

УДК 340.6:616-076:577.21

*Г.Ф. Кривда, Д.О. Уманський, Р.Г. Кривда***ЦИТОЛОГІЧНИЙ ПРЕПАРАТ – ДЖЕРЕЛО ГЕНЕТИЧНОЇ ІНДИВІДУАЛІЗУЮЧОЇ ІНФОРМАЦІЇ У СУДОВІЙ МЕДИЦИНІ**

Одеський національний медичний університет

Резюме. У роботі вивчалася можливість використання цитологічних препаратів, як об'єкт судово-медичного ідентифікаційного дослідження із застосуванням молекулярно-генетичних методів та визначалася мінімальна кількість ядровмісних клітин у препара-

тах, необхідних для проведення «позитивної» ідентифікації особи.

Ключові слова: цитологічний препарат, ДНК, ідентифікація особи, молекулярно-генетичні дослідження, ядровмісні клітини.

Вступ. В останні роки дослідження слідів на речових доказах за допомогою ДНК-аналізу стало «золотим стандартом» у судово-медичній практиці та стало незамінним джерелом інформації у розслідуванні злочинів [1, 2]. Отримання криміналістично значимої інформації при аналізі мікрооб'єктів біологічного походження є складним завданням [3].

У випадках виявлення на речових доказах мікрослідів та мікронакладень біологічного матеріалу, коли його неможливо розділити для подальших додаткових досліджень, та за наявності в ньому обмеженої кількості придатних ядровмісних клітин, єдиним речовим доказом для ідентифікації особи залишається лише виготовлений з цього матеріалу цитологічний препарат. На сьогоднішній день молекулярно-генетичні експертні дослідження мікрослідів біологічного походження за допомогою стандартних методик практично не проводяться у зв'язку з відсутністю необхідних адаптованих способів дослідження поодиноких клітин [4, 5].

Мета дослідження. Розробити комплексний спосіб проведення судово-медичної ідентифікаційної експертизи шляхом ПЛР-типуювання геномної ДНК, виділеної з ядровмісних клітин у цитологічних препаратах, приготуваних з мікрослідів біологічного походження.

Матеріал і методи. Цитологічні препарати, виготовленні з мікрослідів крові (54 об'єкти), пото-жирових виділень (50 об'єктів), слини (57 об'єктів) та змішаних мікрослідів вагінального епітелію й сперми (51 об'єкт), які були виявлені на речових доказах і фігурували в процесі розслідування кримінальних злочинів, спрямованих проти життя та здоров'я особи.

Судово-імунологічні: метод тонкошарової горизонтальної хроматографії (ТГХ) у мікроваріанті, реакція електропреципітації (РЕП) у мікроваріанті; реакція на амілазну активність; судово-цитологічні: виявлення на речових доказах клітинних елементів; визначення органно-тканинної належності об'єкту експертизи; визначення регіональної належності епітеліальних клітин; молекулярно-генетичні: виділення і ПЛР-типуювання геномної ДНК ядровмісних клітин, які містяться у цитологічних препаратах, приготуваних з мікро-

слідів біологічного походження; метод ампліфікації геномної ДНК із застосуванням ПЛР; електрофоретичні методи; методи статистичної обробки і комп'ютерного аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення. За результатами досліджень розроблений алгоритм судово-медичного комплексного дослідження мікрослідів біологічного походження, який включає наступні етапи: вивчення супровідної документації та обставин справи; складання плану комплексного дослідження; огляд, пошук, опис та фотографування слідів, які можуть містити біологічний матеріал; вилучення біологічних слідів за допомогою запропонованих способів; серологічне дослідження мікрослідів з метою встановлення наявності біологічного матеріалу та його видової належності; цитологічне дослідження, яке включає в себе приготування цитологічних препаратів з вилучених мікрослідів з метою визначення кількості ядровмісних клітин, особливостей їх морфологічної структури та придатності для подальшого дослідження з урахуванням структурних характеристик (пошкодження цілісності ядра); молекулярно-генетичне дослідження – виділення ДНК з клітин у цитологічних препаратах з проведенням етапу лізису клітинної та ядерної оболонки безпосередньо на предметному склі, ампліфікація виділеної ДНК за допомогою мультиплексної індивідуалізуючої панелі набору для ПЛР-ампліфікації "AmpFISTR®Identifiler PLUS" (Applied Biosystems", США), зі збільшенням кількості циклів до 32, розділення продуктів ампліфікації з використанням пристрою 3130 Genetic Analyzer ("Applied Biosystems", США), аналіз продуктів ампліфікації з встановленням алелів за допомогою програми «Gene Mapper ID Software Version 3.1».

