

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛАЦЕНТЫ И ПУПОВИНЫ — СЛУЧАИ ИЗ ПРАКТИКИ

Е. А. Кочеткова

Бюро судебно-медицинской экспертизы Московской области (нач. — д.м.н., проф. В. А. Клевно).

Аннотация: Приведена подборка случаев исследования биоматериала плацент и пуповины новорожденных младенцев, обнаруженных мертвыми. Обозначены проблемы оценки возможности выделения материнского генотипа из представленных биоматериалов для дальнейшей идентификации биологических матерей представленных младенцев.

Ключевые слова: молекулярно-генетическое исследование, плацента, пуповина, новорожденные младенцы

MOLECULAR GENETIC RESEARCH OF PLACENTA AND UMBILICAL CORD — CASES FROM PRACTICE

E. A. Kochetkova

Abstract: Some cases of researches biomaterials from placenta and umbilical cord newborn babies that were found dead is described. The problems estimation the possibility of allocation of maternal genotype from submitted biomaterial for the further identification biological mothers of the represented infants are designated.

Keywords: Molecular genetic research, placenta, umbilical cord, newborn baby

<http://dx.doi.org/10.19048/2411-8729-2016-2-1-45-47>

◇ ВВЕДЕНИЕ

Судебно-медицинские экспертные исследования с применением молекулярно-генетических методов анализа прочно вошли в арсенал современных экспертных методов, использующихся при расследовании или рассмотрении уголовных и гражданских дел.

В последние годы участились случаи нахождения мертвых новорожденных детей с признаками насильственной смерти, с наличием пуповины и плаценты. В связи с этим, у следователей зачастую возникает вопрос о возможности выделения материнской ДНК из плаценты, либо пуповины для дальнейшей идентификации биологической матери данного младенца. Попробуем выяснить, возможно ли это на примере ряда экспертиз, где перед экспертом ставилась задача выделения генотипа матери при предоставлении плаценты либо пуповины.

◇ МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Плацента — эмбриональный орган у всех самок млекопитающих, позволяющий осуществлять перенос материала между циркуляционными системами плода и матери.

Пуповина связывает эмбрион с плацентой. Между плодовой и материнской частью плаценты — базальной дедуциальной оболочкой — находятся наполненные материнской кровью углубления (рис.1). Эта часть плаценты разделена децидуальными септами на 15–20 чашеобразных пространств (котиледонов), каждый котиледон содержит главную ветвь, состоящую из пупочных кровеносных сосудов плода, которая разветвляется далее во множестве ворсинок хориона, образующих поверхность котиледона. Благодаря плацентарному барьеру кровотоков матери и плода не сообщаются между собой. Обмен материалами происходит при помощи диффузии, осмоса или активного транспорта [1].

Нами проводился ряд молекулярно-генетических экспертиз генотипирования плаценты и пуповины по факту обнаружения мертвых младенцев с плацентами и пуповинами. Экспертизы проводились при помощи



Рис. 1. Строение плаценты

идентификационного анализа, в основе которого лежит феномен полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (ПДФ) ДНК, на сегодняшний день являющимся базовым в судебно-медицинских генетических исследованиях вещественных доказательств.

В трех случаях из пяти для проведения молекулярно-генетической экспертизы по факту обнаружения трупа неустановленного новорожденного младенца в лабораторию поступили биоматериалы плаценты в виде фрагмента материнской части плаценты, размером 3 см×3 см., изъятый при вскрытии судебно-медицинским экспертом районного отдела ГБУЗ МО Бюро СМЭ и кровь трупа новорожденного младенца. Целью экспертизы было установление амплификационных профилей ДНК биоматериала плаценты и трупа новорожденного и дальнейшее их сравнение.

