

ЕКСПЕРТУ-ПРАКТИКУ

УДК 61:02-12/1057-3

ОСОБЛИВОСТІ ПРОВЕДЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОЇ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЗАГИБЛИХ В ЗОНІ АТО

В.В. Войченко, О.Х. Івашина, Н.В. Полотенко-Повстяна

КЗ «Дніпропетровське обласне бюро судово-медичної експертизи» ДОР»

Резюме. У статті викладені актуальні питання щодо організації роботи судово-медичних експертів генетиків стосовно ідентифікації осіб, що загинули в умовах бойових дій з масовими жертвами людей.

Ключові слова: судово-медична експертиза, молекулярно-генетична ідентифікація, масова загибель людей.

ВСТУП. В судово-медичній практиці під час проведення антитерористичної операції в Донецькій та Луганській областях все більшу значимість набуває ідентифікація останків тіл при масовій загибелі людей. Ідентифікація загиблих, які надходять із зони АТО, ускладнена. Це пов'язано зі значними пошкодженнями трупів. В багатьох випадках тіла сильно спотворені, фрагментовані внаслідок вибухових та вогнепальних уражень, дії надвисоких температур та несприятливих природних факторів, які призводили до порушення цілісності і гнильних змін. Через це спостерігається втрата ідентифікаційно-значущих ознак не тільки для візуального впізнання, але й для експертної ідентифікації іншими базовими методами судово-медичного дослідження. Тому єдиним способом впізнання загиблих є метод молекулярно-генетичної ідентифікації (ДНК-аналіз) завдяки його високій дискримінуючій здатності [1-5] і можливості використання непрямой ідентифікації шляхом встановлення спорідненості з кровними родичами загиблих (батьки, діти) [6-10].

Мета дослідження – проведення молекулярно-генетичної ідентифікації загиблих в зоні АТО.



Мал. 1. Фрагмент ребра з хрящовою частиною



Мал. 2. Плюснева кістка



Мал. 3. Фрагмент трубчастої кістки



Мал. 4. Хрящова прокладка хребця

Матеріал і методи дослідження. До Дніпропетровського обласного бюро судово-медичної експертизи надходить велика кількість загиблих військовослужбовців, більшість з яких не підлягає візуальній ідентифікації. Тому найчастіше об'єктами дослідження були кісткові та хрящові тканини. У відділенні судово-медичної генетики за останні кілька місяців було проведено понад 70 експертиз по ідентифікації загиблих військовослужбовців, при цьому було досліджено більше 130 об'єктів кісткових останків. Найбільша кількість об'єктів була досліджена при ідентифікації 49 загиблих військовослужбовців та членів екіпажу збитого під Луганськом військового літака ІЛ-76, серед яких були лише окремі фрагменти людських тіл.

При дослідженні приблизно половину об'єктів складали відібрані з невпізнаних останків та очищені від м'яких тканин фрагменти ребер, більшість з хрящовою частиною, іншу половину складали невеликі кістки кистей, стоп та фрагменти кісток верхніх і нижніх кінцівок, декілька об'єктів були представлені хрящовими прокладками хребців (мал. 1-4).

Відібрані об'єкти зберігались в морозильній камері. Всі фрагменти перед дослідженням промивались послідовно в дезінфікуючому розчині, дистильованій воді, 96° етиловому спирті, просушувались. Для дослідження використовувався подрібнений хрящовий або кістковий матеріал.

ДНК з об'єктів екстрагували лізуючим буфером TENS з додаванням дрібнопротеїнази K і подальшою інкубацією в термошейкері при +56°C протягом 24-48 год. До отриманого лізату додавали 2/5 частини від загального об'єму 5 М ацетату калію та рівний об'єм хлороформу, перемішували протягом 3-5 хвилин, центрифугували 20 хв. при 12-14 тис. об/хв. Верхню водну фазу відбирали в чисту пробірку, додавали рівний об'єм ізопропілового спирту, поміщали в морозильну камеру на кілька годин, центрифугували 30 хв. при 12-14 тис. об/хв. Супернатант видаляли декантуванням. Осад просушували, промивали 500 мкл 70% етилового спирту, центрифугували 5 хв. при 12-14 тис. об/хв. Супернатант видаляли декантуванням, осад просушували. ДНК розчиняли в 80-120 мкл ТЕ-буферу при нагріванні. Типування гіперваріабельних STR-локусів ДНК генома людини проводили в монолокусному форматі за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) стандартним набором реактивів НПФ «АТГ-Биотех» на термоциклері "PTC-220 DNA Engine Dyad" (Bio-Rad, США) згідно наведеним інструкціям. Для оцінки специфічності реакції ампліфікації використовували зразок позитивної контрольної ДНК з відомим генетичним профілем та негативний контроль без ДНК. Ампліфіковані фрагменти ДНК фракціонували електрофорезом в 8% поліакриламідних денатуруючих гелях (ПААГ). Візуалізацію продуктів ампліфікації проводили фарбуванням нітратом срібла. Розміри продуктів ПЛР для кожного з локусів ДНК визначали за допомогою відповідних локус-специфічних алельних маркерів.

