

**О.М. Марченко, аспірант**  
**Т.М. Івасишин**

*Київський Національний університет імені Тараса Шевченка*

## **ВПЛИВ ЛУЖНОСТІ, ТЕМПЕРАТУРИ І ВОЛОГОСТІ СЕРЕДОВИЩА НА ЗБЕРЕЖЕННЯ КЛІТИН СПЕРМИ**

У статті наведені результати дослідів по встановленню рівня збереженості клітин сперми або неушкоджених головок сперматозоїдів при різних значеннях рН предмета-носія за умов різної температури, вологості і тривалості перебування у зовнішньому середовищі.

---

---

При проведенні судово-медичної експертизи при розслідуванні злочинів, пов'язаних із зґвалтуванням, наявність сперми є єдиним речовим доказом біологічної природи, який свідчить про скоєння злочину. Спеціалісти в галузі судової експертизи виявляють сліди сперми на місці злочину за допомогою одного з орієнтовних методів — ультрафіолетового світла [1–3]. Такі зовнішні умови, як вологість, температура, сонячні промені впливають на тривалість збереження клітин сперми і, як наслідок, можуть суттєво вплинути на результат самої експертизи. Відомо, що в одному еякуляті здорового чоловіка міститься від 2 до 4 мл сперми [4], які можуть містити до 250 млн клітин сперматозоїдів [5]. Саме така кількісна складова є одним із основних показників якісної оцінки сперми [6]. Такі показники сперми, як кількість і рухливість сперматозоїдів знижується з віком [7]. Сама сперма має власний, природний механізм, який забезпечує початковий захист сперматозоїдів від кислого градієнту піхви і ділянки шийки матки [8]. У зовнішньому середовищі під впливом температури, вологості та значення рН предмета-носія відбувається поступова деградація сперматозоїдів і вони поступово стають непридатними для цитологічного дослідження та аналізу стандартними методами судово-медичної експертизи.

Для вивчення рівня збереженості клітин сперми або неушкоджених головок сперматозоїдів при різних значеннях рН предмета-носія за умов різної температури, вологості і тривалості перебування у зовнішньому середовищі були проведені відповідні дослідження.

Ці дослідження проводили на зразках людської сперми (30 осіб), нанесених на марлю, з якою проводили попередні маніпуляції, а саме на стерильну марлю піпеткою наносили:

- 1) розчин соди із значенням рН 8,0;
- 2) розчин прального порошку із значенням рН 9,0;

3) розчин господарського мила, із значенням рН 10,0.

Контрольними були зразки, які містили лише сперму, значення рН якої становило 7,2.

Зразки сперми, нанесені на зазначені речовини, розміщували:

- в термостаті при  $+25^{\circ}\text{C}$  та двох режимах вологості: 50% та 75%;
- в холодильнику за температури  $+10^{\circ}\text{C}$ , вологості 60%;
- в морозильній камері, за температури  $-15^{\circ}\text{C}$ , вологості 11%.

Протягом перших 3 дб та 1-, 2-, 3-го тижнів з матеріалу готували цитологічні препарати. Для цього вирізки із марлі вміщували в стерильні пробірки та заливали невеликим надлишком розчину 5% аміаку і залишали на 18 год. у холодильнику при температурі  $+4^{\circ}\text{C}$ . Після цього вирізки виймали із пробірок, а екстраговані клітини сперми центрифугували протягом 4 хв при 1500 об./хв. Надосадову рідину видаляли, а з осаду клітин готували цитологічні мазки. Після повного висихання мазки фіксували метанолом протягом 10 хв і фарбували гематоксиліном за Романовським. Висушені відбитки і мазки досліджували за допомогою світлового мікроскопу при збільшенні  $\times 400$ . Кількість клітин підраховували в 100 полях зору кожного препарату. Статистичний облік даних проводили за допомогою критерію Ст'юдента та програмного забезпечення Origin 7.0.

В результаті проведених дослідів було отримано наступне.

У мазках, виготовлених із зразків сперми при рН 7,2 і температурі  $+25^{\circ}\text{C}$  та вологості 50%, спостерігали велику кількість клітин після 1-ї доби впливу, а потім поступове значне зменшення їх кількості протягом 2 тижнів. Після 3-го тижня фрагментація значної кількості клітин робила неможливим облік цитологічних препаратів.

Під впливом температури  $+25^{\circ}\text{C}$  та вологості 75% спостерігали велику кількість клітин після 1-ї доби впливу, а потім, починаючи із 2-ї доби, значне скорочення кількості клітин, придатних для ідентифікації. З 3-ї доби спостерігали майже повне знищення клітин. Надалі (починаючи з 1-го тижня) залишки фрагментованих клітин перешкоджали можливому обліку віцілілих клітин.

Під впливом температури  $+10^{\circ}\text{C}$  та вологості 60% спостерігали найбільшу кількість сперматозоїдів протягом усього досліді. Під впливом  $-15^{\circ}\text{C}$  та вологості 11% значна кількість клітин зберігалась протягом 3 тижнів та у контрольних зразках (табл. 1).

