

Сибирский государственный медицинский университет

Кафедра судебной медицины

Томское общество судебных медиков

Шамарин Ю. А., Комарова Л. В., Мельчиков А. С., Алябьев Ф. В.

СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ

Учебно-методическое пособие

Томск – 2002

УДК:340.68.616.079

ББК: Р81 Х629.34

Шамарин Ю. А., Комаров Л. В., Мельчиков А. С., Алябьев Ф. В. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств: Учебно-методическое пособие. – Томск, 2000. – 28с.

В методическом пособии отражены основные сведения по исследованию вещественных доказательств биологического происхождения, которыми должны владеть судебно-медицинские эксперты, в основном, танатологии.

Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств.

Шамарин Ю. А.- к.м.н., доцент, зав. кафедрой судебной медицины СГМУ

Комарова Л. В. – сотрудник кафедры судебной медицины

Мельчиков А. С.- к.м.н., доцент кафедры судебной медицины СГМУ

Алябьев Ф. В. – к.м.н., сотрудник кафедры судебной медицины

Учебно-методическое пособие

Рецензент:

Зав. Отделом сложных экспертиз

Томского областного бюро судебно-медицинской экспертизы А. С. Соколовский

Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии СГМУ

Заказ № Тиражэкз.

1.1. ПРОЦЕССУАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ ПРОВЕДЕНИЯ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ

Одним из источников доказательств в уголовном процессе являются вещественные доказательства, т.е. предметы, имеющие отношение к происшествию и помогающие раскрывать его обстоятельства. Эксперты-биологи исследуют в качестве вещественных доказательств объекты биологического происхождения — кровь и ее следы, следы спермы, волосы, частички тканей и органов, следы слюны, мочи и других выделений человеческого организма. Судебно-медицинская экспертиза вещественных доказательств производится в судебно-биологических отделениях судебно-медицинских лабораторий.

Следы крови, выделений и другие объекты биологического происхождения становятся вещественными доказательствами по судебному делу после того, как они будут обнаружены, зафиксированы в соответствующих документах, правильно изъяты, направлены на экспертизу и должным образом исследованы. Наиболее часто вещественные доказательства обнаруживаются при осмотре места происшествия, освидетельствовании потерпевших и подозреваемых лиц, обыске и других следственных действиях.

1.2. ОБНАРУЖЕНИЕ ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, ПОРЯДОК ИХ ИЗЪЯТИЯ, ФИКСАЦИИ И НАПРАВЛЕНИЯ НА ИССЛЕДОВАНИЕ

Имеющиеся на месте происшествия следы крови, спермы, волосы и другие вещественные доказательства биологического происхождения не только помогают установить место и обстоятельство совершенного преступления, но и способствуют обнаружению преступника и установлению орудия преступления. Судебно-медицинские эксперты-биологи активно участвуют в отыскании, первоначальном осмотре, изъятии, упаковке и пересылке вещественных доказательств биологического происхождения в судебно-медицинские лаборатории.

2.1. УСТАНОВЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ КРОВИ

Предварительное установление наличия крови на исследуемом объекте является обязательным условием для последующего определения ее видовой и групповой принадлежности и решения других вопросов. Предложенные для этой цели методы делятся на ориентировочные (предварительные) и доказательные.

Ориентировочные (предварительные) методы. Эти методы не доказывают, а лишь позволяют предположить присутствие крови в объекте и применяются в основном при осмотре места происшествия. Они не являются строго специфичными, могут давать положительный результат с рядом веществ, не имеющих отношения к крови, однако отрицательный результат возможен при некоторых условиях и при наличии крови.

Исследование в ультрафиолетовых лучах. Пятна крови в ультрафиолетовых лучах обычно имеют темно-коричневый цвет и бархатистый вид. В случаях, когда красящее вещество в пятне под влиянием внешних воздействий превратилось в гематопорфирин, такие пятна в ультрафиолетовых лучах имеют оранжево-красный цвет.

