

DOI: 10.26693/jmbs03.06.009

УДК 340.6:616-005.273:300.447.3

Варуха К. В.

ВМІСТ ПРОСТАГЛАНДИНУ F2АЛЬФА В КРОВІ МЕНСТРУАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна

k.varukhasme@gmail.com

У статті наводиться інформація про можливість використання PG F2α в якості маркера менструального походження крові. PG F2α є характерним постійним складником крові менструального походження, що обумовлено його участю в фізіологічному процесі настання менструації. Його вміст в крові, який становить 13,1 нг/мг і більше, доводить менструальне походження крові.

Для визначення кількісного вмісту PGF2α в менструальній крові був використаний метод тонкошарової хроматографії з подальшим вимірюванням площі за допомогою запатентованого способу автоматичного визначення площі плями на об'єкті. У судово-медичній практиці цей метод є новим. На користь цього методу демонструється той факт, що результати можуть бути отримані протягом 15–17 годин, а у відділеннях судово-медичної цитології дослідження які застосовуються для визначення регіонального походження крові, а саме менструальної, проводиться як мінімум три дні. Отриманні результати дозволяють рекомендувати даний метод для судово-медичного визначення регіонального походження крові.

Ключові слова: лабораторна діагностика, регіональне походження крові, судова медицина.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом НДР «Судово-медичне встановлення крові менструального походження», № державної реєстрації 0114U007149.

Вступ. Найважливіше завдання судово-медичної експертизи речових доказів полягає в тому, щоб з мінімальної кількості біологічного матеріалу

отримати дані, які необхідні для його всебічної характеристики. Це є дослідження мікрослідів та мікрооб'єктів біологічного походження, ідентифікація яких за видовою, статевою, регіональною, органомною або клітинною належністю може надати суттєву допомогу правосуддю при розслідуванні злочинів проти життя та здоров'я людини [8]. Серед різних слідів біологічного походження чільне місце займають сліди крові, будучи доказом різних злочинів, які супроводжуються зовнішньою кровотечею. Важливе значення в розкритті злочинів є вміння виявити сліди крові. Під слідами крові в судовій медицині розуміють будь-яку кількість свіжої або зміненої крові поза живого організму без морфологічної характеристики [9]. Одним з основних питань, що вирішується 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 [6]. Арсенал судово-медичних методів вирішення цього питання вміщує використання таких показників, як виявлення додаткових включень, які властиві тому чи іншому органу, який був джерелом кровотечі. Що ж стосується встановлення менструального походження крові, то це питання є одним зі складних, і не достатньо розроблене в судовій медицині. В пошуках напрямків розробки цієї проблеми ми звернули увагу передусім на біохімічні дослідження, які набувають все більшого використання у судово-медичній практиці [7], зокрема на біохімічні властивості менструальної крові.

Метою дослідження було з'ясування можливості використання PG F2α в якості маркера менструального походження крові.

Матеріали та методи дослідження. Для визначення кількісного вмісту PGF2α в менструальній крові доцільним було використання тонкошарової хроматографії з подальшим вимірюванням площі за допомогою запатентованого способу автоматичного визначення площі плями на об'єкті [3]. З об'єктів дослідження вирізали ділянки, просякнуті менструальною кров'ю, капілярною кров'ю та піхвою рідиною на марлі, розміром 1,5x1,5 см, яку зважували на вагах лабораторних аналітичних, подрібнювали і переносили у пробірку з 5 мл 96% етанолу. Екстракцію проводили в умовах холодильника впродовж доби. Надалі спиртовий екстракт обробляли для проведення тонкошарової хроматографії PG. Отримані хлороформні екстракти висушували, а залишок розчиняли в метанолі. Отримані екстракти кількісно переносили на пластини «Sorbfil» і проводили елюцію в системі: хлороформ, етанол, оцтова кислота, вода у співвідношенні 90:8:1:0,8 [2]. Після закінчення елюції хроматограми висушували та проявляли 3% розчином оцтовокислої міді в 15% фосфорній кислоті. Контролем був стандартний розчин PGF2альфа (Ензапрост F). Ідентифікацію PG здійснювали шляхом: 1). Обробка хроматограми специфічним реагентом, який складається із анісового альдегіду, спирту та сірчаної кислоти, застосування якого дає характерне кольорове забарвлення PG. Так, зона PGF2альфа забарвлюється в пурпурно-фіолетовий колір; 2). При обробці хроматограм розчином оцтовокислої міді в фосфорній кислоті, зона PG забарвлюється у фіолетовий колір. Після проявлення, на хроматограмах менструальної крові були виявлені плями абсорбції фіолетового кольору, що відповідали показникам стандарту PG F2альфа, результат реєстрували у протоколах дослідження. Оцінку кількісного вмісту PG F 2 альфа в крові проводили безпосередньо на хроматограмах з обліком залежності між площею плями та масою об'єкта [3].

