



<https://doi.org/10.17816/fm412>

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОРНК С ЦЕЛЬЮ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ: ОБЗОР

А.А. Халиков¹, Е.М. Кильдюшов², К.О. Кузнецов¹, Л.Р. Искужина¹, Г.Р. Рахматуллина³

¹ Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Российская Федерация

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

³ Приволжско-Уральское бюро судебно-медицинской экспертизы, Уфа, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ. Оценка давности наступления смерти до сих пор является одним из самых сложных вопросов в судебно-медицинской практике. Цель обзора — оценка потенциала использования микроРНК в диагностике давности наступления смерти. МикроРНК — это небольшие некодирующие РНК, которые имеют длину от 18 до 24 нуклеотидов и хорошо сохраняются в эукариотических клетках. Их роль заключается в регулировании экспрессии генов в биологических процессах во время посттранскрипционной фазы. МикроРНК уже доказала свою эффективность в клинической медицине для диагностики различных заболеваний, а также открылась возможность её применения в судебной медицине в качестве маркера для оценки давности наступления смерти благодаря низкой молекулярной массе, тканеспецифической экспрессии и высокой устойчивости к факторам внешней и внутренней среды. В результате анализа научной литературы было выявлено, что внутренние характеристики молекул микроРНК и их высокая устойчивость к деградации делают их пригодными в качестве биомаркеров для оценки давности наступления смерти, особенно в позднем постмортальном периоде, однако необходимо проведение дальнейших масштабных исследований на трупном материале.

Ключевые слова: давность наступления смерти; микроРНК; судебная медицина.

Для цитирования: Халиков А.А., Кильдюшов Е.М., Кузнецов К.О., Искужина Л.Р., Рахматуллина Г.Р. Использование микроРНК с целью определения давности наступления смерти: обзор. *Судебная медицина*. 2021;7(3): 132–138. DOI: <https://doi.org/10.17816/fm412>

Поступила 02.07.2021

Принята после доработки 13.08.2021

Опубликована 10.09.2021

USE OF MICRORNA TO ESTIMATE TIME SCIENCE DEATH: REVIEW

Airat A. Halikov¹, Evgeniy M. Kildyushov², Kirill O. Kuznetsov¹, Laysan R. Iskuzhina¹, Gulnaz R. Rahmatullina³

¹ Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation

² N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

³ Volga-Ural Bureau of Forensic Medicine, Ufa, Russian Federation

ABSTRACT. Death prescription evaluation is still one of the most difficult issues in forensic medical practice. This review aimed to assess the potential use of micro ribonucleic acid (miRNA) in death prescription diagnosis. MiRNAs are small non-coding RNAs that are 18–24 nucleotides long and are well preserved in the eukaryotic cells. Their role is to regulate gene expression in biological processes during the post-transcriptional phase. MiRNA was proven to be effective in clinical medicine for various disease diagnoses, with its possible use in forensic medicine as a marker for death prescription assessment due to its low molecular weight, tissue-specific expression, and high resistance to external and internal environmental factors. The analysis results of scientific literature revealed that the internal characteristics of miRNA molecules and their high resistance to degradation make them suitable as biomarkers for the duration of death assessment, especially in the late postmortem period; however, further large-scale studies on cadaveric material are necessary.

Keywords: time science death; miRNA; forensic medicine.

For citation: Halikov AA, Kildyushov EM, Kuznetsov KO, Iskuzhina LR, Rahmatullina GR. Use of microRNA to estimate time science death: review. *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2021;7(3):132–138. DOI: <https://doi.org/10.17816/fm412>

Submitted 02.07.2021

Revised 13.08.2021

Published 10.09.2021

ВВЕДЕНИЕ

Оценка давности наступления смерти (ДНС) является одним из основных вопросов теории и практики судебно-медицинского эксперта. На сегодняшний день используют огромное количество методов оценки ДНС как в раннем [1, 2], так и позднем посмертном периоде [3]. Каждый из предложенных методов имеет свои неоспоримые преимущества, тем не менее остаётся множество пробелов, связанных чаще с факторами эндогенного и экзогенного характера, что делает необходимым постоянное усовершенствование знаний по данной тематике с целью достижения максимальной точности в оценке ДНС при различных условиях внешней и внутренней среды.

В ряде работ последних лет путём количественного анализа выявлена зависимость скорости деградации биологических макромолекул (ДНК и РНК) от увеличения срока ДНС [4–6]. Считается, что РНК более, чем ДНК, предрасположена к посмертной деградации из-за повсеместного присутствия человеческих и бактериальных рибонуклеаз [7], поэтому исследование РНК можно рассматривать в качестве инструмента для определения ДНС.