У мазках, виготовлених із зразків сперми, яка перебувала при рН 8,0 (сода) під впливом температури  $+25^{\circ}\text{C}$  та вологості 50%, спостерігали значне в порівнянні із контролем зменшення кількості клітин протягом

Таблиця 1. Зміни кількості сперматозоїдів від температури і вологості середовища у препаратах при рН 7,2 (контроль)

Тривалість впливу	Температура, °С			
	+25		+10	-15
	Вологість, %			
	50	75	60	11
1 доба	140000–160000	3780–4000	275000–300000	3500–5000
2 доба	13900–17000	1949–2010	277000–295000	4080–5000
3 доба	6500–6800	780–860	258000–260000	4000–4955
1 тиждень	347–400	бактеріальне забруднення, фрагментація	80000–100000	700–1600
2 тиждень	40–60	бактеріальне забруднення, фрагментація	38000–44980	700–1480
3 тиждень	бактеріальне забруднення, фрагментація	бактеріальне забруднення, фрагментація	35880–40100	664–1400

1–2 діб, та подальшу фрагментацію клітин, яка не давала можливості проводити облік можливо вцілих клітин.

При температурі +25°C та вологості 75% відмічено малу кількість клітин після 1-ї доби впливу та подальшу фрагментацією, починаючи із 2-ї доби.

Після впливу температури +10°C та вологості 60% спостерігали незначну кількість клітин, яка поступово зменшувалась протягом 1-го тижня, після чого спостерігали фрагментацію клітин.

При температурі -15°C та вологості 11% спостерігали невелику кількість клітин яка досить поступово скорочувалась до 3-го тижня. Клітини були хоч і в незначній кількості, але придатні для ідентифікації (табл. 2).

У мазках, які при рН 9,0 (пральний порошок) піддавались впливу температури +25°C та вологості 50%, спостерігали досить значну кількість клітин після 1–2 діб впливу, але з швидкою фрагментацією, яка не давала можливості проводити облік, починаючи з 3-ї доби впливу.

**Таблиця 2. Зміни кількості сперматозоїдів від температури і вологості середовища у препаратах при рН 8,0 (сода)**

Тривалість впливу	Температура, °С			
	+25		+10	-15
	Вологість, %			
	50	75	60	11
1 доба	300–500	30–48	20–30	79–100
2 доба	300–450	фрагментація	10–15	78–99
3 доба	фрагментація	фрагментація	6–8	76–95
1 тиждень	фрагментація	фрагментація	6–8	49–70
2 тиждень	фрагментація	фрагментація	фрагментація	30–49
3 тиждень	фрагментація	фрагментація	фрагментація	18–40

Під впливом температури +25°С та вологості 75% спостерігали фрагментовані клітини, непридатні для обліку, починаючи вже з першої доби впливу.

При температурі +10°С та вологості 60% протягом перших 3 діб спостерігали поступове скорочення невеликої кількості клітин та їх подальшу фрагментацію, починаючи з першого тижня.

Під впливом –15°С та вологості 11% протягом перших 3 діб спостерігали зовсім невелику кількість клітин. Починаючи з першого тижня спостерігалась фрагментація (табл. 3).

**Таблиця 3. Зміни кількості сперматозоїдів від температури і вологості середовища у препаратах при рН 9,0 (пральний порошок)**

Тривалість впливу	Температура, °С			
	+25		+10	-15
	Вологість, %			
	50	75	60	11
1 доба	300–400	фрагментація	33–50	1–9
2 доба	190–400	фрагментація	30–50	2–7
3 доба	фрагментація	фрагментація	5–10	1–3
1 тиждень	фрагментація	фрагментація	фрагментація	фрагментація
2 тиждень	фрагментація	фрагментація	фрагментація	фрагментація
3 тиждень	фрагментація	фрагментація	фрагментація	фрагментація

У мазках, які при рН 10,0 (мило господарське) піддавались впливу температури +25°C та вологості 50%, спостерігали значну кількість придатних клітин протягом перших 3 діб, та починаючи з 2-го тижня фрагментацію, яка не надала можливості провести облік клітин, придатних для ідентифікації.

Під впливом температури +25°C та вологості 75% спостерігали велику кількість клітин протягом перших 3 діб, та значне, хоч і поступове їх скорочення протягом 1–3-го тижнів.

При температурі +10°C та вологості 60% відмічали велику кількість придатних для обліку клітин протягом перших 3 діб, яка поступово зменшувалась протягом наступних тижнів.

Під впливом –15°C та вологості 11% протягом перших 3 діб спостерігали велику кількість придатних для обліку клітин, яка поступово зменшувалась протягом наступних тижнів (табл. 4).

