

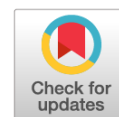
<https://doi.org/10.17816/fm379>



О ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИДЕНТИФИКАЦИОННОГО АНАЛИЗА ДЛЯ НЕОПОЗНАННЫХ ОСТАНКОВ ТЕЛ, ЗАХОРОНЕННЫХ В ПЕРИОД ВЕЛИКОЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВОЙНЫ

Е.Ю. Земскова*, П.Л. Иванов

Российский центр судебно-медицинской экспертизы, Москва, Российская Федерация



АННОТАЦИЯ. Актуальность. Молекулярно-генетические исследования применяются в судебно-экспертной работе для идентификации останков жертв природных и техногенных катастроф, чрезвычайных ситуаций, а также военных конфликтов. **Цель исследования** — изучить и обобщить материалы судебно-медицинских молекулярно-генетических экспертиз, проведенных в ФГБУ РЦСМЭ Минздрава России в рамках идентификации жертв Великой Отечественной войны (ВОВ) на территории Российской Федерации, с целью оценить перспективы и возможности применения молекулярно-генетического идентификационного анализа для неопознанных останков тел, захороненных в период 1939–1945 гг. **Материал и методы.** Изучено 30 экспертных заключений с 2006 по 2021 г. От 171 скелетированного тела из эксгумированных захоронений общее число исследованных объектов составило 421 (костные останки: фрагменты костей и зубы, от 1 до 5 объектов от одного тела). **Результаты.** Установлены генотипы останков 167 человек. Доказательное решение молекулярно-генетической идентификации составляет 98% от общего числа случаев ($n=171$), из них положительная идентификация — для 10 человек; отрицательная идентификация — для 157. Не пригодными для исследования оказались останки 4 скелетированных тел (2% от общего числа). В большинстве случаев применялись схемы непрямой идентификации — сравнительное исследование идентифицируемых с заявленными родственниками путем биостатистического анализа, основанного на вероятностно-статистическом анализе характера совпадения аллельных состояний полиморфных локусов аутосомной ДНК, а также путем прямого сравнительного анализа полиморфизма ДНК Y-хромосомы и митохондриальной ДНК. **Заключение.** Молекулярно-генетические исследования являются высокоэффективным инструментом для идентификации останков жертв природных и техногенных катастроф, военных конфликтов и иных чрезвычайных ситуаций. Результаты многочисленных успешно выполненных судебно-медицинских молекулярно-генетических экспертных исследований, проведенных в ФГБУ РЦСМЭ Минздрава России в рамках идентификации жертв ВОВ, наглядно демонстрируют эти возможности. В то же время надо подчеркнуть, что такой тип экспертизы относится к категории особо сложных молекулярно-генетических исследований и в зависимости от обстоятельств требует использования расширенных панелей аналитических тест-систем, а также применения особых методических приемов и аппаратно-программных средств.

Ключевые слова: судебно-медицинская идентификация человеческих останков; чрезвычайная ситуация; ДНК-исследования; молекулярно-генетическая верификация родственных отношений.

Для цитирования: Земскова Е. Ю., Иванов П. Л. О возможности применения молекулярно-генетического идентификационного анализа для неопознанных останков тел, захороненных в период Великой Отечественной войны. *Судебная медицина*. 2021;7(2):77–82. DOI: <https://doi.org/10.17816/fm379>

Поступила 04.03.2021

Принята после доработки 14.04.2021

Опубликована 15.06.2021

THE POSSIBILITY OF MOLECULAR GENETIC IDENTITY TESTING OF AN UNIDENTIFIED BODY FROM THE SECOND WORLD WAR

Elena Yu. Zemskova*, Pavel L. Ivanov

Russian Centre of Forensic Medical Expertise, Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT. Background: In the current forensic scenario, molecular genetic analyzes are used to identify the remains of victims of natural and man-made disasters, emergencies, and war conflicts. **Aim:** This study aimed to summarize forensic molecular genetic examinations conducted at the RCFME for identifying the victims of the Second World War in the Russian Federation. This was conducted to assess the prospects of using DNA identification analysis for unidentified remains of