МикроРНК — это небольшие некодирующие РНК, которые имеют длину от 18 до 24 нуклеотидов и хорошо сохраняются в эукариотических клетках. Их роль заключается в регулировании экспрессии генов в биологических процессах во время посттранскрипционной фазы. МикроРНК связывают комплементарные последовательности мишеней матричной РНК (мРНК) и подавляют их за счёт деградации посредством расщепления мРНК или ингибирования синтеза белка [8].

Огромный интерес к изучению микроРНК в клинической медицине возник после публикации исследований, доказавших их тканеспецифичность [9–12], а также роль во многих патологических процессах, что позволило использовать микроРНК в качестве маркера таких патологий, как сахарный диабет [13], онкология [14], заболевания сердечно-сосудистой системы [15], травмы и заболевания спинного мозга [16]. В судебной медицине исследование микроРНК впервые провели Е. К. Hanson и соавт. [17] с целью идентификации биологических жидкостей, в другой работе показана эффективность этой одноцепочечной молекулы в определении давности повреждения [18].

А. Odriozola и соавт. [19] проанализировали микроРНК в стекловидном теле, и полученные результаты подтвердили возможность их использования с целью оценки ДНС благодаря их низкой молекулярной массе и тканеспецифичности. Принципиальное отличие микроРНК от других макромолекул заключается в том, что они обладают высокой стабильностью даже при экстремальных условиях температуры, рН, а также устойчивы к различным химическим агентам [20], что позволяет оценивать ДНС с максимальной точностью, исключая влияние экзогенных и эндогенных факторов.

Настоящий обзор литературы выполнен с целью критической оценки собранного материала. Произведён электронный поиск публикаций в базах данных

PubMed и Science Direct Scopus. Условиями поиска было наличие слов «post-mortem interval AND microRNA» и «microRNA AND time of death» в заголовках, аннотациях и ключевых словах. Методологическую оценку исследований проводили в соответствии со стандартами PRISMA, включая оценку систематической ошибки. Авторы независимо друг от друга проанализировали те статьи, названия и аннотации которых были релевантны условиям поиска. Разногласия между авторами относительно приемлемости разрешали путём консенсуса. В поиск включали статьи и аннотации только на английском языке. В обзор включены исследования, опубликованные за последние 16 лет. Анализу подвергали полные тексты статей и их аннотации.

РНК КАК ИНСТРУМЕНТ ОЦЕНКИ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ

Стремительное развитие молекулярной биологии позволило учёным в области судебной медицины подробно изучить скорость деградации биомаркеров, в том числе РНК и ДНК, с целью точной оценки ДНС.

Многие исследования сосредоточены на количественной оценке деградации РНК и ДНК как возможным маркере оценки ДНС [21–23]. РНК является более специфичным маркером, чем ДНК, т.к. продукты её деградации являются очень чувствительными с точки зрения корреляции со временем наступления смерти организма [24].

После смерти организма происходит разрушение РНК рибонуклеазами человека, бактериями, а также факторами окружающей среды. Следовательно, процесс деградации РНК зависит не только от времени, прошедшего с момента наступления смерти, но и от таких факторов, как причина смерти и факторы окружающей среды [23, 25].

На сегодняшний день опубликовано множество исследований, посвящённых изучению различных видов РНК для оценки ДНС, включая мРНК, рРНК и микроРНК. Доступен широкий спектр тестов, позволяющих количественно определить РНК, включая количественную полимеразную цепную реакцию в реальном времени (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR), которая является методом выбора благодаря своей высокой чувствительности [26, 27]. Однако высокая точность является не только плюсом, но и минусом метода из-за возможной ошибочной интерпретации результатов вследствие мельчайших изменений в уровнях мРНК, возникающих при обработке образцов. Таким образом, необходима стандартизация данных.

Метод qRT-PCR широко используют при оценке ДНС. Известно, что увеличение времени с момента наступления смерти имеет обратную корреляцию с уровнем транскрипции РНК [23, 27]. F. Samraio-Silva и соавт. [23] разработали математическую модель с достоверностью оценки ДНС 95% и доверительным интервалом 651 минута с использованием РНК из висцеральных и мышечных тканей мышей. В исследовании были

выявлены 4 гена четырёхглавой мышцы бедра (*Actb*, *Hapdh*, *Ppia* и *Srp72*), которые значительно коррелировали с ДНС. М. Вагер и соавт. [28] пытались определить ДНС путём количественной оценки деградации мРНК с использованием мультиплексной qRT-PCR в сочетании с лазерно-индуцированным флуоресцентным капиллярным электрофорезом. Полученные данные показали существенную корреляцию между деградацией РНК и ДНС в охлаждённых образцах крови и головного мозга человека. Однако другие авторы, наоборот, указывают на отсутствие корреляции между деградацией мРНК и ДНС в ткани мозга человека [29, 30].