Выделение ДНК из биоматериала проводили по стандартной методике, описанной в инструкции, прилагаемой к набору реагентов для выделения ДНК (ExtraPhen) производства НПФ «АТГ-Биотех», г. Москва. Типирование полиморфных STR-локусов ДНК проводили

в монолокусном формате с помощью полимеразной цепной реакции с использованием систем эмитационно-амплификации указанных локусов: Amelogenin, vWA, THO, D16S539, TPOX, D8S1179, D3S1358, D5S818, CSF1PO, D19S433, D2S1338, D18S51, D7S820, D13S317, FGA, при проведении полимеразной цепной реакции использовались стандартные наборы реактивов производства ООО Научно-Производственной фирмы «АТГ-Биотех», регистрационное удостоверение Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития № ФСР 2012/13485 от 30 мая 2012 года, руководствуясь Методическими указаниями № 98/ 253 «Использование индивидуализирующих систем на основе полиморфизма длины амплификационных фрагментов (ПДАФ) ДНК в судебно-медицинской экспертизе идентификации личности и установления родства» (утверждены Минздравом РФ 19.01.1999 г.) [2, 3–8]. ПЦР проводилась на многоканальном амплификаторе ДНК «Терцик», согласно прилагаемой инструкции к вышеупомянутым генетическим локусам. Разделение и детекцию амплифицированных фрагментов проводили при помощи электрофореза в пластинах полиакриламидного геля. Определение длин амплифицированных фрагментов и установление номеров аллелей проводили визуально на основе внутренних стандартов длины определенных локусов и входящих в набор реагентов аллельных ледеров с помощью цифровой фотокамеры SONY (режим съемки — автоматический), с последующим импортированием в текстовый редактор Microsoft Word.

В двух случаях из пяти для проведения молекулярно-генетической экспертизы по факту обнаружения трупа не установленного новорожденного младенца в лабораторию поступили биоматериалы пуповины в виде фрагмента размером 3 см×3 см, изъятой при вскрытии судебно-медицинским экспертом районного отдела ГБУЗ МО Бюро СМЭ и кровь трупа новорожденного. Выделение ДНК, типирование полиморфных STR-локусов ДНК, ПЦР и определение длин амплифицированных фрагментов и установление номеров аллелей проводили в том же формате, что и в трех предыдущих случаях.

Из представленного на исследование биологического материала от плаценты либо пуповины были получены препараты суммарной клеточной ДНК, проведено их экспертное идентификационное исследование с применением индивидуализирующих молекулярно-генетических систем на основе анализа полиморфизма длины амплифицированных фрагментов (ПДАФ) хромосомной ДНК. Также выделялась ДНК из крови трупа не установленного младенца.

В результате, в препаратах ДНК, полученных из фрагментов плаценты, во всех трех случаях в ПДАФ профилях по ряду молекулярно-генетических тестов выявляется более двух аллелей, т.е. смешанный генотип, что однозначно свидетельствует о смешанной природе данных препаратов ДНК. Таким образом препараты ДНК из фрагментов плаценты являются смесью как минимум двух индивидуальных ДНК. Профиль ПДАФ двух индивидуумов, чья ДНК присутствует в ДНК из фрагмента плаценты формально соответствует суммарному профилю ПДАФ хромосомной ДНК трупа не установленного младенца и теоретически ДНК биологической матери трупа не установленного младенца, что может быть обусловлено особенностью строения плаценты, а именно наличием генетического материала матери и плода на ограниченном участке биоматериала.

При анализе экспертных данных можно заметить, что во всех исследованных молекулярно-генетических системах в препаратах ДНК, полученных из фрагментов пуповины и образцов крови не установленных новорожденных младенцев в качестве объекта сравнения, наблюдается полное совпадение генотипических аллельных комбинаций. Это означает, что биологический материал, полученный из фрагмента пуповины и образца крови не установленного новорожденного младенца могли произойти от одного и того же человека. Формальная статистическая оценка наблюдаемого совпадения генотипических характеристик анализируемых препаратов ДНК указывает на то, что вероятность их генетической идентичности (то есть, что они произошли от одного и того же человека), составляет не менее 99,9999999999991%.