bodies buried in 1939–1945. **Material and methods:** We studied 30 expert reports from 2007 to 2021 of 171 skeletal bodies from exhumed graves. The total number of objects studied was 421 (bone fragments and teeth, from 1 to 5 objects from 1 body). **Results:** Using the remains, genotypes of 167 people were established. The success rate of evidence-based molecular genetic identification was 98% (171 cases). Of these, positive identification was noted for 10 body remains and negative identification for 157 remains. Four skeletal bodies (2%) were deemed unsuitable for research. In most cases, indirect identification schemes were used — a comparative study with putative relatives by biostatistical analysis of allelic variants of polymorphic loci of autosomal DNA as well as by direct comparative analysis of the polymorphism at the Y-chromosome DNA and mitochondrial DNA. **Conclusions:** Molecular genetic studies are highly effective for identifying the remains of victims of natural and man-made disasters, military conflicts, and other emergencies. The success of molecular genetic studies regarding the identification of victims of the Second World War conducted at the RCFME clearly demonstrate these possibilities. Simultaneously, it should be emphasized that this type of expertise falls to the category of rather complex molecular genetic studies, which requires the use of expanded panels of analytical test systems as well as the use of special methodological techniques and hardware and software.

Keywords: forensic identification of human remains; DVI; DNA analysis; DNA kinship analysis.

For citation: Zemskova EYu, Ivanov PL. The possibility of molecular genetic identity testing of an unidentified body from the Second World War. *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2021;7(2):77–82. DOI: <https://doi.org/10.17816/fm379>

Submitted 04.03.2021

Revised 14.04.2021

Published 15.06.2021

АКТУАЛЬНОСТЬ

Молекулярно-генетические технологии, применяемые с целью индивидуализации биологических объектов, стали ключевым подходом в судебно-медицинской экспертной практике идентификации человеческих останков. Эффективность данного подхода значительно возросла за последние 25 лет благодаря внедрению методов генотипирования ядерной ДНК (полиморфных STR-локусов — коротких tandemных повторов) и митохондриальной ДНК. Фактически данные методы стали признанными международными стандартами в области идентификации человеческих останков [1].

С момента создания молекулярно-генетического отдела в ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России (РЦСМЭ) за более чем 30-летний период в рамках расследования уголовных дел, связанных с террористическими актами и чрезвычайным ситуациям с многочисленными человеческими жертвами, выполнено более 900 молекулярно-генетических экспертиз для идентификации тел погибших более чем в 20 чрезвычайных ситуациях, в том числе произошедших за пределами Российской Федерации [2, 3].

Кроме того, за последние годы в мировой практике и практике РЦСМЭ накоплен определенный опыт молекулярно-генетических исследований для идентификации человеческих останков времен Второй мировой войны [4, 5], Великой Отечественной войны (ВОВ), Первой советско-финской войны, а также боевых операций в Северо-Кавказском регионе в 1994–1996 гг. [6].

Для проведения молекулярно-генетических исследований эксгумированных останков из старых захоронений в РЦСМЭ поступают запросы от поисковых и общественных организаций, государственных структур и средств массовой информации. По результатам изучения документов в военных архивах организуются полевые экспедиции на места боев. В экспедиции при-

нимают участие поисковые отряды и родственники погибших, которые пытаются установить точное место гибели военнослужащих. При проведении раскопок и эксгумации скелетированных останков обнаруживается перемешивание скелетов, что объясняется частым захоронением погибших бойцов в одной братской могиле, поэтому возможность на месте правильно разделить останки на тела является большой проблемой. Основной задачей экспертов-генетиков на этапе эксгумации и регистрации становится консультационная работа с поисковиками по изъятию наиболее пригодных и сохранившихся для анализа объектов (зубы и большие трубчатые кости) с соблюдением мер по предотвращению контаминаций, а также их правильная упаковка с целью соблюдения условий хранения и транспортировки. После предоставления биологических объектов в лабораторию следует этап молекулярно-генетического идентификационного исследования. По завершении ДНК-исследования результаты оформляются в виде заключения специалиста, направляются организаторам и являются основанием для проведения заключительных мероприятий по захоронению останков.

Цель исследования — изучение и обобщение материалов судебно-медицинских молекулярно-генетических экспертиз, проведенных в РЦСМЭ в рамках идентификации жертв ВОВ на территории Российской Федерации, для оценки перспектив и возможностей применения молекулярно-генетического идентификационного анализа для неопознанных останков тел, захороненных в 1939–1945 гг.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Выполнено обзорное исследование заключений судебно-медицинских молекулярно-генетических экспертиз и экспертных исследований, проведенных в РЦСМЭ, в которых осуществлялась идентификация жертв ВОВ, обнаруженных на территории Российской Федерации.