Опубликованные на сегодняшний день исследования, в которых проводили количественную оценку деградации РНК с целью оценки ДНС, были сконцентрированы на ограниченных транскриптах мРНК, что привело к появлению больших доверительных интервалов и, соответственно, снижению точности оценки ДНС [28]. S. T. Young и соавт. [31] использовали РНК зубной пульпы с целью точной оценки ДНС: было показано, что ген *B-actb* РНК может применяться для оценки ДНС в более длительном посмертном периоде — до 84 дней.

Неэффективными были и попытки установить связь между деградацией РНК и ДНС, т.к. не удалось обнаружить достаточно стабильных генов: гены «домашнего хозяйства», рРНК и малые ядерные РНК, которые обычно используются при проведении RT-qPCR, показали непредсказуемый уровень экспрессии в различных тканях [32].

СОВРЕМЕННЫЕ ДАННЫЕ О МИКРОРНК КАК ИНСТРУМЕНТЕ ОЦЕНКИ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ

За последние несколько лет проведено множество исследований, в которых выявлен потенциал микроРНК в оценке ДНС.

Так, W. C. Li и соавт. [33] изучали микроРНК-1 и микроРНК-2 в сердечной мышце крыс с различной ДНС; образцы хранили при температуре 25°C. Результаты показали, что уровень исследуемых микроРНК оставался стабильным до 120 ч после смерти, а затем постепенно снижался.

H. Pan и соавт. [34] исследовали корреляцию между ДНС и микроРНК-203, а также другими маркерами РНК: образцы кожи крыс были разделены на три группы в зависимости от температуры хранения (4; 15 и 35°C), в результате чего выявлена высокая устойчивость микроРНК-203 при различных показателях температуры окружающей среды, что обуславливает возможность практического применения данного маркера.

Y. H. Lv и соавт. [35] исследовали образцы селезёнки двух групп крыс: образцы первой группы хранили в течение 144 ч при температуре 25°C, образцы второй — 312 ч при 4°C. Были сделаны выводы, что микроРНК можно использовать для оценки ДНС (в первой группе достоверность была выше из-за меньшего временного интервала) и что микроРНК-125b более устойчив, нежели микроРНК-143.

J. Ma и соавт. [36] исследовали мозговую ткань 270 крыс, разделённых на 5 групп: 1-я — контроль (ДНС составила 0 ч), 2–5-я — экспериментальные. Образцы 2-й группы хранили при температуре 4°C, образцы 3-й — при 15°C, 4-й — при 25°C, 5-й — при 35°C. Затем экспериментальные группы были исследованы в разное время в течение 144 ч с момента наступления смерти. Дальнейший анализ показал, что микроРНК-125b и микроРНК-9 были самыми эффективными маркерами, т.к. имели наибольшую стабильность и сохранялись до 144 ч после наступления смерти при различных условиях внешней среды.

Y. H. Lv и соавт. [24] исследовали образцы сердца, печени и мозга 13 трупов с известной ДНС, а также ткани сердца и печени мышей с целью контроля результатов. Анализ микроРНК-1, микроРНК-9 и микроРНК-133a, микроРНК-122 показал, что микроРНК-1 и микроРНК-133a имели высокую устойчивость на протяжении более 5 дней, а микроРНК-122, который является специфичным для печени, быстро деградировал при повышении температуры окружающей среды. Ошибка при определении ДНС составила менее 5 ч в 6 случаях из 13.

S. Tu и соавт. [37] провели эксперимент, в котором изучили ткани сердца, печени и скелетных мышц 15 самцов мышей. Мыши были разделены на 5 групп в зависимости от ДНС (0; 1,5; 3,5; 5,5; 7,5 дней), исследуемые ткани хранились при температуре 25°C. Авторы построили математическую модель для оценки ДНС, используя микроРНК-122 в качестве эталонного биомаркера для сердца и печени, а микроРНК-133a — для скелетных мышц.

Имеются также сведения об определении ДНС с помощью микроРНК при экстремально низких температурах. Так, например, H. Wang и соавт. [38] изучали сердце, печень, головной мозг и скелетные мышцы 33 самцов мышей, которые случайным образом были сгруппированы в 10 временных точек в течение 48 ч после смерти. В каждой группе было по 4 мыши, все они хранились при температуре -80°C. Авторы проанализировали 5 видов микроРНК: 122, 133a, 150, 195, 206. МикроРНК-133a и микроРНК-206 сохранялись в течение первых 24 ч, но после их количество начинало значительно сокращаться, при этом количество микроРНК-195 продолжало увеличиваться даже спустя 24 ч. На основании этого можно сделать вывод, что микроРНК-195 продолжает вырабатываться после смерти.

В другом исследовании S. Tu и соавт. [39] обнаружено, что одинаковые виды микроРНК могут вести себя по-разному в зависимости от типа ткани. Авторы изучили сердце, печень, скелетные мышцы 45 мышей и выявили, что микроРНК-122 и микроРНК-133a были более устойчивыми в разлагающихся тканях сердечной мышцы, но в других исследуемых тканях их количество быстро снижалось.

