

Molekulární genetika a stanovení doby úmrtí

Markéta Šaňková^{1,2}, Michaela Račanská³

¹ Ústav soudního lékařství Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno

² Laboratoř forenzní genetiky, spol. s r. o., Brno

³ Anatomický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno

SOUHRN

Stanovení doby úmrtí, resp. postmortálního intervalu (PMI), je jednou z nejproblematictějších otázek ve forenzní praxi. Přesné určení PMI stále zůstává velmi komplikované i pro zkušené soudní lékaře.

Přesný odhad PMI vyžaduje vyhodnocení takových parametrů, které se mění konstantně od doby úmrtí, nezávisle však na okolních vlivech. Dle současných výzkumů na poli molekulární biologie se zdá, že této definici bude odpovídat *post mortem* degradace nukleových kyselin (a to jak DNA, tak i RNA).

Klíčová slova: postmortální interval (PMI) – tafonomie – molekulární genetika – DNA – RNA – nehet – zub

Molecular genetics and determination of time since death – short communication

SUMMARY

Estimation of time since death, i.e. the post-mortem interval (PMI), is one of the most problematic issues in forensic practice. Accurate determination of the PMI still remains very complicated task even for an experienced forensic pathologist.

Physical changes including *algor*, *livor* and *rigor mortis* can be observed already during the first hours after death of an individual. Unfortunately, the estimation of PMI on the basis of these changes is often burdened with a certain degree of inaccuracy, which is caused by the temperature of surrounding environment, constitution of the body, cause of the death, location of the body, drug abuse etc.

Accurate PMI estimation requires assessment of such parameters, which change constantly from the moment of death, but independently on ambient factors. According to current research in the field of molecular biology, it appears that a post-mortem degradation of nucleic acids (both DNA and RNA) will correspond to this definition.

Keywords: post-mortem interval (PMI) – taphonomy – molecular genetics – DNA – RNA – nail – tooth

Soud Lek 2016; 61(3): 28–29

Povědomí o tom, kdy člověk zemřel, je jednou z nejdůležitějších, ale také jednou z nejproblematictějších otázek ve forenzní praxi. S přesnějším stanovením postmortálního intervalu (PMI) můžeme v dnešní běžné praxi počítat pouze v případech ohledání těla bezprostředně po úmrtí (cca do 12 hodin). Hodnocení posmrtných změn, jako je *algor mortis*, *livor mortis* a *rigor mortis* je však závislé na faktorech okolního prostředí. Tyto tzv. tafonomické procesy ovlivňují rozklad těla jak z krátkodobého, tak z dlouhodobého hlediska. Z dlouhodobého hlediska rozkládající se tkáň mumifikuje, zmýdelňuje, či skeletonizuje. Čím delší doba uplyne od úmrtí, tím hůře se tato doba současnými běžně dostupnými metodami zjišťuje.

S nástupem metod molekulární genetiky do forenzní praxe a s rozvojem nových technologií se zdá, že se tato situace bude měnit k lepšímu. Využití analýzy DNA za účelem personální identifikace dnes sotva někoho překvapí. Nicméně výzkum v oblasti využití nukleových kyselin za účelem určení tkáňové specifity, konkrétních fenotypových znaků (barva očí, vlasů, kůže, výška

postavy, morfologie obličeje, dožitý věk), mechanismu a příčiny smrti či stanovení PMI intervalu je záležitostí teprve posledních několika let.

Pro tyto účely se spíše než DNA využívají různé formy RNA. Využití analýzy RNA v tkáních odebraných po smrti může bránit menší stabilita fosfodiesterové vazby, než je tomu u DNA, a také větší náchylnost k hydrolyze vzhledem k přítomnosti hydroxylových skupin na cukerném zbytku. Přesto nedávné studie prokázaly nečekanou stabilitu určitých typů RNA v post-mortálních tkáních, a to mimo jiné i vzhledem k pomalejší depurinaci (díky silnějším N-glykosidickým vazbám) a větší odolnosti k oxidačním procesům ve srovnání s DNA (1). Dnes je známo několik forem RNA (mRNA, tRNA, rRNA, snRNA, siRNA, miRNA a další), které se odlišují nejen specifickou konfigurací, sekundární strukturou, ale hlavně svojí funkcí a rychlostí degradace. Obzvláště rychlost degradace jak RNA, tak i DNA je nezbytná pro odhad PMI, neboť je ovlivněna faktory vnějšího prostředí a typem tkáně, ze které je příslušná nukleová kyselina extrahována.

Analýza nukleových kyselin z měkkých tkání, jako je např. mozek, srdce, kosterní sval, játra, ledviny, ale také sklivec, se hodí spíše pro odhad kratšího PMI, neboť rychlost jejich dekompozice příliš podléhá vnějším podmínkám. V těchto případech se v hlavní míře uplatňuje analýza exprese specifických miRNA, která je ovlivněna mimo jiné cirkadiálními rytmy (2). Daleko výhodnější jsou tvrdé tkáně, u nichž je degradace nukleových kyselin ovlivněna podmínkami vnějšího prostředí jen velmi málo nebo vůbec, a proto by jejich degradace měla korelovat pouze

✉ Adresa pro korespondenci:

RNDr. Markéta Šaňková, Ph.D.

Laboratoř forenzní genetiky, spol. s r. o.

Tvrdeho 2a, 602 00 Brno

tel.: 543185811

e-mail: marketa.sankova@lfg-brno.cz

s PMI. Mezi tvrdými tkáněmi má své místo nehet, dále kost (za nejvhodnější je momentálně považováno žebro) a samozřejmě zub. Problémom však zůstáva izolace nukleových kyselin, ať už vzhľadom k použité technologii extrakce či k jejich množství a kvalitě v jednotlivých strukturách. Např. jiné množství DNA se nachází v zubním cementu než v zubovíně, případně v zubní dřevě (3). Podobné diskrepance se dají očekávat rovněž u různých typů RNA.