Робота була проведена відповідно до вимог «Інструкції про проведення судово-медичної експертизи» (наказ МОЗ України № 6 від 17.01.1995), відповідно до вимог і норм, типовим положенням з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Результати дослідження та їх обговорення. Менструація (від лат. mensis – місяць), місячні або регули – частина менструального циклу жіночого організму під час якого відбувається відторгнення функціонального шару ендометрію (слизової оболонки матки), що супроводжується кровотечею. Основну роль на початку менструації відіграє спазм артеріол. Відомо, що вазоконстриктори, якими є PG F2α, ендотелії-1 і тромбоцит-активізуючий фактор (ТАФ) виробляються в межах ендометрія і беруть участь в скороченні судин. Так само вони

сприяють початку менструації і подальшому контролю над нею [4]. Ці медіатори регулюються впливом судинорозширювальних агентів, таких як PG E2, простагліцин, оксид азоту, які виробляються також ендометрієм. PG F2α має виражену судинозвужувальну дію, посилює спазм артерій і ішемію ендометрію, викликає скорочення міометрія, що з одного боку, зменшує кровотік, з іншого – сприяє видаленню відторгнутого ендометрію [1, 5].

Менструальна кров не згортається і має більш темний колір, ніж кров, що циркулює в судинах. Це пояснюється присутністю у менструальній крові низки ферментів [5].

Враховуючи наведене, нами було проведено вивчення з'ясування можливості використання PG F2α в якості маркера менструального походження крові. Однак, для перевірки цього, спочатку необхідно було перевірити чи відрізняється вміст PG F2α в менструальній крові різних вікових груп жінок, які практично здорові (табл. 1).

Таблиця 1 – Вміст PG F2α в крові менструального походження практично здорових жінок репродуктивного віку

Показник одиниці вимірювання	Менструальна кров практично здорових жінок					
	Жінки 18–29 р.			Жінки 30–45 р.		
	n	M±m	σ	n	M±m	σ
PG F2α нг/мг сухої тканини	28	13,62±0,04	0,25	23	14,48±0,02	0,1
P	P<0,001					

Графічно результат дослідження наведено на рис. 1.

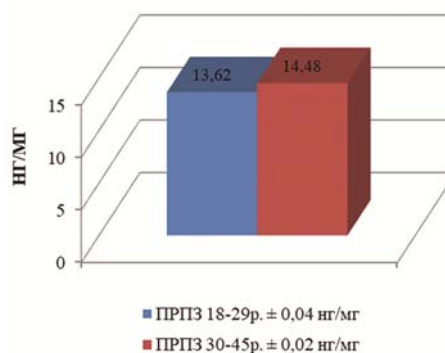


Рис. 1. Порівняльний аналіз PGF2α в менструальній крові у практично здорових жінок 18–29 та 30–45 років

Проведені дослідження вмісту PG F2α в менструальній крові практично здорових жінок показали, що його вміст в менструальній крові здорових жінок у віці 18–29 років становить 13,62±0,04 нг/мг з індивідуальними коливаннями від 5,58 нг/мг до

21,48 нг/мг. Що ж стосується практично здорових жінок у віці 30–45 років, то вміст PG F2α становить $14,48 \pm 0,02$ нг/мг, з індивідуальними варіаціями від 5,64 нг/мг до 20,95 нг/мг. Відповідно до даних, наведених в таблиці та на рисунку, видно, що вміст PG F2α в крові практично здорових жінок 30–45 років, більше майже на 6% ніж у практично здорових жінок 18–29 років.

Порівняння їх вмісту залежно від віку показало наявність суттєвої достовірної різниці ($p < 0,001$). Таким чином, вміст PG F2α в менструальній крові практично здорових жінок різниться залежно від віку.

На другому етапі роботи нам слід було встановити, як впливає наявність запальних захворювань ЗСО на кількісний вміст PG F2α в менструальній крові.

Отримані результати вивчення вмісту PG F2α в крові менструального походження, у зразках отриманих від жінок, які мають запальні захворювання ЗСО у віці 18–29 рр. та 30–45 рр. наведено в **таблиці 2**.