Выборку составили судебно-медицинские экспертизы, проведенные за 15-летний период (с 2006 по 2021 г.) — в общей сложности 30 заключений. Изучены материалы и обстоятельства дела; систематизированы количество объектов и их характер, применяемые аналитические методы и результаты молекулярно-генетической идентификации.

Во всех экспертизах объектом являлись эксгумированные скелетированные останки, которые представлены в фрагментарном виде — костные фрагменты и зубы. Референтные образцы — это биологические образцы от живых лиц (кровь, буккальный эпителий).

Стандартная технологическая процедура молекулярно-генетического идентификационного исследования — сложный многостадийный процесс, включающий в себя несколько этапов (рис.).

В зависимости от этапов молекулярно-генетического исследования применяли разные материалы и методы:

- 1) на этапе пробоподготовки это были осмотр и фотографирование объектов, очистка, измельчение костной ткани — получение костного порошка с использованием напильника или гомогенизатора TissueLyser II (QIAGEN, Германия);
- 2) выделение ДНК из костных фрагментов и образцов сравнения проводили с помощью наборов специализированных реагентов для костной ткани и роботизированных станций, выпускаемых производителями Applied Biosystems (США), Promega Corporation (США) и QIAGEN (Германия);

- 3) для анализа матричной активности ДНК в полученных препаратах использовали системы количественной ПЦР-амплификации ДНК серии Quantifiler® DNA Quantification Kit (Applied Biosystems, США), PowerQuant™ System (Promega, США) на специализированных амплификаторах QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System, ABI PRISM 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems, США);
- 4) генотипирование полиморфных STR-локусов хромосомной ДНК и локусов ГВС1 и ГВС2 митохондриальной ДНК проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием энзиматической амплификации мультилокусных панелей производителей Promega Corporation (США), Applied Biosystems (США), QIAGEN (Германия), в том числе для деградированной ДНК (во всех случаях) с использованием специализированных амплификаторов Applied Biosystems (США);
- 5) электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили на генетических анализаторах 3130, 3130XL, 3500 Applied Biosystems (США);
- 6) для анализа генетических данных применяли программное обеспечение GeneMapper v1.4, 1.6. (Applied Biosystems (США)).

Для вероятностно-статистических расчетов значимости совпадения установленных генотипических признаков идентифицируемых объектов с образцами родственников (аутосомная ДНК, Y-ДНК и митохон-

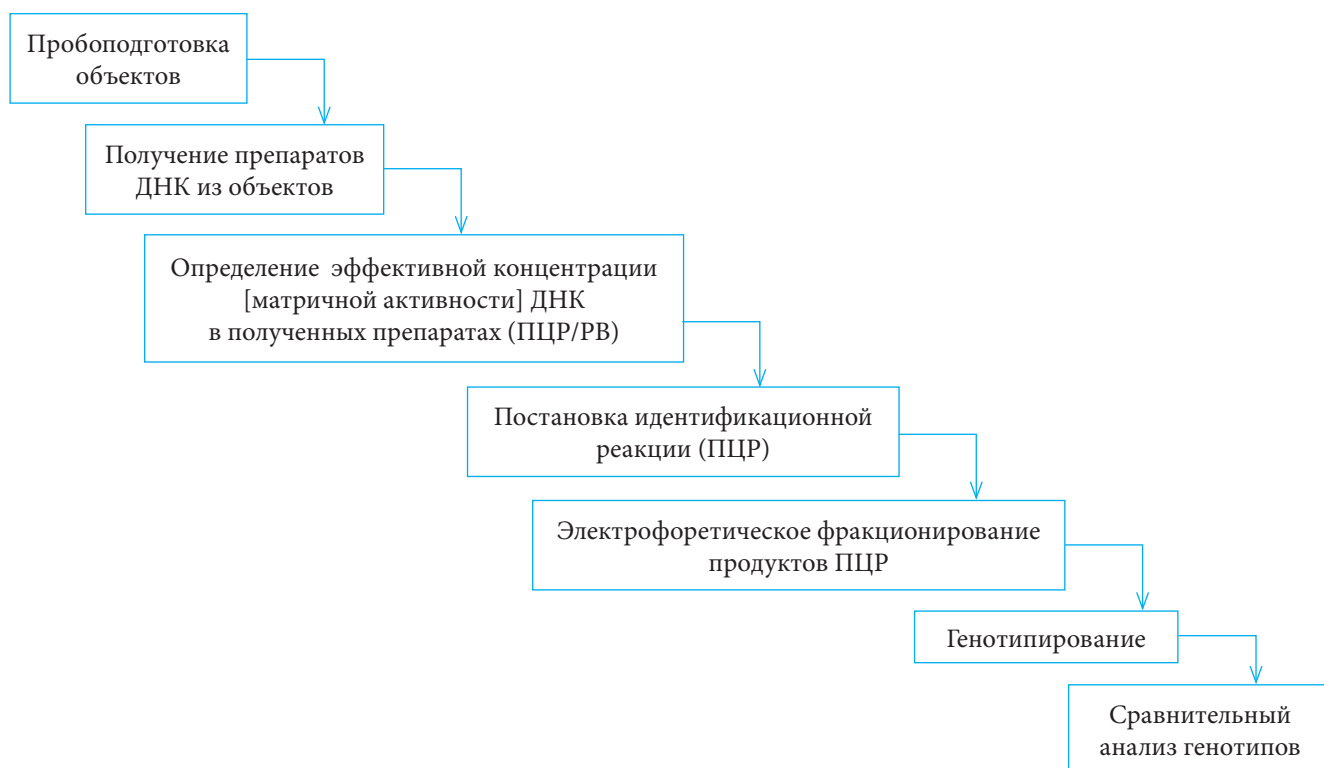


Рис. Стандартный технологический процесс молекулярно-генетического идентификационного исследования. ПЦР/РВ — полимеразная цепная реакция в режиме реального времени.

Fig. Standard workflow for molecular genetic identification study. ПЦР/РВ — real-time polymerase chain reaction.

риальная ДНК) использовали следующие параметрические значения из нижеуказанных источников:

- консервативные значения аллельных частот локусов, определенные в РЦСМЭ для выборки населения Российской Федерации с применением консервативной поправки, рекомендованной NRC II (США, 1996);
- консервативные значения аллельных частот исследованных STR-локусов аутосомной ДНК для населения Европы (литературные данные);
- значение частоты митотипа по международной базе данных EMPOP (Institute of Legal Medicine, Innsbruck Medical University, Инсбрук, Австрия);
- значение частоты гаплотипа Y-хромосомы по международной базе данных YHRD (Institute of Legal Medicine and Forensic Sciences, Берлин, Германия).

Для анализа генетических данных в случае решения нестандартных случаев верификации родственных связей (бабушки-внуки, тети-племянники, двоюродные братья-сестры и пр.) применяли специализированное программное обеспечение GenoProof® v. 1.3 (Qualitype, Германия), DNA-VIEW (C. Brenner, США), Converge™ (Applied Biosystems, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сводные данные по количеству исследованных объектов и результатам идентификации представлены в табл.

Успешность генотипирования составила 98%, из них положительная идентификация установлена для 10 (6%) человек, отрицательная — для 157 (94%). Непригодными для исследования были останки 4 скелетированных тел (2% от общего числа).

В 30% (9 из 30) случаев применяли схемы непрямой идентификации — сравнительное исследование идентифицируемых с заявленными родственниками путем биостатистического анализа, основанного на вероятностно-статистическом анализе характера совпадения аллельных состояний полиморфных локусов аутосомной

ДНК, а также путем прямого сравнительного анализа полиморфизма ДНК Y-хромосомы и митохондриальной ДНК. Доказательность положительной идентификации находилась в вероятностном диапазоне 99,50–99,99999%.

Для полученных генотипических характеристик в обязательном порядке проводили контрольное сравнение с генотипами лиц, принимавших участие в манипуляциях с объектами экспертизы в ходе выполнения экспертных действий (экспертный и лаборантский персонал, медрегистраторы и др.), для исключения возможности ошибок, обусловленных контаминационными артефактами. Таких ошибок не выявлено. Для выполнения описанного сравнительного анализа использовали контрольный массив генетических данных (генотипических характеристик) сотрудников РЦСМЭ, сформированный для целей верификации результатов экспертных исследований, выполняемых в рамках производства молекулярно-генетических экспертиз.

ОБСУЖДЕНИЕ

Экстумированные останки из старых захоронений представляются на исследование в скелетированном фрагментарном виде — это костные фрагменты и зубы. Данный вид объектов, как наименее подверженных деструктивным изменениям, позволяет надеяться на возможность сохранения и экстрагирования ДНК в деградированных образцах. В то же время воздействие негативных факторов (время, физико-химическое состояние почвы в захоронениях, микробная среда, ингибирующие примеси) ограничивает исследование и вынуждает искать и применять современные и оптимизированные методы для исследования ДНК из костных объектов.

Другой аспект идентификации касается применения молекулярно-генетического сравнительного анализа среди родственников погибших. В связи с отсутствием референтных образцов от самих погибших, а часто

Таблица. Результаты идентификации костных останков из захоронений жертв Великой Отечественной войны

Table. Identification of bone remains from the graves of victims of the Great Patriotic War

№ п/п	Год исследования	Число объектов	Число тел	Доказательность идентификации, число тел			Непригодность останков
				Положительных	Отрицательных	Всего	
1	2007	12	5	4	1	5	0
2	2008	2	1	0	0	0	1
3	2013	3	3	0	3	3	0
4	2015	65	7	2	5	7	0
5	2016	10	3	0	2	2	1
6	2017	4	3	2	1	3	0
7	2018	7	3	1	2	3	0
8	2019	46	4	1	2	3	1
9	2020	198	105	0	104	104	1
10	2021	74	37	0	37	37	0
Итого		421	171	10	157	167	4

и прямых родственников уровня родитель–ребенок молекулярно-генетические экспертизы, по сути, становятся экспертизой непрямого родства: необходимо установить происхождение останков опосредованно, т. е. путем установления родства между предполагаемыми дальними родственниками, например, такими как внуки, племянники и др. Для решения этого вопроса на начальном этапе работы проводят структурный анализ заявленных родственных связей лиц, привлеченных к участию в экспертизе, и оценку их аналитической приемлемости для целей молекулярно-генетической верификации родства. Выполненная формализация заявленных родственных отношений между всеми обследуемыми лицами и аналитическая реконструкция заявленной родословной позволяет определить возможные способы молекулярно-генетической верификации частных версий предполагаемых родственных отношений и уже затем — общий поэтапный алгоритм всего исследования.

В большинстве случаев установить родственные отношения заявленных родственников возможно путем биостатистического анализа, основанного на вероятностно-статистическом анализе характера совпадения аллельных состояний полиморфных локусов аутосомной ДНК, а также путем прямого сравнительного анализа полиморфизма ДНК Y-хромосомы и митохондриальной ДНК.

Подобные молекулярно-генетические экспертизы, по сути, являются экспертизами отдаленного родства. В подобных случаях можно говорить о принципиальной возможности выполнения экспертного исследования, но его реальный результат прогнозировать трудно. Большое значение имеет то, какая именно степень родства проверяется, и какие именно генотипические признаки будут установлены в исследуемых объектах (они могут быть относительно распространенными, а могут быть редкими). В случае дальнего родства и наличия часто встречающихся признаков существует объективная перспектива того, что доказательственное значение результатов исследования может оказаться относительно невысоким, т. е. недостаточным для формулирования обоснованного экспертного вывода. Предсказать же заранее подобные ситуации невозможно, поскольку выяснить генотипические характеристики лиц, в отношении которых проводится экспертиза, и их перспективность для анализа можно только в ходе непосредственного выполнения экспертного исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Молекулярно-генетические исследования являются высокоэффективным инструментом для идентификации останков жертв природных и техногенных катастроф, военных конфликтов и иных чрезвычайных ситуаций. Результаты многочисленных успешно выполненных судебно-медицинских молекулярно-генетических экспертных исследований, проведенных в РЦСМЭ в рамках идентификации жертв ВОВ, наглядно демонстрируют эти возможности.

В то же время надо подчеркнуть, что экспертная идентификация останков жертв давних военных конфликтов сопряжена с большими потенциальными трудностями. В связи с отсутствием референтных образцов от самих погибших, прямых родственников на уровне родитель–ребенок, а также по причине давности событий подобные экспертизы, по сути, становятся экспертизами непрямого родства: необходимо идентифицировать останки опосредованно — путем установления родства между предполагаемыми дальними родственниками, например, такими как внуки, племянники и др. При наличии таких родственников-референтов полученные генотипические характеристики аутосомной ДНК, ДНК Y-хромосомы и митохондриальной ДНК неустановленных тел в принципе могут быть использованы для выполнения экспертного идентификационного исследования, направленного на их идентификацию и установление личности.

Однако такой тип экспертиз относится к категории особо сложных молекулярно-генетических исследований и в зависимости от обстоятельств требует применения особых методических приемов и аппаратных средств, а также использования расширенных панелей аналитических тест-систем. Кроме того, в настоящее время отсутствуют утвержденные единые методики исполнения подобных экспертиз. Эти обстоятельства необходимо учитывать. Молекулярно-генетические исследования по идентификации человеческих останков из старых захоронений должны проводиться в лабораториях, оснащенных высокотехнологичным оборудованием, программными средствами, позволяющими обеспечить доказательность анализа отдаленного родства, персоналом нужной компетенции и квалификации и прочими необходимыми условиями.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов • Author contribution

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования • Funding source

Исследование и публикация статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

The study had no sponsorship.

Конфликт интересов • Competing interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gill P, Ivanov P, Kimpton C, et al. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis // *Nature Genetics*. 1994. Vol. 6, N 2. P. 130–135. doi: 10.1038/ng0294-130
2. Земскова Е.Ю., Тимошенко Т.В., Иванов П.Л. Молекулярно-генетическая экспертиза при расследовании обстоятельств гибели людей, летевших на авиалайнере AIRBUS 321 EI-ETJ (Шарм-Эль-Шейх–Санкт-Петербург) // *Судебная медицина*. 2016. Т. 2, № 2. С. 152–154.
3. Земскова Е.Ю., Тимошенко Т.В., Иванов П.Л. Молекулярно-генетическая идентификация останков жертв авиакатастрофы Airbus 321 «Метроджет» над Синайским полуостровом / Труды Всероссийской научно-практической конференции «Организация судебно-медицинской службы России на современном этапе: задачи, пути решения, результаты», Воронеж, 20–22 апреля 2016 г. / под общей ред. А.В. Ковалева. Воронеж, 2016. С. 284–289.
4. Palo J.U., Hedman M., Soderholm N., Sajantila A. Repatriation and identification of Finnish World War II soldiers // *Croatian Medical Journal*. 2007. N 48. P. 528–535.
5. Dzijan S., Primorac D., Marcikic M., et al. High estimated likelihood ratio might be insufficient in a DNA-lead process of identification of war victims // *Croatia Chemica Acta*. 2005. N 78. P. 393–396.
6. Корниенко И.В., Якушев В.В., Фролова С.А. и др. Некоторые результаты использования молекулярно-генетических маркеров хромосомной ДНК для идентификации неопознанных останков военнослужащих, погибших в ходе боевых действий на Северном Кавказе // *Судебно-медицинская экспертиза*. 2003. Т. 46, № 5. С. 36–41.

REFERENCES

1. Gill P, Ivanov P, Kimpton C, et al. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nature Genetics*. 1994;6(2):130–135. doi: 10.1038/ng0294-130
2. Zemskova EYu, Timoshenko TV, Ivanov PL. Molecular-genetic expertise in the investigation of the circumstances of the death of people flying on the AIRBUS 321 EI-ETJ airliner (Sharm El-Sheikh–St. Petersburg). *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2016;2(2):152–154. (In Russ).
3. Zemskova EYu, Timoshenko TV, Ivanov PL. Molecular-genetic identification of the remains of the victims of the Airbus 321 "Metrojet" air crash over the Sinai Peninsula. Proceedings of the All-Russian scientific and practical conference "Organization of the forensic Medical Service of Russia at the present stage: tasks, solutions, results", Voronezh, April 20–22, 2016, ed. by A.V. Kovalev. Voronezh; 2016. P. 284–289. (In Russ).
4. Palo JU, Hedman M, Soderholm N, Sajantila A. Repatriation and identification of Finnish World War II soldiers. *Croatian Medical Journal*. 2007;48:528–535.
5. Dzijan S, Primorac D, Marcikic M, et al. High estimated likelihood ratio might be insufficient in a DNA-lead process of identification of war victims. *Croatia Chemica Acta*. 2005;78:393–396.
6. Kornienko IV, Yakushev VV, Frolova SA, et al. Some results of the use of molecular-genetic markers of chromosomal DNA for the identification of unidentified remains of military personnel who died during military operations in the North Caucasus. *Forensic Medical Examination*. 2003;46(5):36–41. (In Russ).

ОБ АВТОРАХ

* **Земскова Елена Юрьевна**, к.м.н.; адрес: Российская Федерация, 125284, Москва, ул. Поликарпова, д. 12/13; e-mail: zemskova@rc-sme.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2669-0877>
Иванов Павел Леонидович, д.б.н., профессор; e-mail: dna@rc-sme.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4753-3125>

AUTHORS INFO

Elena Yu. Zemskova, MD, Cand. Sci. (Med.); address: 12/13, Polikarpova str., Moscow, 125284, Russia; e-mail: zemskova@rc-sme.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2669-0877>
Pavel L. Ivanov, Dr. Sci. (Biol.), Professor of Molecular Biology; e-mail: dna@rc-sme.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4753-3125>