Интересные данные опубликовали A. Odriozola и соавт. [19], которые предположили, что микроРНК возможно использовать как инструмент для определе-

ния времени суток наступления смерти. С целью подтверждения данной теории авторы исследовали стекловидное тело человека: лучшим и единственным рабочим маркером оказался микроРНК-222. Имеются также сведения о микроРНК-541 и микроРНК-142-р, количество которых оказалось повышенным у людей, умерших в ночное время суток, и, наоборот, пониженным, если смерть наступала днём [7].

S. Sharma и соавт. [40] исследовали мРНК фактора транскрипции, противодействующего апоптозу и микроРНК-2909 в тканях мозга, сердца, лёгких, почек, поджелудочной железы, селезёнки и печени мышей (температура хранения 25°C). Выявлено, что микроРНК-2909 сохранялась до 48 ч после смерти, если мышь умерщвляли в 8 ч вечера, и до 12 ч, если мышь умерщвляли в полдень. Авторы также выявили, что микроРНК-2909 намного более устойчива к ферментативному разложению, нежели мРНК ААТФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ДНС имеет огромное правовое и исследовательское значение. Несмотря на большой научный прорыв, оценка ДНС по-прежнему остаётся проблемой для судебно-медицинских экспертов. На сегодняшний день нет способа, который позволил бы назвать точное время наступления смерти, но при этом можно ограничить интервал, насколько это реально в пределах имеющихся научных знаний.

Анализ данных литературы о возможности использования микроРНК с целью оценки ДНС позволил выявить, что характеристики этих молекул и также устойчивость к разложению делают их пригодными для определения ДНС. Потенциальным способом их использования в экспертной практике является создание математической модели путём сравнения молекул с известными скоростями нарастания концентрации и деградации в различных тканях трупа. Исследование микроРНК не является дорогостоящей методикой, что может способствовать введению данного метода в практику судебно-медицинских экспертов, особенно при исследовании гнилостно-трансформированных трупов.

На сегодняшний день существует мало методик для оценки ДНС в позднем постмортальном периоде (более 24 ч), что увеличивает потенциал дальнейшего изучения

микроРНК. Большинство проанализированных нами работ выполнены на экспериментальных животных, поэтому невозможно выбрать конкретную микроРНК или конкретную ткань для оценки ДНС на человеческих трупах, что делает актуальным дальнейшее проведение масштабных стандартизированных исследований с использованием трупного материала человека.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов • Authors' contributions

А. А. Халиков, Е. М. Кильдюшов — концепция и дизайн исследования, научная редакция и одобрение окончательного варианта рукописи; *К. О. Кузнецов* — анализ и интерпретация данных, написание рукописи; *Л. Р. Искужина* — набор материала и сбор данных; *Г. Р. Рахматуллина* — сбор данных. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

A. A. Khakikov and E. M. Kildyushov — study concept and design, scientific editing, and approval of the final version of the manuscript; *K. O. Kuznetsov* — data analysis and interpretation and manuscript writing; *L. R. Iskuzhina* — set of material and data collection; and *G. R. Rahmatullina* — set of material. 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 декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

The authors declare no apparent or potential conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Индияминов С.И., Жуманов З.Э., Блинова С.А. Проблемы установления давности наступления смерти // Судебно-медицинская экспертиза. 2020. Т. 63, № 6. С. 45–50. doi: 10.17116/sudmed20206306145
2. Халиков А.А., Кильдюшов Е.М., Кузнецов К.О., и др. О возможности определения давности повреждений на основании изменения гистоморфометрических характеристик тимуса в эксперименте // Судебная медицина. 2021. Т. 7, № 2. In Press. doi: 10.17816/fm401
3. Кильдюшов Е.М., Ермакова Ю.В., Туманов Э.В., Кузнецова Г.С. Диагностика давности наступления смерти в позднем посмертном периоде в судебно-медицинской практике (обзор литературы) // Судебная медицина. 2018. Т. 4, № 1. С. 34–38.
4. Kang S., Kassam N., Gauthier M.L., O'Day D.H. Postmortem changes in calmodulin binding proteins in muscle and lung // Forensic Sci Int. 2003. Vol. 131, N 2–3. P. 140–147. doi: 10.1016/S0379-0738(02)00426-7
5. Inoue H., Kimura A., Tuji T. Degradation profile of mRNA in a dead rat body: Basic semi-quantification study // Forensic Sci Int. 2002. Vol. 130, N 2–3. P. 127–132. doi: 10.1016/S0379-0738(02)00352-3
6. Larkin B., Iaschi S., Dadour I., Tay G.K. Using accumulated degree-days to estimate postmortem interval from the DNA