Результати власних досліджень. За нашими даними процес генотипування виявився успішним у всіх випадках виділення ДНК із хрящової тканини. У більшості випадків виділення ДНК із кісткової тканини ребер та трубчатих кісток теж були успішними, хоча іноді процес виділення ДНК потребував повторних процедур. У кількох випадках дослідження фрагментів трубчатих кісток генотип був встановлений частково.

Висновок. Таким чином, результати проведених досліджень показали, що найбільш придатним матеріалом для отримання препаратів ДНК і встановлення їх генотипічних характеристик є хрящова тканина кісткових залишків, яку можливо рекомендувати в якості об'єкту для молекулярно-генетичного дослідження при експертизі гнильно-змінених трупів та їх фрагментів.

Література

1. **Єрмолаєва А.О.** Особливості збирання, зберігання та направлення біологічних слідів людини на молекулярно-біологічну експертизу /А.О. Єрмолаєва, В.І. Лагус // Методичні рекомендації /ДНДЕКЦ МВС України. – К., 2006.
2. **Кожухова Н.Е.,** Кривда Г.Ф., Кривда Р.Г., Сиволап Ю.М., Суліма Ю.Ю., Чеботар С.В. Використання аналізу ДНК у судово-медичних експертизах: Науково-практичне видання / За ред. Ю.М. Сиволапа та Г.Ф.Кривди. – Одеса. Одеський державний медичний університет, 2001.
3. **Кривда Г.Ф.** ПЛР-аналіз молекулярно-генетичного поліморфізму людини в судовій медицині / Г.Ф. Кривда //Автореф. дис. докт.мед. наук. - К., 2003.- 32 с.
4. **Кривда Р.Г.** Ідентифікація особи в судовій медицині на основі ПЛР-аналізу геномної ДНК кісткової тканини/Р.Г. Кривда // Автреф. ... канд.меднаук.- К., 2009 . – 20 с.
5. **Старовойтова Р.О.** Судово-медична цитологія / Р.О. Старовойтова, В.Д. Мішалов, Г.Ф. Кривда // Одеса: Астропринт, 2007.- С.72.
6. **Іванов П.Л.** Использование индивидуализирующих систем на основе полиморфизма амплифицированных фрагментов (ПДАФ) ДНК в судебно-медицинской экспертизе идентификации личности и установлении родства. / П.Л. Иванов // Судебно-медицинская экспертиза. – 1999 - №5, с.35-41.
7. **Іванов П.Л.** Судебно-медицинская экспертиза, 2003. - № 1. – С.32-33.
8. **Кульгин А.Ю.** Криминалистическое исследование локусов ДНК костных останков человека в целях идентификации личности /А.Ю. Кульгин, И.И. Стороженко, М.Г. Пименов, С.А. Кондрашов // Методические рекомендации.- М., 2004.- 40 С.
9. **Пименов М.Г.,** Кульгин А.Ю., Кондрашов С.А. Научные и практические аспекты криминалистического ДНК-анализа/М.Г. Пименов, А.Ю. Кульгин, С.А. Кондрашов // ГУ ЭКЦ МВД России, 2001.- 144 С.
10. **Перепечина И.О.** Вероятностные расчеты в ДНК-дактилоскопии. Методические рекомендации /И.О. Перепечина, С.А. Гришечкин // М., 1996 . – 16 С.

**ОСОБЕННОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ
ПОГИБШИХ В ЗОНЕ АТО**

Войченко В.В., Ивашина О.Х., Полотенко-Повстяна Н.В.

Резюме. В статье изложены актуальные вопросы относительно организации работы судебно-медицинских экспертов иммунологов при осуществлении молекулярной генетической идентификации личности в условиях с массовыми жертвами людей.

Ключевые слова: судебно-медицинская экспертиза, молекулярно-генетическая идентификация, массовая гибель людей.

FEATURES OF MOLECULAR GENETIC IDENTIFICATION OF VICTIMS IN THE ZONE ATO

Voichenko V., Ivashina O., Khamraiev, Polotenko-Povstyana N.

Summary. In forensic practice during the antiterrorist operation in the Donetsk and Lugansk regions growing significance is the identification of the remains of the body in cases of mass casualties. Identification of victims during the military action is difficult. This is due to extensive damage of corpses. In many cases, the body heavily distorted, fragmented as a result of explosive and gunshot injuries, actions ultrahigh temperatures and adverse environmental factors that led to the violation of the integrity and putrefactive changes. Because of this, there is a significant loss of identification not only for visual identification, but also for expert identification other basic methods of forensic investigation. Therefore, the only way to get identification of died persons is the molecular genetic identification, because of its high discriminative power and the possibility of using indirect identification by establishing relationship with the victims blood relatives (parents, children). Dnipropetrovsk regional bureau of forensic medical examination receives a large number of soldiers, most of which is not subject to visual identification. So often the objects of study were bony and cartilaginous tissue. In the department of forensic genetics in recent months there were conducted over 70 examinations for identification of dead soldiers, so more than 130 objects of bony remains were investigated. The largest number of objects has been investigated in the identification of 49 dead soldiers and crew shot down in Lugansk military aircraft IL-76, which included only a few fragments of human bodies.

Dnipropetrovsk regional bureau of forensic medical examination receives a large number of soldiers, most of which is not subject to visual identification. So often the objects of study were bony and cartilaginous tissue. In the department of forensic genetics in recent months there were conducted over 70 examinations for identification of dead soldiers, so more than 130 objects of bony remains were investigated. The largest number of objects has been investigated in the identification of 49 dead soldiers and crew shot down in Lugansk military aircraft IL-76, which included only a few fragments of human bodies.

Results of the research. According to our data, process of genotyping was successful in all cases of the DNA isolation from cartilage. In most cases, DNA isolation from bone ribs and long bones were also successful, although sometimes the process of DNA isolation needed repeat procedures. In a few cases of study of fragments of long bones the genotype was partially installed.

Conclusion. Thus, the results of the research showed that the most suitable material for DNA preparations and establishment of their genotypic characteristics are cartilage tissue of the bony remains, which can recommend as a facility for molecular genetic studies in the examination of putrid - modified corpses and their fragments.

Keywords: forensic medical examination, identification, mass deaths.

До статті А.В.Кісь, В.Д. Мішалова, В.В. Войченка, Ю.М. Кравченка «Оптимізація роботи судово-медичних експертів в умовах масової загибелі людей, пов'язаних з бойовими діями у зоні АТО»



Місце падіння військового транспортного літака ІЛ-76 в зоні АТО 14 червня 2014р.



Загальний вид тіл загиблих, доставлених с зони АТО для проведення судово-медичної експертизи

До статті А.В.Кісь, В.Д. Мішалова, В.В. Войченка, Ю.М. Кравченка «Оптимізація роботи судово-медичних експертів в умовах масової загибелі людей, пов'язаних з бойовими діями у зоні АТО»



Фрагменти тіл загиблих та елементи одягу і взуття доставлених для проведення судово-медичної експертизи



Процес проведення судово-медичної експертизи та відбір зразків для молекулярно-генетичного дослідження

До статті А.В.Кісь, В.Д. Мішалова, В.В. Войченка, Ю.М. Кравченка «Оптимізація роботи судово-медичних експертів в умовах масової загибелі людей, пов'язаних з бойовими діями у зоні АТО»



Біологічні об'єкти (фрагменти ребер, великих трубчатих кісток), які направлялись на молекулярно-генетичне дослідження



Особисті речі загиблих, біологічні сліди на яких досліджувались в прямій молекулярно-генетичній ідентифікації при відсутності кровних родичів

До статті А.В.Кісь, В.Д. Мішалова, В.В. Войченко, Ю.М. Кравченка «Оптимізація роботи судово-медичних експертів в умовах масової загибелі людей, пов'язаних з бойовими діями у зоні АТО»



Молекулярно-генетична лабораторія
Дніпропетровського обласного бюро СМЕ, в якій проводилась ідентифікація загиблих в зоні АТО



Процес виділення ДНК з біологічних об'єктів