Таким образом, величина 99,9999999999991% характеризует вероятность того, что генотипические признаки биологического материала из фрагмента пуповины происходят от не установленного новорожденного младенца.

◇ ВЫВОДЫ

Из представленных на исследование фрагментов плаценты и пуповины не установленных новорожденных младенцев и из образцов крови не установленных новорожденных младенцев были получены препараты суммарной клеточной ДНК и проведено их экспертное идентификационное исследование с применением методов молекулярно-генетической индивидуализации. На основании проведенных исследований, с учетом имеющихся в распоряжении экспертов обстоятельств дела, приходим к следующему выводу: препараты ДНК, выделенные из фрагментов плаценты представляет собой смесь двух индивидуальных ДНК, а в случаях выделения ДНК из фрагментов пуповины генотипические признаки в препаратах ДНК, полученных из биологического материала пуповины и из образцов крови младенцев, одинаковы.

Таким образом, проведение молекулярно-генетического генотипирования плаценты связано со сложностью получения в результате исследования смешанного генетического профиля, что не позволяет высказаться о возможном генотипе предполагаемой биологической матери представленного младенца, а в случаях с пуповиной, генотипический профиль биологического материала, выделенного из фрагментов пуповины, идентичен генотипическому профилю не установленного младенца.

Соответственно, дальнейшая идентификация биологической матери без наличия её образца в таких случаях невозможна.

◇ ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас по гистологии, цитологии и эмбриологии. / Кузнецов С. Л. — Учебное пособие / Москва, 2002.
2. К вопросу о регламентировании в Российской Федерации разработки и производства компонентов для молекулярно-генетических технологий. / Иванов П. Л. Шилов И. А. Карягина А. С. // Мат. VI Всероссий. съезда судебных медиков. - М.-Тюмень, 2015.
3. Иванов П. Л., Клевно В. А. Судебно-биологическая экспертиза — реалии и перспективы. // Журнал Судебно-медицинская экспертиза. 2008. Т. 51. № 1. С. 19–24.
4. Клевно В. А., Иванов П. Л. Международный симпозиум по судебным наукам (IFSS-2005) г. Тайбэй (Китайская Республика на Тайване). // Журнал Су-

- дебно-медицинская экспертиза. М., 2007. Т. 50. № 2. С. 47–48.
5. Клевно В. А., Иванов П. Л. О проблеме организации на территории Чеченской Республики Центра идентификации эксгумированных тел безвестно пропавших. // Журнал Судебно-медицинская экспертиза. М., 2007. Т. 50. № 2, С. 16–21.
 6. Клевно В. А., Иванов П. Л., Земскова Е. Ю., Бинько И. А., Соловьева Н. О., Орехов В. А. Комплексное применение молекулярно-генетических технологий для идентификации российских граждан, погибших при Цунами в Таиланде. // Журнал Судебно-медицинская экспертиза. М., 2007. Т. 50. № 5. С. 24–31.
 7. Клевно В. А., Иванов П. Л. Идентификация жертв цунами в Таиланде: международный опыт организации и проведения судебно-медицинских экспертных исследований при ЧС с массовой гибелью людей. // Журнал Судебно-медицинская экспертиза, Москва, 2006. Т. 49. № 6, с. 29–32.
 8. Иванов П. Л., Клевно В. А., Коганова Н. Л. Применение молекулярно-генетических технологий для идентификации российских граждан, погибших при цунами в Таиланде (II): рано ставить точку? // Журнал Судебно-медицинская экспертиза — М., 2009. Т. 52. № 2, С. 10–17.

Для корреспонденции:

КОЧЕТКОВА Елена Андреевна — врач — судебно-медицинский эксперт молекулярно-генетической лаборатории судебно-биологического отдела государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Бюро судебно-медицинской экспертизы» • 111401, г. Москва, ул. 1-я Владимирская, д. 33, корп. 1, ГБУЗ МО «Бюро СМЭ». +7 926 825-97-43 • kochetkova@sudmedmo.ru