При застосуванні алгоритму комплексного судово-медичного дослідження мікрослідів біологічного походження мінімальна кількість ядровмісних клітин, при дослідженні якої виявилось можливим отримати продукти ампліфікації за всіма дослідженими 15 мікросателітними локусами та локусом для визначення статевої належності Amel та отримати «повний» профіль ДНК, складала: 50 ядровмісних клітин крові у групі мікрослідів крові; 46 епітеліальних клітин у групі

пото-жирових мікрослідів; 48 клітин буккального епітелію у групі мікрослідів слини. У змішаних мікрослідах, виготовлених зі змивів та відбитків з голівок статевих членів визначити профіль ДНК виявилось можливим за наявності в них 53 ядровмісних клітин вагінального епітелію в цитологічному препараті. У цитологічних препаратах, виготовлених зі змішаних мікрослідів вагінального (ректального, буккального) епітелію та сперми, визначити профіль ДНК виявилось можливим при дослідженні 48 сперматозоїдів та клітин сперми.

Висновки

1. У роботі вперше вирішене актуальне науково-практичне завдання, яке полягало у визначенні мінімальної кількості ядровмісних клітин у цитологічних препаратах, при дослідженні яких можливо встановити «повний» профіль ДНК за всіма дослідженими гіперваріабельними локусами та локусом для визначення статевої належності Amel.

2. Доведено, що цитологічні препарати можуть виступати як об'єкти ідентифікаційного дослідження із застосуванням молекулярно-генетичних методів.

3. Розроблений алгоритм комплексного судово-медичного дослідження дозволяє мінімізувати втрати ядровмісних клітин на етапах цитологічного та молекулярно-генетичного дослідження, та надає змогу з максимальною ефективністю використовувати невеликі кількості біологічного матеріалу, який міститься в мікрослідах

та мікронакладеннях на речових доказах, які раніше вважалися непридатними для дослідження і, як наслідок, підвищити якість проведення ідентифікаційного дослідження.

Перспективи подальших досліджень. Застосування розробленого алгоритму комплексного проведення судово-медичних досліджень дозволить використання архівного матеріалу, який зберігається у відділеннях судово-медичної цитології регіональних бюро судово-медичної експертизи України, для отримання ідентифікуючих генетичних характеристик, а саме ДНК-профілів, і подальшого їх занесення до баз даних.

Література

1. Деханов Д.В. Использование современных высокоинтенсивных источников излучения для обнаружения следов при биологических и молекулярно-генетических экспертизах / Д.В. Деханов, Н.В. Власкова // Суд.-мед. экспертиза. – 2011. – № 6. – С. 44-48.
2. Уманський Д.О. Судово-медична ідентифікація особи за допомогою дослідження геномної ДНК біологічного матеріалу у цитологічних препаратах / Д.О. Уманський, Р.Г. Кривда, Г.Ф. Кривда // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2012. – Вип. 3. – Т. 1 (94). – С. 224-231.
3. Уманський Д.О. Судово-медична ідентифікація особи при розслідуванні статевих злочинів за допомогою дослідження геномної ДНК у цитологічних препаратах, приготуваних зі змішаних слідів вагінального епітелію та сперми / Д.О. Уманський, Р.Г. Кривда // Експерим. і клін. мед. – 2012. – № 3 (56). – С. 76-82.
4. Jobling M. Encoded evidence: DNA in forensic analysis / M. Jobling, P. Gill // Nat. Rev. Genet. – 2004. – Vol. 5. – P. 739-751.
5. Morling N. Forensic genetics / N. Morling. – N.Y., 2004. – 364 p.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ – ИСТОЧНИК ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНДИВИДУАЛИЗИРУЮЩЕЙ ИНФОРМАЦИИ В СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЕ

Г.Ф. Кривда, Д.А. Уманский, Р.Г. Кривда

Резюме. В работе изучалась возможность использования цитологического препарата в качестве объекта судебно-медицинского идентификационного исследования с применением молекулярно-генетических методов, и определялось минимальное количество ядродержащих клеток в препарате, необходимых для проведения «положительной» идентификации личности.

Ключевые слова: цитологический препарат, ДНК, идентификация личности, молекулярно-генетические исследования, ядродержащие клетки

CYTOLOGICAL SPECIMEN AS A SOURCE OF GENETIC INDIVIDUALIZED INFORMATION IN FORENSIC MEDICINE

G.F. Kryvda, D.A. Umans'kyi, R.G. Kryvda

Abstract. A possibility of using a cytological specimen's as an object of a forensic identity research, using molecular-genetic methods and a minimal number of nucleus-containing cells in the specimens, necessary for a "positive" person's identification, have been studied in this paper.

Key words: cytological specimen, DNA, person's identification, molecular-genetic research, nucleus-containing cells

National Medical University (Odessa)

Рецензент – проф. В.Т. Бачинський

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 3 (67), part 1. – P. 86-87

Надійшла до редакції 04.06.2013 року