Таблиця 2 – Вміст PG F2α в крові менструального походження жінок, які мають запальні захворювання ЗСО

Показник одиниці вимірювання	Менструальна кров жінок, які мають запальні захворювання ЗСО					
	Жінки 18–29 р.			Жінки 30–45 р.		
	n	M±m	σ	n	M±m	σ
PG F2α нг/мг сухої тканини	53	$14,55 \pm 0,01$	0,14	56	$17,84 \pm 0,02$	0,16
P	$P < 0,001$					

Графічно результат дослідження наведено на **рис. 2**.

Проведене з'ясування співвідношення вмісту PG F2α в крові менструального походження жінок, які мають запальні захворювання ЗСО з урахуванням їх віку показало, що існує вплив віку жінки на вміст PG F2α в менструальній крові таких жінок. Так, у жінок у віці 18–29 р.р. він становив $14,55 \pm 0,01$ нг/мг, а у віці 30–45 р.р. складає $17,84 \pm 0,02$ нг/мг. Таким чином, вміст PG F2α в крові менструального походження жінок, які мають запальні захворювання ЗСО різниться залежно від віку. ($P < 0,001$).

При порівнянні вмісту PG F2α в менструальній крові практично здорових жінок, та тих, що мають

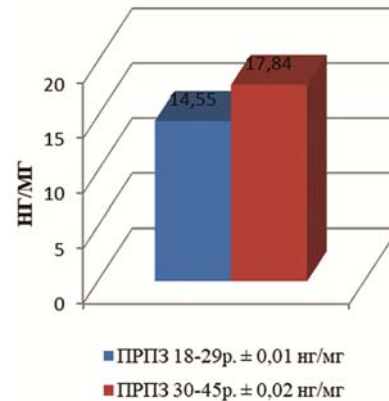


Рис. 2. Порівняльний аналіз PGF2α в менструальній крові у жінок 18–29 та 30–45 років, які мають запальні захворювання ЗСО

запальні захворювання ЗСО, показало, що у жінок котрі мають запальні захворювання ЗСО цей показник був вищий на 13,7% (**табл. 3**).

Таблиця 3 – Порівняння вмісту PGF2α у біологічних субстратах жінок репродуктивного віку

Об'єкт	Здорові жінки			Хворі жінки			P
	n	M±m	σ	n	M±m	σ	
Менструальна кров	51	$14 \pm 0,07$	0,53	109	$16,24 \pm 0,04$	0,50	$P < 0,001$

Отже, PG F2α являється характерним постійним складником крові менструального походження, що обумовлено його участю в фізіологічному процесі настання менструації. Його вміст в крові, який становить 13,1 нг/мг і більше, доводить менструальне походження крові.

Таким чином, нами отримані статистично значущі показники, котрі свідчать про можливість встановлення менструального походження крові за кількісним вмістом в ній PG F2α.

Висновки та перспективи подальших досліджень. В результаті проведених досліджень, нами доведена можливість визначення менструального походження крові за кількісним вмістом в ній PG F2α. Вищенаведене обумовлює перспективу для подальшого впровадження запатентованого способу автоматичного визначення площі плями на об'єкті.

References

1. Boroyan RG. *Prostaglandins: A View of the Future*. M: Knowledge; 1983. 96 p. [Russian]
2. Bobylev RV, et al. *Technology of dosage forms: Textbook in 2 volumes*. Ed. LA Ivanova. M: Medicine; 1980; 2: 64-93. [Russian]
3. *Patent 54582 Ukraine*, МРК G01N 33/48. Method of determining the quantitative content of biologically active substances in tissues and human body fluids / Bilyakov AM, Mykhailychenko BV. (UA); stated. 07.07.2010; has published 10.11.20. [Ukrainian]

4. Watanabe K, Yoshida R, Shimizu T, Hayaishi O. Enzymatic formation of prostaglandin F₂ alpha from prostaglandin H₂ and D₂. Purification and properties of prostaglandin F synthetase from bovine lung. *J Biol Chem*. 1985 Jun 10; 260 (11): 7035–41. PMID: 3858278
5. Li A, Felix JC, Hao J. Menstrual-like breakdown and apoptosis in human endometrial explants. *Hum Reprod*. 2005. 20 (6): 1709–19.
6. Mykhailychenko BV, et al. *Forensic medical examination of objects of biological origin by STR of nuclear DNA loci using polymerase chain reaction. Educational and methodical manual*. Kiev; 2012. 83 p. [Ukrainian]
7. Antonova SN. Establishment of organ and tissue belonging to the objects of examination by cytological method. Mat 1 All-Russian Congress of Forensic Physicians. M; 1991. p. 137-8. [Russian]
8. Kryvda GF, Demianchuk AP, Kotelnikova VO, Starovotivova RO, Kryvda RG. Forensic medical research of material evidence. Kherson; 2014. p. 137-45. [Ukrainian]
9. Starovoytova RO, Drukinina IM, Burchinsky VG, Kryvda GF, Leshchenko OP. Forensic and cytological atlas of tissues and organs of a person. Kherson; 2011.