Podaří-li se překonat všechna výše uvedená úskalí (a nové poznatky spolu s novými technologiemi tomu nasvědčují), případně negativa molekulárně genetických metod, mezi něž patří především vyšší finanční náklady, budou jistě převáženy získaným pozitivem v podobě přesnějšího stanovení PMI v rozmezí měsíců až let.

LITERATURA

1. **Hansen AJ, et al.** Crosslinks rather than strand breaks determine access to ancient DNA sequences from frozen sediments. *Genetics* 2006; 173(2): 1175-1179.
2. **Odriozola A, et al.** MiRNA analysis in vitreous humor to determine the time of death: a proof-of-concept pilot study. *Int J Legal Med* 2013; 127: 573-578.
3. **Higgins D, et al.** Differential nuclear and mitochondrial DNA preservation in post-mortem teeth with implications for forensic and ancient DNA studies. *PLoS ONE* 2015; 10(5): 1-17.

OSOBNÍ SDĚLENÍ

Životné jubileum prvej dámy slovenského súdneho lekárstva



V roku 2016 sa dožila významného životného jubilea prvá dáma slovenského súdneho lekárstva doc. MUDr. Jirina Bauerová, CSc. Pri takejto príležitosti býva zvykom poohliadnuť sa za kariérou a životom jubilanta.

Doc. MUDr. Jirina Bauerová, CSc. sa po ukončení štúdia na Lekárskej fakulte Univerzity Komenského v Bratislave v roku 1971 špecializovala v náročnom (obzvlášť pre ženu) medicínskom odbore – súdnom lekárstve. Do roku 1991 pracovala na Ústave súdneho lekárstva Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Fakultnej nemocnici v Bratislave, následne na Oddelení resp. Ústave (od roku 1995) súdneho lekárstva Fakultnej nemocnice s poliklinikou akademika Ladislava Dérera a Inštitútu pre ďalšie vzdelávanie pracovníkov v zdravotníctve, neskôr Slovenskej postgraduálnej akadémie medicíny a následne Slovenskej zdravotníckej univerzity v Bratislave, kde bola v rokoch 1993 - 2004 vedúcou lekárkou a zároveň vedúcou Subkatedry neskôr Katedry a Ústavu súdneho lekárstva (do roku 2011). V roku 2005 sa pracovisko stalo súčasťou Úradu pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou, kde pracovala do roku 2013.

V roku 1985 jej bol udelený titul CSc. a v roku 1994 bola na Palackého Univerzite v Olomouci menovaná docentkou pre odbor súdne lekárstvo. Vo svojej vedecko-výskumnej činnosti sa zamerala na oblasť forenznej toxikológie, najmä na zisťovanie ovplyvnenia účastníkov cestnej premávky liečivami, interakcie alkoholu a xenobiotík so špeciálnym zameraním na analgetiká, na zisťovanie vplyvu liečiv na psychiku vodiča, na vývoj letálnych otráv a možností ich prevencie. Bola riešiteľkou a spoluriešiteľkou 5 výskumných úloh. Výsledky svojej práce publikovala ako autorka a spoluautorka v mnohých zahraničných a domácich časopisoch a prezentovala na viac ako 100 zahraničných a domácich vedeckých a odborných podujatiach. V roku 1985 jej bola udelená Cena za najlepšiu publikáciu Slovenskej súdnolekárskej spoločnosti SLS.

Okrem účasti na všetkých formách pregraduálnej výučby významné miesto v profesionálnej kariére jubilantky zaujala postgraduálna pedagogická činnosť. Počas jej pôsobenia v postgraduálnom vzdelávaní získala špecializáciu v súdnom lekárstve takmer polovica súčasných slovenských súdnych lekárov a toxikológov. Od roku 2012 doteraz v rámci akreditácie MZ je garantom špecializačného študijného programu v odbore súdne lekárstvo na Ústave súdneho lekárstva Slovenskej zdravotníckej univerzity v Bratislave.

Od roku 1984 do roku 2012 bola stálou súdnou znalkyňou v odvetví súdne lekárstvo, vypracovala stovky znaleckých posudkov pre orgány činné v trestnom konaní.

Vo výbore Slovenskej súdnolekárskej spoločnosti Slovenskej lekárskej spoločnosti bola v rokoch 1990 až 1998 vo funkcii vedeckej sekretárky a neskôr predsedníčky. Za dlhoročnú prácu v odbore a za prínos pre rozvoj súdneho lekárstva na Slovensku jej boli udelené viaceré medaily a ocenenia. V roku 2006 bola menovaná Čestnou členkou SSLS SLS a v roku 2011 bola ocenená striebornou a v roku 2016 zlatou medailou Slovenskej lekárskej spoločnosti.

Potešiteľné je konštatovanie, že jubilantka je spolu so svojím manželom Mirkom naďalej publikačne aktívna a nezištne odovzdáva svoje bohaté skúsenosti mladším kolegom, za čo sme jej všetci zo srdca vďační.

Vážená pani docentka, milá Jirka, ďakujeme Ti v mene slovenskej obce súdnych lekárov a toxikológov za všetko, čo si vykonala pre slovenské súdne lekárstvo a súdnolekársku toxikológiu a najmä za Tvoj prínos pre postgraduálnu aj pregraduálnu výučbu v odbore. Prajeme Ti aj naďalej pevné zdravie a veľa ďalších spokojných rokov v kruhu svojich blízkych a priateľov.

„Ad multos annos!“

doc. MUDr. Jozef Šidlo, CSc., MPH ÚSL LF UK, Bratislava