

СУДОВО-МЕДИЧНЕ ВСТАНОВЛЕННЯ МЕНСТРУАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ КРОВІ ЗА ХАРАКТЕРНИМИ ЇЇ КОМПОНЕНТАМИ

©Варуха К.В., Михайличенко Б.В.

«Національний медичний університет імені О.О.Богомольця», кафедра судової медицини та медичного права

Резюме: В роботі висвітлені нові судово-медичні критерії встановлення менструального походження крові за її специфічними компонентами. В роботі були використані органолептичний та сенсорний методи встановлення наявності триметиламіну, біохімічні методи – хроматографічне та газохроматографічне дослідження низки біологічно-активних речовин, статистична обробка отриманих результатів. Вперше встановлено, що виявлення наявності таких складових менструальної крові, як триметиламін (ТМА) може бути використане в якості попереднього методу встановлення менструального походження крові. Виявлення діагностичного вмісту насичених жирних кислот (НЖК), ненасичених жирних кислот (ННЖК) та поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), арахідонової кислоти, а також простагландинів PG F_{2α}, свідчить про менструальне походження крові. Вперше, для судово-медичної експертної практики розроблено новий підхід для встановлення менструального походження крові, який базується на виявленні речовин, що являються складовими компонентами менструальної крові. Це дозволяє значно об'єктивізувати процес діагностики наявності крові менструального походження.

Ключові слова: судово-медичне встановлення менструального походження крові, попередні проби, доказове дослідження.

ВСТУП: На сьогоднішній день одним з актуальних питань, яке вирішують при проведенні досліджень речових доказів біологічного походження в судово-медичній практиці, є визначення їх регіонального походження, в тому числі й при дослідженні мінімальної кількості об'єктів [1]. Стосовно встановлення менструального походження крові, то це питання є одним зі складних, і не достатньо розроблене в судовій медицині. Використання загальновідомого показника менструального походження крові – виявлення піхвового епітелію є обмеженим, оскільки виявити специфічні клітини вдається лише в 50% випадків [4].

В пошуках нових напрямків розробки цієї проблеми ми звернули увагу, передусім, на компонентний склад менструальної крові [5,6], що є найбільш оптимальним для вирішення питання про регіональне походження крові.

Відомо, що менструальна кров має специфічний запах, який обумовлений наявністю в ній триметиламіну, який утворюється з внаслідок декарбоксілування амінокислот в слизовій оболонці піхви. В фізіологічних механізмах виникнення менструальної кровотечі приймають участь біологічно-активні речовини. Так, відомо про участь PGF_{2α} у механізмі настання менструальної кровотечі, завдяки збільшеному вмісту якого відбувається спазм звитої артерії, і її термінальна частина, якою є капіляри, відмирає на слизовій оболонці матки.

Враховуючи наведене для діагностики менструального походження крові нами і було вивчено наявність і вміст таких її складових як ТМА, пул ПНЖК, АК, які є попередниками в синтезі PG, та зокрема, PGF_{2α}. Можливість їх використання у судово-медичній практиці досі не розроблена. Тому використання характерних біохімічних показників та вмісту компонентів менструальної крові може бути перспективним напрямком для встановлення її регіонального походження.

Мета дослідження: розробка судово-медичних критеріїв встановлення менструального походження крові за специфічними, біохімічними її компонентами.

Матеріали і методи дослідження

Матеріалом для дослідження були зразки менструальної крові від жінок репродуктивного віку 18-45 років, які були вилучені під час їхнього обстеження у жіночій консультації КНП «Центр Первинної медико-санітарної допомоги» №1 Шевченківського району м. Києва, впродовж 2015-2016 рр. Вилучення зразків проводили у відповідності до угоди між кафедрою судової медицини та медичного права Національного медичного університету імені О.О. Богомольця та жіночою консультацією КНП «Центр Первинної медико-санітарної допомоги» №1 Шевченківського району м. Києва. Об'єктом досліджень стало з'ясування вмісту ТМА, пулу ПНЖК, АК та PGF_{2α} в крові менструального походження жінок репродуктивного віку, які являли групу з 51 практично здорових жінок у віці 18-45 років. Розподіл жінок за віком був проведений згідно віковим періодам життя жінок в залежності від функціонального стану їх репродуктивної системи.

Під час їхнього обстеження у жіночій консультації вилучали зразок піхвового вмісту в період менструації на тампони, зразок піхвового вмісту в позаменструальний період та зразок капілярної крові на марлі. Вилучені об'єкти висушували та зберігали до дослідження. В подальшому, зразки піддавали органолептичному та біохімічному методам дослідження. [2,7,8,9]. Цифровий матеріал було оброблено статистично з урахуванням групи порівняння та використання методу двосигмальної оцінки при виявленні діагностичних критеріїв та встановлення кількісного вмісту біологічно-активних речовин за [15].

Загальна кількість проведених досліджень склала 948, які було проведено з 118 об'єктів. Отримані результати фотографували та сканували.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що таку складову менструальної

крові, як триметиламін, можливо виявити органолептично з застосуванням амінового тесту та сенсорним датчиком на основі ПАНі, який дозволяє виявити ТМА. При проведенні органолептичної детекції ТМА аналізували наявність запаху, який нагадує запах «гнилої риби» [10] в низці об'єктів, в тому числі, в тих, які заздалегідь мають ТМА, після їх обробки відповідно до клінічного амінового тесту [3]. Проведене дослідження показало, що ТМА виявляється в об'єктах з менструальною кров'ю та в природніх зразках, які характеризуються наявністю ТМА. Однак на виявлення ТМА впливають суб'єктивні фактори самої людини, яка проводить це дослідження, врахувати які не можливо. Тому ми звернулися до пошуку аналогів і зупинили увагу на сенсорному виявленні ТМА за допомогою ПАНі [7, 9]. Ця плівка була нами синтезована із поліаніліну на підкладці. Сутність такої детекції полягає в тому, що поліанілін як кондактинг-полімер змінює свої властивості під час контакту із газом. При цьому колір детектувальної стрічки при абсорбуванні газу на емеральдіновій формі ПАНі, яка має зелений колір, змінюється, оскільки відбувається утворення протонової форми ПАНі і яка має синій колір. В проведених нами дослідженнях, в об'єктах менструальної крові після їх попередньої обробки, за допомогою ПАНі було виявлено ТМА, як складова менструальної крові, який виявляється органолептично та сенсорним датчиком на основі ПАНі, може бути використаний в якості тесту на наявність менструальної крові. Негативний результат з органолептичної детекції ТМА не є доказовим, що може бути обумовлено як відсутністю самого ТМА, так і суб'єктивними факторами. Таким чином, негативний органолептичний результат не вказує на відсутність ТМА.

Крім того відомо, що сенсорний датчик на основі ПАНі, реагує аналогічним чином не тільки на ТМА, але й на аміак [9,14]. Розрізнити результат сенсорної діагностики не можливо. Таким чином, виявлення ТМА як органолептично, так і за допомогою сенсорного датчика може бути використано тільки як ймовірний метод [13].

Жирні кислоти в організмі людини приймають участь у багатьох різних фізіологічних процесах [16]. Зокрема, відома їх участь в утворенні клітинних мембран, виробленні багатьох гормонів, естрогену [17,18], АК та PG, гальмують агрегацію тромбоцитів [9,19].

Крім того, вміст та спектр деяких жирних кислот в менструальній рідині, на відміну від капілярної крові, залишився без уваги науковців. Тому нами і було вирішено провести дослідження загального вмісту НЖК, загального вмісту ННЖК, загального вмісту ПНЖК, лінолевої та ліноленових кислот, АК та PGF2 α .

Проведені нами дослідження вмісту пулу ПНЖК показали, що вміст НЖК в менструальній крові жінок які практично здорові (n=51), становить 46,50 \pm 0,21%.

При вивченні загального вмісту ННЖК ми встановили, що вміст ННЖК в менструальній крові практично здорових жінок (n=51), становить 53,47 \pm 0,24%. Тобто, менструальна кров відрізняється (P<0,001) від капілярної крові за вмістом ННЖК.

При вивченні загального вмісту ПНЖК ми встановили, що вміст ПНЖК в менструальній крові практично здорових жінок, (n=51), становить 36,99 \pm 0,21%. Менструальна кров від капілярної крові відрізняється за вмістом ПНЖК.

Нами було проведено вивчення з'ясування можливості використання жирних ненасичених кислот в якості маркера менструального походження крові. При вивченні менструальної крові практично здорових жінок встановлено, що вміст лінолевої кислоти становить 22,96 \pm 0,28%. Вміст лінолевої кислоти в капілярній крові жінок репродуктивного віку практично здорових жінок дорівнює 11,54 \pm 0,16%. Капілярна кров за вмістом лінолевої кислоти відрізняється від менструальної крові (P<0,001).

При вивченні менструальної крові практично здорових жінок встановлено, що вміст ліноленової кислоти становить 0,96 \pm 0,13%. Вміст ліноленової кислоти в капілярній крові жінок репродуктивного віку практично здорових жінок дорівнює 0,87 \pm 0,17%. Менструальна кров за вмістом ліноленової кислоти не відрізняється від капілярної крові (P>0,05), тому цей показник неможливо використовувати для встановлення наявності крові менструального походження.

При вивченні менструальної крові практично здорових жінок репродуктивного віку встановлено, що кількість АК становить 37,75 \pm 1,5%. Вміст АК в капілярній крові практично здорових жінок репродуктивного віку дорівнює 3,4 \pm 0,56% [12].

При вивченні менструальної крові практично здорових жінок репродуктивного віку встановлено, що кількість PGF2 α становить 14 \pm 0,07нг/мг. Вміст PGF2 α в капілярній крові жінок репродуктивного віку, практично здорових дорівнює 5,26 \pm 0,03нг/мг [11].

Узагальнюючи ці дані, визначено, що менструальна кров за вмістом НЖК, ННЖК, ПНЖК, лінолевої кислоти, АК та PGF2 α відрізняється від капілярної крові, тому ці показники можна використовувати для встановлення наявності крові менструального походження.

Таким чином, враховуючи проведені дослідження, нами було розроблено новий діагностичний підхід для діагностики менструальної крові, який базується на виявленні речовин, які являються складовими компонентами менструальної крові. Це дозволяє значно об'єктивізувати процес діагностики наявності крові менструального походження. Розроблений нами діагностичний підхід за показниками вмісту речовин для діагностики менструального походження крові наведено в таблиці 1.

Діагностичні показники визначення менструального походження крові

№	Показники	Об'єкт: менструальна кров практично здорових жінок		Використання тесту
1	ТМА	Специфічний аміновий запах (гнилої риби)		Попередній
2	Сенсор ПАНі	Зміна кольору (зелений на синій)		Попередній
		Діагностичні показники		
		Середній	Діагностичний	
3	НЖК	46,50±0,21%	49,5% і <	Доказовий
4	ННЖК	53,47±0,24%	50% і >	Доказовий
5	ПНЖК	36,99±0,21%	34% і >	Доказовий
6	Лінолева кислота	22,96±0,28%	22,8% і >	Доказовий
7	Арахідонова кислота	37,75±1,5%	>37%	Доказовий
8	PGF2α	14±0,07 нг/мг	>13,1нг/мг	Доказовий

ВИСНОВКИ

У роботі вперше розроблено судово-медичне визначення наявності крові менструального походження за специфічними її компонентами з органолептичним та сенсорним виявленням ТМА і біохімічним аналізом вмісту пулу НЖК, ННЖК, ПНЖК, окремих жирних кислот та простагландину F2α.

На менструальне походження крові можуть вказувати такі показники, як:

-триметіламін як складова менструальної крові, який виявляється органолептично та сенсорним датчиком на основі поліаніліну, може бути використаний в якості попереднього тесту на наявність менструальної крові.

- вміст пулу насичених жирних кислот менше 49,5% при одночасному збільшені пулу поліненасичених жирних кислот вище 34% та вмісту вище 50% пулу ненасичених жирних кислот у практично здорових жінок, а зниження вмісту пулу ненасичених жирних кислот менше 36% при одночасному зменшені пулу поліненасичених жирних кислот 9% і менше, може вказувати на менструальне походження крові жінок, які мають запальні захворювання зовнішніх статевих органів;

- вміст лінолевої кислоти понад 22,8% та арахідонової кислоти понад 37%, у їх жирнокислому пулі;

- вміст простагландин F2α в крові, який становить 13,1 нг/мг і більше;

Запропонований нами комплексний підхід, значно розширює судово-медичні можливості визначення походження крові.

Література:

1. Томилин ВВ, Барсегянц ЛО, Гладких АС. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств. Москва: Медицина; 1989. 304 с.
2. Kotowski TM, Grieve MC. The use of microspectrophotometry to characterize microscopic amounts of blood. J Forensic Sci. 1986;31(3):1079-85.
3. Варуха КВ, винахідник; Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, патентовласник. Застосування амінового тесту як способу визначення наявності крові менструального походження на речових доказах. Патент України № 118155. 2017 Лип 9.
4. Федоровцев АЛ. Диагностическое и идентификационное значение следов-наложений на орудиях травмы и некоторых других вещественных доказательствах [диссертация]. Москва; 2003. 236 с.
5. Шалаев НГ. Методика установления половой принадлежности и вагинального происхождения эпителиальных клеток на половых органах и в пятнах на одежде насильника. Актуальные вопросы судебной медицины и криминалистики. 1996;49:149-50.
6. Федоровцев АЛ, Ревнитская ЛА, Королева ЕИ, Эделев НС. Судебно-медицинские цитологические исследования следов на вещественных доказательствах. Н. Новгород: Поволжье; 2009. 152 с.
7. Kukla AL, Shirshov YuM, Piletsky SA. Ammonia sensors based on sensitive polyaniline films. Sensors and Actuators B. 1996;37(3):135-40. doi: 10.1016/S0925-4005(97)80128-1
8. Ивановой ЛА, редактор. Технология лекарственных форм. Т.2. Москва: Медицина. 1980; 544 с.
9. Яцишин М., Ковальчук Є. Поліанілін: хемічний синтез, механізм синтезу, структура та властивості, легування. Праці НТШ. Хем. Біохем. 2008;21:87-102.
10. Молчанов ОЛ, Кира ЕФ. Инфекции и репродуктивное здоровье. Санкт-Петербург; 2002. 300 с.
11. Варуха КВ. Вміст простагландину F2альфа в крові менструального походження жінок репродуктивного віку. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(6):9-13. doi: 10.26693/jmbs03.06.009
12. Варуха КВ, Михайличенко БВ. Вміст арахідонової кислоти в крові менструального походження жінок, які мають запальні захворювання статевих органів. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(1):23-5. doi: 10.26693/jmbs03.01.023
13. Lakard B, Carquigny S, Segut O, Patois T, Lakard S. Gas Sensors Based on Electrodeposited Polymers. Metals. 2015;5:1371-86.

doi: 10.3390/met5031371

14. Okajima H, Katsumata Y. Quantitative analysis of species identification tests of bloodstains using anti-human serum. *Nagoya J Med Sci.* 1993;55(1-4):57-63.
15. Біляков АМ, Михайличенко БВ, винахідники; Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, патентовласник. Спосіб визначення кількісного вмісту біологічно-активних речовин в тканинах та рідинах тіла людини. Патент України № 54582. 2010 Лис 10.
16. Ткаченко БИ, редактор. Физиология человека. Compendium. 3-е изд. Москва: ГЭОТАР-Медиа. 2010. 496 с.
17. Kuswandi B, Jayus, Restyana A, Abdullah A, Heng LY, Ahmad M. A novel colorimetric food package label for fish spoil age based on polyaniline film. *Food Control.* 2012;25(1):184-9. doi: 10.1016/j.foodcont.2011.10.008
18. Marieb EN, Hoehn K. *Human Anatomy and Physiology.* 7th ed. Benjamin Cummings Publishing Company; 2006. 1159 p.
19. Bonney RC, Qizilbash ST, Franks S. Endometrial phospholipase A2 enzymes and their regulation by steroid hormones. *J Steroid Biochem.* 1987;27(4-6):1057-64. doi: 10.1016/0022-4731(87)90190-7

References:

1. Tomilin VV, Barsegyants LO, Gladkikh AS. *Sudebno-meditsinskoe issledovanie veshchestvennykh dokazatel'stv* [Forensic examination of evidence]. Moskva: Meditsina; 1989. 304 s. (in Russian)
2. Kotowski TM, Grieve MC. The use of microspectrophotometry to characterize microscopic amounts of blood. *J Forensic Sci.* 1986;31(3):1079-85.
3. Varukha KV, vynakhidnyk; Natsional'nyi medychnyi universytet im. O.O. Bohomol'tsia, patentovlasnyk. Zastosuvannia aminovoho testu yak sposobu vyznachennia naiavnosti krovi menstrual'noho pokhodzhennia na rechovykh dokazakh [The use of an amine test as a way of determining the presence of blood of menstrual origin on physical evidence]. Patent Ukrainy № 118155. 2017 Lyp 9. (in Ukrainian)
4. Fedorovtsev AL. Diagnosticheskoe i identifikatsionnoe znachenie sledov-nalozheniy na orudiyakh travmy i nekotorykh drugikh veshchestvennykh dokazatel'stvakh [Diagnostic and identification value of traces-overlays on instruments of injury and some other material evidence] [dissertation]. Moskva; 2003. 236 s. (in Russian)
5. Shalaev NG. Metodika ustanovleniya polovoy prinadlezhnosti i vaginal'nogo proiskhozhdeniya epitelial'nykh kletok na polovykh organakh i v pyatnakh na odezhde nasil'nika [The technique of establishing the gender and vaginal origin of epithelial cells on the genitals and in spots on the clothes of the rapist]. *Aktual'nye voprosy sudebnoy meditsyny i kriminalistiki.* 1996;49:149-50. (in Russian)
6. Fedorovtsev AL, Revnitskaya LA, Koroleva EI, Edelev NS. *Sudebno-meditsinskie tsitologicheskie issledovaniya sledov na veshchestvennykh dokazatel'stvakh* [Forensic cytological examination of traces on evidence]. N. Novgorod: Povolzh'e; 2009. 152 s. (in Russian)
7. Kukla AL, Shirshov YuM, Piletsky SA. Ammonia sensors based on sensitive polyaniline films. *Sensors and Actuators B.* 1996;37(3):135-40. doi: 10.1016/S0925-4005(97)80128-1
8. Ivanovoy LA, redaktor. *Tekhnologiya lekarstvennykh form* [Technology of dosage forms]. T.2. Moskva: Meditsina. 1980; 544 s. (in Russian)
9. Yatsyshyn M., Koval'chuk Ye. Polianilin: khemichniy syntez, mekhanizm sintezu, struktura ta vlastyvoli, lehuвання [Polyaniline: chemical synthesis, mechanism of reactions, structure and properties, doping]. *Pratsi NTSh. Khem. Biokhem.* 2008;21:87-102. (in Ukrainian)
10. Molchanov OL, Kira EF. *Infektsii i reprodukivnoe zdorov'e* [Infections and Reproductive Health]. Sankt-Peterburg; 2002. 300 s. (in Russian)
11. Varukha KV. Vmist prostahlandynu F2a1'fa v krovi menstrual'noho pokhodzhennia zhinkov reprodukivnoho viku [The Content of Prostaglandin F2alpha in Menstrual Blood of Women of Reproductive Age]. *Ukrains'kyi zhurnal medytsyny, biolohii ta sportu.* 2018;3(6):9-13. doi: 10.26693/jmbs03.06.009 (in Ukrainian)
12. Varukha KV, Mykhailychenko BV. Vmist arakhidonovoi kysloty v krovi menstrual'noho pokhodzhennia zhinkov, yaki maiut' zapal'ni zakhvoriuvannia statevykh orhaniv [Content of arachidonic acid in the blood of menstrual origin of women who have inflammatory diseases of the genitals]. *Ukrains'kyi zhurnal medytsyny, biolohii ta sportu.* 2018;3(1):23-5. doi: 10.26693/jmbs03.01.023 (in Ukrainian)
13. Lakard B, Carquigny S, Segut O, Patois T, Lakard S. Gas Sensors Based on Electrodeposited Polymers. *Metals.* 2015;5:1371-86. doi: 10.3390/met5031371
14. Okajima H, Katsumata Y. Quantitative analysis of species identification tests of bloodstains using anti-human serum. *Nagoya J Med Sci.* 1993;55(1-4):57-63.
15. Biliakov AM, Mykhailychenko BV, vynakhidnyky; Natsionalnyi medychnyi universytet im. O.O. Bohomol'tsia, patentovlasnyk. Sposib vyznachennia kil'kisnogo vmistu biolohichno-aktyvnykh rechovykh v tkanyakh ta ridynakh tila liudyny [Method for determining quantitative content of biologically active substances in tissues and fluids of human body]. Patent Ukrainy № 54582. 2010 Lys 10. (in Ukrainian)
16. Tkachenko BI, redaktor. *Fiziologiya cheloveka. Compendium* [Human physiology. Compendium]. 3-е изд. Москва: GEOTAR-Media. 2010. 496 s. (in Russian)
17. Kuswandi B, Jayus, Restyana A, Abdullah A, Heng LY, Ahmad M. A novel colorimetric food package label for fish spoil age based on polyaniline film. *Food Control.* 2012;25(1):184-9. doi: 10.1016/j.foodcont.2011.10.008
18. Marieb EN, Hoehn K. *Human Anatomy and Physiology.* 7th ed. Benjamin Cummings Publishing Company; 2006. 1159 p. Bonney RC, Qizilbash ST, Franks S. Endometrial phospholipase A2 enzymes and their regulation by steroid hormones. *J Steroid Biochem.* 1987;27(4-6):1057-64. doi: 10.1016/0022-4731(87)90190-7

СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕНСТРУАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ КРОВИ ПО ЕЕ ХАРАКТЕРНЫМ КОМПОНЕНТАМ

К.В. Варуха, Б.В. Михайличенко

Резюме: Целью работы была разработка новых судебно-медицинских критериев установления менструального происхождения крови с ее специфическими и биохимическим показателям. В работе использовались: стандартный метод установления менструального происхождения крови, авторские (органолептический и сенсорный) методы установления триметиламина, методы хроматографического и газохроматографического исследований, метод сравнительного анализа и статистической обработки полученных результатов. Было установлено, что выявленные диагностических значений таких составляющих крови, как: триметиламин (ТМА) насыщенных жирных кислот (НЖК), ненасыщенных жирных кислот (ННЖК) и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) определенное содержание содержания линолевой и линоленовой кислот, арахидоновой кислоты, а также простагландинов PG F2 α , свидетельствуют о менструальное происхождения крови. Впервые для судебно-медицинской экспертной практики Результаты позволяет значительно объективизировать процесс диагностики наличия крови менструального происхождения, и диагностическую систему для установления менструального происхождения крови.

Ключевые слова: судебно-медицинское установление менструального происхождения крови, предварительные пробы, доказательное исследование.

FORENSIC MEDICAL DEFINITION OF BLOOD MENSTRUCTURAL ORIGIN FOR ITS CHARACTERISTIC COMPONENTS

K.V. Varukha, B.V. Mykhailychenko

Summary: The aim of the work was to develop new forensic medical criteria for establishing the menstrual origin of blood by its specific and biochemical parameters. The standard method for establishing the menstrual origin of the blood, the author's (organoleptic and sensory) methods for the determination of trimethylamine, the methods of chromatographic and gas chromatographic studies, the method of comparative analysis and statistical processing of the obtained results were used in the work. As a result, we first discovered that the detection of diagnostic values of such components of blood such as: trimethylamine (TMA); saturated fatty acids (NLCs), unsaturated fatty acids (NNHCs) and polyunsaturated fatty acids (PUFAs); certain content of linoleic and linolenic acids, arachidonic acid, and also PG F2 α prostaglandins, indicate menstrual blood origin. For the first time, forensic medical practice has developed its own algorithm for establishing the menstrual origin of blood, which is based on the identification of substances that are components of the menstrual blood, and allows to significantly objectify the process of diagnosing the presence of blood menstrual origin, and a diagnostic system for the establishment of menstrual origin blood

Key words: forensic medical establishment of menstrual origin of blood, preliminary tests, evidence-based research.