Аналіз отриманих даних показав, що умови зовнішнього середовища істотно впливають на ступінь збереження клітин сперми. Найбільш сприятливими умовами виявилось середовище з оптимальним значенням рН 7,2 сперми (контроль). Під впливом температури +10°C та вологості 60% спостерігали найбільшу кількість сперматозоїдів протягом усього дослідження. Температура –15°C та вологість 11% теж дозволяють зберегти значну кількість клітин протягом 3 тижнів. Найменший термін збереження клітин (0 діб) відмічено при температурі +25°C та вологості 75%.

**Таблиця 4. Зміни кількості сперматозоїдів від температури і вологості середовища у препаратах при рН 10,0 (мило господарське)**

Тривалість впливу	Температура, °C			
	+25		+10	–15
	Вологість, %			
	50	75	60	11
1 доба	1200–1400	1580–1600	1800–2000	6400–7000
2 доба	1000–1400	1545–1590	1795–1998	1500–2700
3 доба	660–800	1280–1500	890–1000	2080–2560
1 тиждень	80–150	300–400	668–800	1800–1900
2 тиждень	фрагментація	100–200	290–360	1600–1900
3 тиждень	фрагментація	46–93	139–200	900–1000

В експериментальних серіях кількість збережених сперматозоїдів на порядок менше, ніж у контролі. Найкращими для клітин були умови з рН 10,0 (мило господарське), за яких протягом майже усього терміну (окрім вологості 50%) можна було ідентифікувати сперматозоїди. При цьому найсприятливішими були перші три доби (надалі кількість клітин зменшувалась). Найменша кількість збережених клітин при рН 9,0 через добу при температурі +25°C та вологості 75%. При всіх температурних режимах і вологості неможливий відбір клітин, придатних для ідентифікації.

При рН 9,0 (пральний порошок) протягом першої доби найкраще зберігалися сперматозоїди при температурі +25°C і вологості 50%. Вже через 2 доби їх кількість неможливо було визначити через фрагментацію клітин. Найгірше збереглися через добу сперматозоїди при температурі +25°C і вологості 75%. Така ж їх відсутність виявлена і надалі. Таким чином, при рН 9,0 на початкових (при +25°C і вологості 75%) та кінцевих термінах дослідження фрагментація клітин перешкоджає їх ідентифікації.

При рН 8,0 (сода) початкова збереженість клітин була найкращою при температурі +25°C та вологості 50% протягом перших двох діб, а далі спостерігали фрагментацію клітин. Не відбулось фрагментації лише при температурі -15°C та вологості 11%.

**Висновки.** В залежності від рН ступінь збереження сперматозоїдів відрізняється за умов різних температурних режимів та вологості. У контролі (рН 7,2) зберігається найбільша кількість сперматозоїдів при температурі +10°C та вологості 60%.

При рН 8,0 найбільш сприятливою для збереження клітин була температура -15°C та вологость 11%.

При рН 9,0 фрагментація клітин наставала за всіма температурними параметрами на різних строках тривалості досліду.

При рН 10,0 збереження клітин було найкращим, окрім умов +25°C та вологості 50%, де з першого тижня спостерігали значне скорочення кількості клітин, а з другого тижня вже спостерігали фрагментацію.

### Список використаної літератури

1. Statistics and the evaluation of evidence for forensic scientists / C.G.G.Aitken. — W: New York, 1995. — 475 p.
2. Intz B.N. Development of an eight -locus short tandem repeat multiplex system / B.N. Intz // Forensic Science. — № 58. — P. 1-13.
3. Chakraborty R. Sample size requirements for addressing the population genetics issues of forensic use of DNA typing / R. Chakraborty // Yuman boil. — № 64. — P. 141-159.

4. *Корниенко Д.И.* Подготовка биологического материала для молекулярно-генетических идентификационных исследований / Д.И. Корниенко, В.П. Вейко // Судебно-медицинская экспертиза. — Ростов: Ростиздат, 2001. — С. 31–40.
5. *Перепечина И.О.* Исследование ДНК в в судебно-медицинской экспертизе вещественных доказательств: проблема индивидуализации / И.О. Перепечина // Судебно-медицинская экспертиза. — 2002. — С. 29–35.
6. *Цыбин А.К.* Клиническая значимость диагностического исследования с позиций доказательной медицины / А.К. Цыбин, А.А. Доценко // Здравоохранение Беларуси. — 2002. — № 8. — С. 52–55.
7. *Чирков О.* Избранные лекции по судебной медицине и криминалистике / О. Чирков, О.А. Егорова // Судебно-медицинская экспертиза. — 2000. — № 14. — С. 19–21.
8. *Янковский В.Э.* Диагностикум механизмов и морфологии повреждений мягких тканей / В.Э. Янковский // Судебно-медицинская экспертиза. — М., 2002. — С. 13–17.

### **Резюме**

В статье приведены результаты опытов по установлению уровня сохранности клеток спермы или неповрежденных головок сперматозоидов при различных значениях pH предмета-носителя при разных температуре, влажности и длительности пребывания во внешней среде.

### **Summary**

In the article results are given of experiences on determining level of preservation of cells of sperm or not damaged heads of spermatozoons at different pH values of the object-carrier at different temperature, humidity and duration of stay in an environment.