УДК 340.6: 616-005.273: 300.447.3

СОДЕРЖАНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНА F₂АЛЬФА В КРОВИ МЕНСТРУАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

Варуха Е. В.

Резюме. В статье приводится информация о возможности использования PG F₂α в качестве маркера менструального происхождения крови. PG F₂α является характерным постоянным компонентом крови менструального происхождения, обусловлено его участием в физиологическом процессе наступления менструации. Его содержание в крови, который составляет 13,1 нг / мг и более, доказывает менструальное происхождения крови.

Для определения количественного содержания PGF₂α в менструальной крови был использован метод тонкослойной хроматографии с последующим измерением площади с помощью запатентованного способа автоматического определения площади пятна на объекте. В судебно-медицинской практике этот метод является новым. В пользу этого метода демонстрируется тот факт, что результаты могут быть получены в течение 15–17 часов, а в отделениях судебно-медицинской цитологии исследования применяемых для определения регионального происхождения крови, а именно менструальной, проводится как минимум три дня. Полученные результаты позволяют рекомендовать данный метод для судебно-медицинского определения регионального происхождения крови.

Ключевые слова: лабораторная диагностика, региональное происхождение крови, судебная медицина.

UDC 340.6: 616-005.273: 300.447.3

The Content of Prostaglandin F₂alpha in Menstrual Blood of Women of Reproductive Age

Varukha K. V.

Abstract. The article provides information on the possibility of using PG F₂α as a marker of the menstrual blood.

Material and methods. We studied dried on gauze menstrual blood, taken from practically healthy women and women who had inflammatory diseases of the external genital organs, aged from 18 to 45 with a normal menstrual cycle. This method is new in forensic practice.

Results and discussion. The obtained results allowed us to recommend this method for the forensic medical determination of the regional origin of blood. Menstruation (from Latin mensis – month), lunar or regulated is a part of the menstrual cycle of the female body during which there is a rejection of the functional layer of the endometrium (uterine mucosa), which is accompanied by bleeding. The main role in the beginning of menstruation is spasm of arterioles. It is known that vasoconstrictors, which are PG F₂a, endothelial-1 and platelet activating factor (TAF), are produced within the limits of the endometrium and are involved in the reduction of blood vessels. They also promote the onset of menstruation and further control of it. These mediators are regulated by the effects of vasodilators such as PG E₂, prostacyclin, nitric oxide, which are also produced by the endometrium. PG F₂a has a pronounced vasoconstrictor effect, enhances spasm of arteries and endometrial ischemia, causes reduction of myometrium, which, on the one hand, reduces blood flow, on the other hand, promotes the removal of endometrium rejection.

Menstrual blood is not coagulated and has a darker color than blood circulating in vessels. This is due to a number of enzymes existing in menstrual blood.

We also studied the possibility of using PG F2 α as a marker of menstrual blood origin. We analyzed the correlation of the content of PG F2 α in menstrual blood, taking into account the presence of inflammatory diseases of the external genitalia. Thus, at the baseline level of PG F2 α during menstruation, its content in menstrual blood was 14 ± 0.07 ng/mg. That is, during menstruation, the content of PGF2 α is determined as a synthesis in the vaginal fluid, and in the uterine envelope.

As for inflammatory diseases of the external genital organs, the base content of PG F2 α in menstruation blood was 16.24 ± 0.04 ng/mg, which is 35.5 ng/mg higher. Thus, the synthesis of PGF2 α in the vaginal fluid increased in the inflammatory processes of the external genital organs, because the uterine mucus was not involved in the inflammatory process.

Conclusions. The conducted study showed that PG F2 α was a characteristic constant component of menstrual blood. This is due to its participation in the physiological process of the onset of menstruation. Its blood content, which is 13.1 ng/mg or more, proves the menstrual origin of blood.

Keywords: laboratory diagnostics, regional origin of blood, forensic medicine.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 08.08.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування