співавторами [4]. Об’єкт дослі- дження заливали спиртом 960 в кількості 25 мл та екстрагували протягом 24 годин. В пробірку з екстрактом доливали 10 мл буфера з pH 7,0 та інтенсивно збовтували. Спирт упарювали в вакуумі при темпера- турі 400ºС, після чого підкислювали 3% мурашовою кислотою до pH 4,3. Тричі екс- трагували хлороформом по 3 мл, інтенсив- но збовтували та центрифугували. Об’є- днані хлороформні екстракти упарювали в вакуумі при температурі 400ºС. До залиш- ку вносили 0,5 мл етанолу та перемішува- ли. Якісний аналіз сірчаної фракції проста- гландинів проводили шляхом хроматогра- фування на пластинках Silufol RUV 254 в системі хлороформ–метиловий спирт–оц- това кислота–вода у пропорції 90:8:1:0,8. Після досягнення фронтом кінця пластини, її виймали з камери та просушували на повітрі, після поміщали в емкість з парами йоду для проявлення плям простагланди- нів. Контролем був стандартний розчин простагландину F2альфа (Ензапрост F).

### Зв'язок роботи з науковими про- грамами, планами, темами

Стаття є фрагментом комплексної нау- ково–дослідної роботи за темою: «Судово– медичне встановлення крові менструаль- ного походження», яка виконується на ка- федрі судової медицини Національного медичного університету ім. О.О. Богомо- льця і має номер державної реєстрації 0114U007149.

### Результати та їх обговорення

В ході наших досліджень при вирішенні питання щодо визначення менструального походження крові ми вважали, що простаг- ландини представляють особливий клас біологічно–активних речовин (ненасичені гідроксильовані жирні кислоти), які вияв- ляються практично у всіх тканинах органі- зму, синтезуються всередині клітини і зві- льняються в тих же клітинах, на які вони діють. Тому простагландини називають клі- тинними гормонами. Утворення простагла- ндинів в ендометрії знаходиться під конт- ролем естрогенів і прогестерону, який здій- снює гальмівну дію. В звязку з тим, що ме- ханізм інгібуючої дії прогестерону на син- тез простагландинів до кінця не вивчений, ми вважали, що важливу роль в цьому про- цесі відіграє пригнічення активності фос- фоліпази А2 та фосфоліпази С, що забезпе- чують вивільнення з фосфоліпідів арахідо- нової кислоти, доступність якої вважається лімітуючим фактором в біосинтезі простаг- ландинів. Відомо, що під дією прогестерону знижується активність простагландин– синтетази і підвищується активність 15-гід- рокси-простагландин-дегідрогенази, що пе- ретворює простагландин у неактивні мета- боліти. Естрадіол, навпаки, стимулює сек- рецію простагландину F2альфа і простагла- ндину Е2 в ендометрії. Одним з основних механізмів збільшення утворення простаг- ландинів під впливом естрогенів є стиму- ляція фосфоліпази А2, активність якої в ендометрії значно підвищується під час проліферативної фази циклу паралельно зі

збільшенням секреції естрадіолу. Крім того, в дослідженнях in vitro продемонстровано, що естрадіол підвищує активність простаг- ландин–синтетази в ендометрії людини. Спільна дія прогестерону і естрадіолу в ході менструального циклу обумовлює складну картину залежності синтезу простагландинів від мінливих концентрацій обох гормонів і їх співвідношення. Виявлено, що естрадіол стимулює секрецію простагландину F2альфа і простагландину Е2 в ендометрії, витягну- тим в проліферативну фазу циклу.

Сам по собі прогестерон пригнічує синтез простагландину, однак підвищує чутливість ендометрію до дії естрадіолу. Падіння рівня прогестерону при лютеолизі, ймовірно, зме- ншує його гальмуючий ефект на активність фосфоліпази і простагландин-синтетази і призводить до стимуляції секреції простаг- ландинів перед початком менструації.

В ході проведення наших досліджень за контроль був взят стандартний розчин простагландину F2альфа (Ензапрост F). Згідно літературних даних показник сере- дньостатистичного коливання в плямах стандартного простагландину F2альфа бу- ває від 0,20–1,20 мм. В результаті прове- дених досліджень 5 обʼєктів стандартного розчину простагландину F2альфа (Ензап- рост F) на хроматограмах були виявлені плями абсорбції фіолетового кольору з п’ятьма фракціями 40 мм, 43 мм, 48 мм, 51 мм та 53 мм. Довжина фронту 100 мм – коли елюент під дією капілярних сил по- чинає підніматися вгору по хроматографі- чному шару. Посудину герметизують для уникнення випаровування летючого елюе- нта з поверхні пластинки в процесі хрома- тографування. Після того, як лінія фронту досягне достатньої для аналізу висоти, пластинку витягують і висушують. Відс- тань, яку проходить лінією фронту, прийн- ято відраховувати від лінії старту. Його вибирають достатнім для подальшої іден- тифікації розділених речовин на поверхні пластинки. Поділ компонентів суміші по-

ліпшується зі збільшенням цієї дистанції, але вона має оптимальне значення, яке для звичайних пластин становить величину 12–15 см. Це обумовлено тим, що капіляр- ні сили діють на лінії фронту змочування, і рухома фаза у міру просування по хрома- тографічному шару відчуває все менший вплив капілярних сил через урівноваження їх силою тяжіння. При проведенні хрома- тографії на оптимальну довжину просу- вання, фронту потрібно від 45 до 150 хви- лин в залежності від в'язкості елюента.

У разі високопродуктивної тонкошарової хроматографії, де упаковка частинок хрома- тографічного шару щільніше, оптимальна дистанція становить приблизно 6 см, а елюю- вання займає від 15 до 50 хвилин. Після чого було встановлено, що Rf1 дорівнює 0,40; Rf2 дорівнює 0,43; Rf3 дорівнює 0,48; Rf4 дорів- нює 0,51; Rf5 дорівнює 0,53.

Положення хроматографічних зон на хроматограмі характеризує величина Rf – відношення шляху пройденого центром зони досліджуваного компонента від лінії старту, до шляху пройденого елюентом. На поділ в ТШХ впливає ряд факторів – склад і властивості елюенту, природа, дис- персність і пористість сорбенту, темпера- тура, вологість, розміри і товщина шару сорбенту, розміри камери. Тому для отри- мання відтворюваних результатів необхід- но ретельно стандартизовать умови досві- ду. Більш точну інформацію дають віднос- ні величини Rs – відношення Rf досліджу- ваного з'єднання до Rf стандартного з'єд- нання. У літературі зазвичай застосовують величину hRf=Rf x 100.

В результаті проведених досліджень 20 обєктів висушеної менструальної крові нами виявлено, що у 98% (18 випадках) на хроматограмах були виявлені плями абсо- рбції фіолетового кольору з фракціями від 41 мм до 53 мм, що відповідали показни- кам стандарту простагландину F2альфа, а в 2% (2 випадках) плями абсорбції не бу- ли виявлені (рис. 1).

об.1 об.2 об.3 об.4 об.5 об’єкти



Розгін фронту

**Рисунок 1.** Показники простагландину F2альфа на хроматографі

### Висновки

1. В ході проведеного нами дослідження було встановлено, що одним з критерієв виявлення крові менструального похо- дження в наданих на судово–медичну екс- пертизу речових доказів є наявність прос- тагландину F2альфа.
2. Найбільш достовірним методом для виявлення простагландину F2альфа, ми вважали метод тонкошарової хроматогро- фії, при проведенні якої позитивним ре- зультатом було виявлення наявності на

хроматограммах плям абсорбції фіолето- вого кольору с фракціями простагландину F2альфа в інтервалі від 41 до 53 мм. Таким чином, наявність плям фіолетового кольо- ру (простагландин F2a) на хроматограмах у 98% (16 досліджень), є достовірною оз- накою крові менструального походження.

1. В роботі зазначено,що на поділ дослі- джуваного компонента (простагландин F2альфа) впливає ряд зовнішніх чинників зокрема, склад і властивості елюенту, дис- персність, температура, тощо.

**Література**

1. Abel M.N. The effect of 17 beta–estradiol and progesterone on prostaglandin production by human endometrium maintained in organ culture / M.N. Abel // Endocrinology. – 1980. – Vol. 106. – Р. 1599–1606.
2. Барсегянц Л.О. Судебно–медицинское исследование вещественных доказательств (кровь, вы- деления, волосы) / Л.О.Барсегянц. – М.: Медицина, 2005. – 448 с.
3. Бобылев Р.В.Технология лекарственных форм: Учебник в 2 томах / Р.В. Бобылев, Г.П. Гряду- нова, Л.А.Иванова [и др.]; под ред. Л.А. Ивановой. – М.: Медицина, 1980. – Т. 2. – С. 64–93.
4. Болдырева О.В. Значение влияния микроорганизмов на следы крови при судебно–медицинской экспертизе вещественных доказательств: автореф. дис. . канд. мед. наук: 14.00.24 «Судебная медици- на» / О.В. Болдырева. – Москва, 1989. – 15 с.
5. Загрядская А.П. Современное состояние и перспективы развития судебно–медицинских цитологиче- ских исследований / А.П. Загрядская // Судебно–медицинская экспертиза. – 1985. – №2. – С. 40–41.
6. Загрядская А.П. Состояние и задачи дальнейшего совершенствования методического уровня судебно–цитологических исследований вещественных доказательств / А.П.Загрядская // Судебно– медицинская экспертиза. – 1980. – № 1. – С. 8–10.
7. Загрядзкая А.П. Выявление вагинальных клеток в следах–наложениях у подозреваемых в поло- вых преступлениях / А.П. Загрядзкая, Л.А. Ревнитская // Актуальные вопросы судебно–медицинской экспертизы живых лиц. – 1980. – №1. – С. 102–106.
8. Зайцева М.А. Следы крови на одежде подозреваемых и их значение в расследовании убийств /

М.А.Зайцева // Судебно–медицинская экспертиза. – 2013. – №3. – С. 55–57.

1. Максимова Т.В. Выделение простагландинов группы Е и F методом тонкослойной хроматогра- фии / Т.В. Максимова // Актуальные проблемы фармации. – 1981. – 126 с.
2. Перепечина И.О.Ошибки при исследовании объектов биологического происхождения / И.О.Перепечина. – Судебная экспертиза: типичные ошибки» / Под ред. Е.Р. Россинской. – М.: Про- спект, 2012. – 240 с.
3. Сборник методических документов по судебно–биологическим исследованиям вещественных доказательств / сост. C.B. Гуртовая. – М., 1998. – 157 с.
4. Спиридонов В.А. Из истории судебно–биологических исследований вещественных доказательств / В.А. Спиридонов, М.В. Перельман // Судебно–медицинская экспертиза. – 2009. – №2. – С. 47–48.
5. Schatz F.Ea. Prostaglandin output by human endometrium under superfusion and organ culture condi- tions / F.Ea. Schatz J. // Steroid Biochem. – 1985. – Vol. 22. – P. 231–235.
6. Шаршунова М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии / М. Шар- шунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – Ч. 1. – М.: Мир, 1980. – С. 74.
7. Wilson T. The effect of progesterone on the release of arachidonic acid from human endometrial cells stimulated by histamine / T. Wilson // Prostaglandins. – 1986. – Vol. 31. – Р. 343–360.

#### Варуха Е.В., Бабкина Е.П., Скрябина Е.Н., Высоцкая Л.В., Зуевская Н.П. К вопросу выяв- ления менструальной крови с наличием простагландина F2а в объектах биологического происхождения.

***Ключевые слова:*** *кровь менструального происхождения, судебно–медицинская эксперти- за, половые преступления, вещественные доказательства.*

*В ходе проведенного нами исследования было установлено, что одним из критериев выяв- ления крови менструального происхождения в предоставленных на судебно–медицинскую экспертизу вещественных доказательств является наличие простагландина F2альфа. Наи- более достоверным методом для выявления простагландина F2альфа, мы считали метод тонкослойной хроматогрофии, при проведении которой положительным результатом было выявление наличия на хроматограмме пятен абсорбции фиолетового цвета с фракциями простагландина F2альфа в интервале от 41 до 53 мм. В работе отмечено, что на разделе- ние исследуемого компанента (простагландин F2альфа) влияет ряд внешних факторов, в частности, состав и свойства элюэнта, дисперсность, температура и тому подобное.*

#### Varukha K., Babkina E., Skryаbina O., Vysotska L., Zuevska N. On the issue of detecting the presence of menstrual blood prostaglandin F2a in objects of biological origin.

***Key words****: blood menstrual origin, forensic examination, sex crimes evidence.*

*In the course of our investigation, it was found that one of the menstrual blood of criteria identifying origin submitted to forensic examination of physical evidence is the presence Prostoglandin F2alfa. The most reliable method to detect prostaglandin F2alfa, we considered hromatohrofill thin layer method, in which conducted were positive for presence detection absorption chromatogram spots with purple Prostoglandin F2alfa factions in the range of 41 to 53 mm. The paper noted that the division investigated components (prostaglandin F2alfa) affected by a number of external factors including the composition and properties of the eluent, dispersion, temperature, and so on.*