Предметы, исследуемые в ультрафиолетовых лучах, помещают на площадку ртутно-кварцевой лампы и рассматривают в темноте. Постепенно передвигая площадку, исследуют всю поверхность предмета. Места, подозрительные по виду на кровь, по возможности обшивают нитками и помечают порядковым номером или же к ним привязывают этикетку, на которой указан номер. Такое исследование дает возможность в некоторых случаях обнаружить подозрительные пятна на участках, подвергавшихся замыванию.

Ориентировочные химические реакции. Такими реакциями являются проба с перекисью водорода, определение пероксидазных свойств крови, хемоллюминесценция.

Проба с перекисью водорода основана на способности крови разлагать перекись водорода с образованием воды и свободного кислорода. Перекись водорода разлагается в основном под действием каталазы, содержащейся в

строме форменных элементов крови. Приготавливают 3% раствор перекиси водорода. На подозрительное пятно стеклянной палочкой или пипеткой наносят каплю такого раствора и наблюдают появление пены или пузырьков кислорода. Образование пены белого цвета или появление пузырьков кислорода расценивается как положительный результат реакции. Перекись водорода быстро разлагается на свету, поэтому ее хранят в сосуде из темного стекла и перед исследованием обязательно проверяют на активность.

Доказательные методы. Доказательные методы кровяного происхождения пятна основаны на обнаружении в нем с помощью спектрального исследования и микрокристаллических реакций гемоглобина и его производных — гемохромогена и гематопорфирина.

Спектральное исследование основано на способности гемоглобина и его производных поглощать волны света определенной длины и давать соответствующие спектры поглощения. Постоянство и специфичность количества и расположения полос поглощения для каждого производного гемоглобина (гемохромогена, гематопорфирина) являются характерными признаками спектра. Применение микрокристаллических реакций основано на способности некоторых производных гемоглобина образовывать характерные кристаллы. Эти реакции менее чувствительны, чем спектральное исследование, и в настоящее время в лабораториях практически не применяются.

Гемоглобин составляет около 88% сухого остатка крови и состоит из белковой части — глобина, составляющего 95% молекулы гемоглобина, и протетической группы — гема. Абсорбционный спектр гемоглобина, изучаемый в судебно-медицинской практике, зависит от гема. Доказано, что в состав молекулы гемоглобина входят четыре атома железа, следовательно, в молекуле гемоглобина имеются четыре гема.

В обычных условиях для человека красящее вещество крови находится в состоянии гемоглобина (Hb) или оксигемоглобина (HbO₂). Под действием окислителей двухвалентное железо гемоглобина превращается в трехвалентное, образуя прочное соединение — метгемоглобин (HbMt). Метгемоглобин

может образовываться в крови под воздействием ряда веществ, называемых метгемоглобинообразователями, а также при нахождении крови на воздухе и высыхании ее в пятне, при действии слабых кислот, при гниении, под действием ультрафиолетовых лучей. Окись углерода, содержащаяся во вдыхаемом воздухе, соединяется с гемоглобином, образуя карбоксигемоглобин (HbCO_2).

Гемо-, окси-, мет- и карбоксигемоглобин имеют в своем составе белок и легко растворяются в воде. При воздействии слабых растворов кислот и щелочей на гемо-, окси- и метгемоглобин происходит отщепление белка глобина и окисление гема, и железо в таких соединениях превращается в трехвалентное, образуя вещество, называемое гемином. Например, при действии на гемоглобин ледяной уксусной кислоты в присутствии натрия хлорида происходит отщепление от молекулы гемоглобина гема в окисленной форме с образованием гемина гидрохлорида в виде кристаллов коричневого цвета, имеющих форму параллелограммов. Реакцию, приводимую к получению таких кристаллов, используют для установления наличия крови.

При воздействии на гемо- окси- и метгемоглобин щелочами образуется гематин, не растворяющийся в воде. При применении восстановителей (аммония сульфид, натрия гидросульфит, пиридин) происходит восстановление гематина и в присутствии глобина образуется гемохромоген. Гемохромоген имеет характерный спектр поглощения, что и используется в экспертной практике для установления наличия крови.