- yield of porcine skeletal muscle // *Forensic Sci Med Pathol.* 2010. Vol. 6, N 2. P. 83–92. doi: 10.1007/s12024-009-9109-5
7. Birdsill A.C., Walker D.G., Lue L.F., et al. Postmortem interval effect on RNA and gene expression in human brain tissue // *Cell Tissue Bank.* 2011. Vol. 12, N 4. P. 311–318. doi: 10.1007/s10561-010-9210-8
8. Maiese A., Scatena A., Costantino A., et al. MicroRNAs as useful tools to estimate time since death. a systematic review of current literature // *Diagnostics (Basel).* 2021. Vol. 11, N 1. P. 64. doi: 10.3390/diagnostics11010064
9. Calin G.A., Dumitru C.D., Shimizu M., et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002. Vol. 99, N 24. P. 15524–15529. doi: 10.1073/pnas.242606799
10. Ambros V. The functions of animal microRNAs // *Nature.* 2004. Vol. 431, N 7006. P. 350–355. doi: 10.1038/nature02871
11. Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function // *Cell.* 2004. Vol. 116, N 2. P. 281–297. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5
12. Lu J., Getz G., Miska E.A., et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers // *Nature.* 2005. Vol. 435, N 7043. P. 834–838. doi: 10.1038/nature03702
13. Lees T., Nassif N., Simpson A., et al. Recent advances in molecular biomarkers for diabetes mellitus: a systematic review // *Biomarkers.* 2017. Vol. 22, N 7. P. 604–613. doi: 10.1080/1354750X.2017.1279216
14. Croce C.M., Calin G.A. miRNAs, cancer, and stem cell division // *Cell.* 2005. Vol. 122, N 1. P. 6–7. doi: 10.1016/j.cell.2005.06.036
15. Pinchi E., Frati P., Aromatario M., et al. miR-1, miR-499 and miR-208 are sensitive markers to diagnose sudden death due to early acute myocardial infarction // *J Cell Mol Med.* 2019. Vol. 23, N 9. P. 6005–6016. doi: 10.1111/jcmm.14463
16. Pinchi E., Frati A., Cantatore S., et al. Acute spinal cord injury: a systematic review investigating miRNA families involved // *Int J Mol Sci.* 2019. Vol. 20, N 8. P. 1841. doi: 10.3390/ijms20081841
17. Hanson E.K., Lubenow H., Ballantyne J. Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed microRNAs // *Anal Biochem.* 2009. Vol. 387, N 2. P. 303–314. doi: 10.1016/j.ab.2009.01.037
18. Neri M., Fabbri M., D'Errico S., et al. Regulation of miRNAs as new tool for cutaneous vitality lesions demonstration in ligature marks in deaths by hanging // *Sci Rep.* 2019. Vol. 9, N 1. P. 20011. doi: 10.1038/s41598-019-56682-7
19. Odriozola A., Riancho J.A., de la Vega R., et al. miRNA analysis in vitreous humor to determine the time of death: a proof-of-concept pilot study // *Int J Legal Med.* 2013. Vol. 127, N 3. P. 573–578. doi: 10.1007/s00414-012-0811-6
20. Partemi S., Berne P.M., Batlle M., et al. Analysis of mRNA from human heart tissue and putative applications in forensic molecular pathology // *Forensic Sci Int.* 2010. Vol. 203, N 1–3. P. 99–105. doi: 10.1016/j.forsciint.2010.07.005
21. Li W.C., Ma K.J., Lv Y.H., et al. Post-mortem interval determination using 18S-rRNA and microRNA // *Sci Justice.* 2014. Vol. 54, N 4. P. 307–310. doi: 10.1016/j.scijus.2014.03.001
22. Poór V.S., Lukács D., Nagy T., et al. The rate of RNA degradation in human dental pulp reveals post-mortem interval // *Int J Legal Med.* 2016. Vol. 130, N 3. P. 615–619. doi: 10.1007/s00414-015-1295-y
23. Sampaio-Silva F., Magalhães T., Carvalho F., et al. Profiling of RNA degradation for estimation of post-mortem [corrected] interval // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, N 2. e56507. doi: 10.1371/journal.pone.0056507
24. Lv Y.H., Ma J.L., Pan H., et al. Estimation of the human postmortem interval using an established rat mathematical model and multi-RNA markers // *Forensic Sci Med Pathol.* 2017. Vol. 13, N 1. P. 20–27. doi: 10.1007/s12024-016-9827-4
25. Scrivano S., Sanavio M., Tozzo P., Caenazzo L. Analysis of RNA in the estimation of post-mortem interval: a review of current evidence // *Int J Legal Med.* 2019. Vol. 133, N 6. P. 1629–1640. doi: 10.1007/s00414-019-02125-x
26. Nolan T., Hands R.E., Bustin S.A. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR // *Nat Protoc.* 2006. Vol. 1, N 3. P. 1559–1582. doi: 10.1038/nprot.2006.236
27. Zhang H., Zhang P., Ma K.J., et al. The selection of endogenous genes in human postmortem tissues // *Sci Justice.* 2013. Vol. 53, N 2. P. 115–120. doi: 10.1016/j.scijus.2012.11.005
28. Bauer M., Gramlich I., Polzin S., Patzelt D. Quantification of mRNA degradation as possible indicator of postmortem interval — a pilot study // *Leg Med (Tokyo).* 2003. Vol. 5, N 4. P. 220–227. doi: 10.1016/j.legalmed.2003.08.001
29. Heinrich M., Matt K., Lutz-Bonengel S., Schmidt U. Successful RNA extraction from various human postmortem tissues // *Int J Legal Med.* 2007. Vol. 121, N 2. P. 136–142. doi: 10.1007/s00414-006-0131-9
30. Preece P., Cairns N.J. Quantifying mRNA in postmortem human brain: influence of gender, age at death, postmortem interval, brain pH, agonal state and inter-lobe mRNA variance // *Brain Res Mol Brain Res.* 2003. Vol. 118, N 1–2. P. 60–71. doi: 10.1016/s0169-328x(03)00337-1
31. Young S.T., Wells J.D., Hobbs G.R., Bishop C.P. Estimating postmortem interval using RNA degradation and morphological changes in tooth pulp // *Forensic Sci Int.* 2013. Vol. 229, N 1–3. P. 163.e1–6. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.03.035
32. Heinrich M., Lutz-Bonengel S., Matt K., Schmidt U. Real-time PCR detection of five different «endogenous control gene» transcripts in forensic autopsy material // *Forensic Sci Int Genet.* 2007. Vol. 1, N 2. P. 163–169. doi: 10.1016/j.fsigen.2007.01.002
33. Li W.C., Ma K.J., Zhang P., et al. Estimation of postmortem interval using microRNA and 18S rRNA degradation in rat cardiac muscle // *Fa Yi Xue Za Zhi.* 2010. Vol. 26, N 6. P. 413–417.
34. Pan H., Zhang H., Lü Y.H., et al. Correlation between five RNA markers of rat's skin and PMI at different temperatures // *Fa Yi Xue Za Zhi.* 2014. Vol. 30, N 4. P. 245–249.
35. Lv Y.H., Ma K.J., Zhang H., et al. A time course study demonstrating mRNA, microRNA, 18S rRNA, and U6 snRNA changes to estimate PMI in deceased rat's spleen // *J Forensic Sci.* 2014. Vol. 59, N 5. P. 1286–1294. doi: 10.1111/1556-4029.12447
36. Ma J., Pan H., Zeng Y., et al. Exploration of the R code-based mathematical model for PMI estimation using profiling of RNA degradation in rat brain tissue at different temperatures // *Forensic Sci Med Pathol.* 2015. Vol. 11, N 4. P. 530–537. doi: 10.1007/s12024-015-9703-7
37. Tu C., Du T., Ye X., et al. Using miRNAs and circRNAs to estimate PMI in advanced stage // *Leg Med (Tokyo).* 2019. Vol. 38. P. 51–57. doi: 10.1016/j.legalmed.2019.04.002
38. Wang H., Mao J., Lib Y.B., et al. 5 miRNA expression analysis in postmortem interval (PMI) within 48h // *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser.* 2013. Vol. 4. P. e190–e191. doi: 10.1016/j.fsigs.2013.10.098
39. Tu C., Du T., Shao C., et al. Evaluating the potential of housekeeping genes, rRNAs, snRNAs, microRNAs and circRNAs as reference genes for the estimation of PMI // *Forensic Sci Med Pathol.* 2018. Vol. 14, N 2. P. 194–201. doi: 10.1007/s12024-018-9973-y
40. Sharma S., Singh D., Kaul D. AATF RNome has the potential to define post mortem interval // *Forensic Sci Int.* 2015. Vol. 247. P. e21–24. doi: 10.1016/j.forsciint.2014.12.008

REFERENCES

1. Indiaminov SI, Zhumanov ZE, Blinova SA. Problems of establishing the prescription of death. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2020;63(6):45–50. (In Russ). doi: 10.17116/sudmed20206306145
2. Khalikov AA, Kildyushov EM, Kuznetsov KO, et al. Possibility of determining injury duration based on changes in histomorphometric characteristics of the thymus. *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2021;7(2):96–100. (In Russ.). doi: 10.17816/fm40
3. Kildyushov EM, Ermakova YuV, Tumanov EV, Kuznecova GS. Diagnostics of the prescription of death in the late postmortem period in forensic practice (literature review). *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2018;4(1):34–38. (In Russ).
4. Kang S, Kassam N, Gauthier ML, O'Day DH. Postmortem changes in calmodulin binding proteins in muscle and lung. *Forensic Sci Int*. 2003;131(2–3):140–147. doi: 10.1016/S0379-0738(02)00426-7
5. Inoue H, Kimura A, Tuji T. Degradation profile of mRNA in a dead rat body: Basic semi-quantification study. *Forensic Sci Int*. 2002;130(2–3):127–132. doi: 10.1016/S0379-0738(02)00352-3
6. Larkin B, Iaschi S, Dadour I, Tay GK. Using accumulated degree-days to estimate postmortem interval from the DNA yield of porcine skeletal muscle. *Forensic Sci Med Pathol*. 2010;6(2):83–92. doi: 10.1007/s12024-009-9109-5
7. Birdsill AC, Walker DG, Lue LF, et al. Postmortem interval effect on RNA and gene expression in human brain tissue. *Cell Tissue Bank*. 2011;12(4):311–318. doi: 10.1007/s10561-010-9210-8
8. Maiese A, Scatena A, Costantino A, et al. MicroRNAs as useful tools to estimate time since death. a systematic review of current literature. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(1):64. doi: 10.3390/diagnostics11010064
9. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(24):15524–15529. doi: 10.1073/pnas.242606799
10. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004;31(7006):350–355. doi: 10.1038/nature02871
11. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004;116(2):281–297. doi: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5
12. Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*. 2005;435(7043):834–838. doi: 10.1038/nature03702
13. Lees T, Nassif N, Simpson A, et al. Recent advances in molecular biomarkers for diabetes mellitus: a systematic review. *Biomarkers*. 2017;22(7):604–613. doi: 10.1080/1354750X.2017.1279216
14. Croce CM, Calin GA. miRNAs, cancer, and stem cell division. *Cell*. 2005;122(1):6–7. doi: 10.1016/j.cell.2005.06.036
15. Pinchi E, Frati P, Aromatario M, et al. miR-1, miR-499 and miR-208 are sensitive markers to diagnose sudden death due to early acute myocardial infarction. *J Cell Mol Med*. 2019;23(9):6005–6016. doi: 10.1111/jcmm.14463
16. Pinchi E, Frati A, Cantatore S, et al. Acute spinal cord injury: a systematic review investigating miRNA families involved. *Int J Mol Sci*. 2019;20(8):1841. doi: 10.3390/ijms20081841
17. Hanson EK, Lubenow H, Ballantyne J. Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed microRNAs. *Anal Biochem*. 2009;387(2):303–314. doi: 10.1016/j.ab.2009.01.037
18. Neri M, Fabbri M, D'Errico S, et al. Regulation of miRNAs as new tool for cutaneous vitality lesions demonstration in ligature marks in deaths by hanging. *Sci Rep*. 2019;9(1):20011. doi: 10.1038/s41598-019-56682-7
19. Odriozola A, Riancho JA, de la Vega R, 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(3):573–578. doi: 10.1007/s00414-012-0811-6
20. Partemi S, Berne PM, Battle M, et al. Analysis of mRNA from human heart tissue and putative applications in forensic molecular pathology. *Forensic Sci Int*. 2010;203(1–3):99–105. doi: 10.1016/j.forsciint.2010.07.005
21. Li WC, Ma KJ, Lv YH, et al. Post-mortem interval determination using 18S-rRNA and microRNA. *Sci Justice*. 2014;54(4):307–310. doi: 10.1016/j.scijus.2014.03.001
22. Poór VS, Lukács D, Nagy T, et al. The rate of RNA degradation in human dental pulp reveals post-mortem interval. *Int J Legal Med*. 2016;130(3):615–619. doi: 10.1007/s00414-015-1295-y
23. Sampaio-Silva F, Magalhães T, Carvalho F, et al. Profiling of RNA degradation for estimation of post-mortem [corrected] interval. *PLoS One*. 2013;8(2):e56507. doi: 10.1371/journal.pone.0056507
24. Lv YH, Ma JL, Pan H, et al. Estimation of the human postmortem interval using an established rat mathematical model and multi-RNA markers. *Forensic Sci Med Pathol*. 2017;13(1):20–27. doi: 10.1007/s12024-016-9827-4
25. Scrivano S, Sanavio M, Tozzo P, Caenazzo L. Analysis of RNA in the estimation of post-mortem interval: a review of current evidence. *Int J Legal Med*. 2019;133(6):1629–1640. doi: 10.1007/s00414-019-02125-x
26. Nolan T, Hands RE, Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nat Protoc*. 2006;1(3):1559–1582. doi: 10.1038/nprot.2006.236
27. Zhang H, Zhang P, Ma KJ, et al. The selection of endogenous genes in human postmortem tissues. *Sci Justice*. 2013;53(2):115–120. doi: 10.1016/j.scijus.2012.11.005
28. Bauer M, Gramlich I, Polzin S, Patzelt D. Quantification of mRNA degradation as possible indicator of postmortem interval — a pilot study. *Leg Med (Tokyo)*. 2003;5(4):220–227. doi: 10.1016/j.legalmed.2003.08.001
29. Heinrich M, Matt K, Lutz-Bonengel S, Schmidt U. Successful RNA extraction from various human postmortem tissues. *Int J Legal Med*. 2007;121(2):136–142. doi: 10.1007/s00414-006-0131-9
30. Preece P, Cairns NJ. Quantifying mRNA in postmortem human brain: influence of gender, age at death, postmortem interval, brain pH, agonal state and inter-lobe mRNA variance. *Brain Res Mol Brain Res*. 2003;118(1–2):60–71. doi: 10.1016/S0169-328X(03)00337-1
31. Young ST, Wells JD, Hobbs GR, Bishop CP. Estimating postmortem interval using RNA degradation and morphological changes in tooth pulp. *Forensic Sci Int*. 2013;229(1–3):163.e1–6. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.03.035
32. Heinrich M, Lutz-Bonengel S, Matt K, Schmidt U. Real-time PCR detection of five different «endogenous control gene» transcripts in forensic autopsy material. *Forensic Sci Int Genet*. 2007;1(2):163–169. doi: 10.1016/j.fsigen.2007.01.002
33. Li WC, Ma KJ, Zhang P, et al. Estimation of postmortem interval using microRNA and 18S rRNA degradation in rat cardiac muscle. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 2010;26(6):413–417.
34. Pan H, Zhang H, Lü YH, et al. Correlation between five RNA markers of rat's skin and PMI at different temperatures. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 2014;30(4):245–249.
35. Lv YH, Ma KJ, Zhang H, et al. A time course study demonstrating mRNA, microRNA, 18S rRNA, and U6 snRNA