При действии крепких кислот на гемо- окси- и метгемоглобин, гемохромоген, гемин или гематин происходит отщепление от гема (в соединениях, где имеется белок) не только белка, но и железа. Образующееся при этом вещество пурпурного цвета называется гематопорфирином. Он является продуктом довольно глубокого распада гемоглобина — последней его ступенью, которую еще можно определить спектроскопически и считать достоверным признаком наличия крови. При более глубоком распаде гемоглобина образуются вещества, встречающиеся в организме человека не только в крови, обнаружение которых уже не доказывает присутствия крови или происхожде-

ния их из крови,— билирубин и др. Реакцию получения гематопорфирина используют в судебной медицине для установления наличия крови.

Обнаружение спектра гемоглобина или одного из его производных свидетельствует о наличии крови.

В видимой и крайней фиолетовой части спектра гемоглобин и его производные имеют следующие характеристики.

Оксигемоглобин — в желто-зеленой части спектра между линиями Фраунгофера D и E имеет две полосы поглощения и в крайней фиолетовой части спектра на границе с ультрафиолетовой областью — одну полосу поглощения, невидимую, как правило, в обычные микроскопы.

Гемоглобин — в видимой и в крайней фиолетовой части спектра имеет по одной полосе поглощения.

Гемохромоген характеризуется двумя полосами поглощения в желто-зеленой части видимого спектра между линиями Фраунгофера D и b: одна из полос (левая) — интенсивная, четкая, с максимумом поглощения 556 нм (565—550 нм), вторая - более слабая, с расплывчатыми краями (535—5520 нм с максимумом поглощения 529). Еще одна полоса поглощения имеется в крайней фиолетовой части спектра (410—425 нм).

Гематопорфирин в кислом растворе характеризуется двумя полосами поглощения в видимой части спектра: левая полоса (узкая) расположена влево от линии Фраунгофера D (605—590 нм с максимумом поглощения 593 нм), правая — более широкая, расположена между линиями Фраунгофера D и E в желто-зеленой части спектра (565—540 нм). В фиолетовой части спектра наблюдается полоса с максимумом поглощения 404 нм. В видимой части спектра в щелочном растворе гематопорфирин характеризуется четырьмя полосами поглощения, сходными с таковыми у метгемоглобина в кислом растворе левая полоса (узкая) располагается в красной части спектра левее линии Фраунгофера D, две полосы — в желто-зеленой части спектра между линиями Фраунгофера b и F, в фиолетовой части спектра имеется сплошное затемнение.

Карбоксигемоглобин характеризуется двумя полосами поглощения в желто-зеленой части видимого спектра между линиями Фраунгофера D и E (580—565 нм и 545—520 нм) и одной полосой поглощения в крайней фиолетовой части спектра. По сравнению со спектром оксигемоглобина в спектре карбоксигемоглобина полосы поглощения несколько сдвинуты в сторону коротких волн.

Методика установления наличия крови в пятне. Наличие крови в пятне обычно устанавливается микроспектральным исследованием с предварительным получением из красящего вещества крови гемохромогена или гематопорфирина. Исследование проводится с помощью микроспектроскопа (АУ-16, СПО—1), представляющего собой спектральную насадку на микроскоп.

Получение гемохромогена. Вырезают (или соскабливают) с исследуемых пятен небольшие частички, а при наличии пятен на материи — выдергивают из нее одну - две нити. Помещают их на предметное стекло и добавляют одну-две капли 33% едкой щелочи (NaOH или KOH), восстановителя — раствора аммония гидросульфита (одну-две капли) или натрия гидросульфита (несколько кристаллов). Препарат покрывают предметным стеклом. Красящее вещество крови под влиянием щелочи и восстановителя превращается в гемохромоген. Для обнаружения гемохромогена под микроскопом отыскивают в препарате участки розово - красного цвета или желтоватого цвета. Непрозрачные участки для исследования непригодны. Лучший спектр поглощения отмечается на прозрачных участках розово - красного цвета. Для обнаружения гемохромогена выбранный участок помещают в центре поля зрения микроскопа, из которого затем вынимают окуляр, на место которого устанавливают микроспектроскоп.