- changes to estimate PMI in deceased rat's spleen. *J Forensic Sci.* 2014;59(5):1286–1294. doi: 10.1111/1556-4029.12447
36. Ma J, Pan H, Zeng Y, et al. Exploration of the R code-based mathematical model for PMI estimation using profiling of RNA degradation in rat brain tissue at different temperatures. *Forensic Sci Med Pathol.* 2015;11(4):530–537. doi: 10.1007/s12024-015-9703-7
37. Tu C, Du T, Ye X, et al. Using miRNAs and circRNAs to estimate PMI in advanced stage. *Leg Med (Tokyo).* 2019;38:51–57. doi: 10.1016/j.legalmed.2019.04.002
38. Wang H, Mao J, Lib YB, et al. 5 miRNA expression analysis in postmortem interval (PMI) within 48h. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser.* 2013;4:e190–e191. doi: 10.1016/j.fsigs.2013.10.098
39. Tu C, Du T, Shao C, et al. Evaluating the potential of housekeeping genes, rRNAs, snRNAs, microRNAs and circRNAs as reference genes for the estimation of PMI. *Forensic Sci Med Pathol.* 2018; 14(2):194–201. doi: 10.1007/s12024-018-9973-y
40. Sharma S, Singh D, Kaul D. AATF RNome has the potential to define post-mortem interval. *Forensic Sci Int.* 2015;247:e21–24. doi: 10.1016/j.forsciint.2014.12.008

ОБ АВТОРАХ

* **КУЗНЕЦОВ Кирилл Олегович**, студент 6-го курса; адрес: Российская Федерация, 450008, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Ленина, д. 3; e-mail: kirillkuznetsov@aol.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2405-1801>
ХАЛИКОВ Айрат Анварович, д.м.н., профессор; e-mail: airat.expert@mail.ru; eLibrary SPIN: 1895-7300; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1045-5677>
КИЛЬДЮШОВ Евгений Михайлович, д.м.н., профессор; e-mail: kem1967@bk.ru; eLibrary SPIN: 6412-0687; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7571-0312>
ИСКУЖИНА Ляйсан Раисовна, ассистент; e-mail: laysan.iskuzhina@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9376-0874>
РАХМАТУЛЛИНА Гульназ Рифовна, эксперт; e-mail: rgulnaz779@gmail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9509-5978>

AUTHOR'S INFO

* **Kirill O. Kuznetsov**, Student; address: 450008, Ufa, Lenin street, 3, Russia; e-mail: kirillkuznetsov@aol.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2405-1801>
Airat A. Halikov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor; e-mail: airat.expert@mail.ru; eLibrary SPIN: 1895-7300; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1045-5677>
Evgeny M. Kildyushov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor; e-mail: kem1967@bk.ru; eLibrary SPIN: 6412-0687; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7571-0312>
Laysan R. Iskuzhina, Assistant; e-mail: laysan.iskuzhina@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9376-0874>
Gulnaz R. Rahmatullina, Expert; e-mail: rgulnaz779@gmail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9509-5978>

* Автор, ответственный за переписку / The author responsible for the correspondence