При отсутствии спектра гемохромогена переходят к выявлению спектра гематопорфирина. Из материи с пятном берут волокно или делают с нее соскоб, помещают на предметное стекло, добавляют 2-3 капли концентрированной серной кислоты и препарат накрывают покровным стеклом. Под дей-

ствием серной кислоты красящее вещество крови переходит в гематопорфирин. Препарат микроскопируют и определяют участки, имеющие красно-фиолетовую, сиреневую и серо-зеленую окраску. Помещают микроспектроскоп на место окуляра, устанавливают выбранные участки в щели микроскопа и проводят их спектроскопию. Получив спектр, уточняют расположение в нем полос поглощения путем сравнительного исследования или с помощью шкалы микроспектроскопа.

Гемоглобин крови может быть выявлен также с помощью **микросталлических реакций**. В основе их лежит способность гемоглобина крови образовывать при взаимодействии с определенными веществами соединения, выпадающие в виде кристаллов характерной формы и цвета.

Реакция получения кристаллов гемохромогена с помощью реактива Такаямы. Реактив состоит из 10% раствора NaOH, пиридина и насыщенного водного раствора глюкозы.

Для получения кристаллов гемохромогена кусочек исследуемого пятна, ниточку или частичку соскоба помещают на предметное стекло, добавляют несколько капель реактива и накрывают покровным стеклом. Образующийся при этом гемохромоген выпадает в виде полиморфных кристаллов красного цвета. Кристаллы часто имеют форму игл и ромбических табличек и располагаются группами в виде звезд, снопов и длинных пучков. Получение многочисленных кристаллов, обладающих указанными свойствами, является доказательством наличия крови.

2.2. УСТАНОВЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ СПЕРМЫ

Следы спермы в качестве вещественных доказательств почти всегда фигурируют в экспертизах, проводимых в связи с преступлениями на сексуальной почве — изнасилованием, мужеложством, развратными действиями и т.д. Исследование следов, подозрительных на сперму, всегда начинают с установления ее наличия на тех или иных предметах, представленных на экс-

пертизу, и лишь после этого определяют ее групповую принадлежность для решения вопроса о возможности ее происхождения от того или иного лица.

Многочисленные так называемые ориентировочные или предварительные пробы на наличие спермы (ультрафиолетовая люминесценция, микрокристаллические и химические реакции) имеют лишь ограниченное вспомогательное значение и практически не применяются.

При микроскопическом исследовании сперма представляет собой среду, содержащую морфологические элементы — сперматозоиды, являющиеся характерной и специфичной составной частью семенной жидкости, а также предстательные тельца, напоминающие зерна крахмала. В сперме в различных количествах могут присутствовать и неспецифические элементы — клетки кубического, цилиндрического и плоского эпителия, лейкоциты, лецитиновые зерна, кристаллы холина и т.д.

У большинства мужчин при семяизвержении выделяется около 4-5 мл спермы, редко — 10 мл и более, еще реже — очень небольшое количество — 0,2-0,5 мл. В норме в 1 мл спермы содержится 60-120 млн. сперматозоидов. Резкое уменьшение их количества называют олигоспермией. Из патологических состояний спермы наиболее распространены некроспермия — неподвижность сперматозоидов и азооспермия — отсутствие сперматозоидов.

В сперматозоиде различают три основные части: головку, шейку и хвост. При высыхании спермы, а также при воздействии на пятно некоторых реагентов, в том числе имеющихся средств, хвост сперматозоида может разрушаться. В таких случаях диагноз семенного происхождения пятна основан на обнаружении в нем головок сперматозоидов с цилиндрической шейкой.

Наиболее распространенной предварительной пробой для установления семенной природы исследуемых пятен является реакция задержки агглютинации эритроцитов фитагглютинами картофельного сока, разработанная Л.О. Барсегянц (1967). Принцип реакции заключается в том, что содержащаяся в картофельном соке аскорбиновая кислота (витамин С) является своеобразным фитагглютинином, взаимодействующим с эритроцитами крови

человека независимо от их антигенной принадлежности по системе АВ0. Тестостерон спермы, содержащийся в сперматозоидах и семенной плазме, активно блокирует агглютинирующее действие витамина С. В связи с этим в вытяжке из пятна спермы после добавления картофельного экстракта, а затем и тест-эритроцитов агглютинация последних не наступает. Данная реакция способствует выявлению следов, похожих на сперму, и особенно ценна в случаях присутствия ее в смеси с пятнами крови, когда ни визуально, ни с помощью ультрафиолетовых лучей ее нельзя обнаружить. Реакция все же не является строго специфичной для спермы; ложноположительный результат может наблюдаться в присутствии менструальной крови, женского молока и в ряде других случаев. Поэтому вне зависимости от положительного (отсутствии агглютинации) или отрицательного (агглютинация эритроцитов) ее результата необходимо другими доказательными методами решить вопрос о наличии или отсутствии спермы в исследуемом пятне.

При исследовании тампонов и мазков с содержимым влагалища на сперматозоиды может влиять микрофлора женских половых путей. Она может либо частично разрушать сперматозоиды, отделяя хвост от комплекса голова — шейка, либо полностью их лизировать. Этим во многом и объясняется получение частых отрицательных результатов морфологического исследования сперматозоидов в мазках и тампонах с содержимым влагалища потерпевших.

Сперматозоиды могут быть разрушены в следах спермы не только под действием микрофлоры влагалища, но и в результате воздействия на пятно различных внешних факторов. Кроме того, при некоторых патологических состояниях (олиго- и азооспермия) сперматозоиды или полностью отсутствуют в следах спермы, или содержатся в очень малом количестве, затрудняющем их морфологическое исследование.

При невыявлении сперматозоидов в пятне, подозрительном на сперму, необходимо провести исследование другими доказательными методами, которые описаны ниже.

Д.Д. Джалалов (1974) для установления наличия спермы разработал методику хроматографического выявления основных биохимических компонентов спермы—холина и спермина, а также кислой фосфатазы и некоторых аминокислот. Хотя все эти компоненты не являются строго специфичными для спермы, они в своей совокупности при одновременном их выявлении в исследуемых пятнах играют роль идентифицирующего признака их семенного происхождения.

2.3. УСТАНОВЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ СЛЮНЫ

В судебно-медицинской экспертной практике наличие слюны приходится устанавливать на окурках, почтовых конвертах, различной посуде, на одежде насильника и потерпевшей в случае борьбы, на кусках тканей при подозрении на использование их в качестве кляпа и в ряде других случаев.

Пятна слюны на вещественных доказательствах обычно имеют беловатый или желтоватый цвет. При облучении ультрафиолетовым или видимым синим светом они флюоресцируют беловато-голубоватым цветом. При наличии загрязнений и различных примесей (например, крови) пятна слюны не флюоресцируют.

Установление наличия слюны в пятнах основано на выявлении в них пищеварительного фермента — амилазы, расщепляющей полисахариды до простых сахаров. Амилаза содержится не только в слюне, но и в других выделениях и в крови человека. Однако исключительно высокая активность амилазы в слюне по сравнению с таковой в крови и в различных выделениях позволяет при соблюдении определенной техники исследования добиться полной специфичности реакции для обнаружения слюны в исследуемых пятнах.

2.4. УСТАНОВЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ МОЧИ

В судебно-медицинской практике иногда необходимо устанавливать наличие и групповую принадлежность мочи. Объектом экспертизы может служить как жидкость, в которой подозревают наличие мочи, так и следы

мочи, оставленные на вещественных доказательствах. Выявление следов мочи на обнаруженных где-либо предметах одежды может помочь установить лицо, которому она принадлежала.

В состав мочи входят как неорганические, так и органические вещества. Из органических веществ наиболее информативными для судебно-медицинской экспертизы являются постоянно содержащиеся в моче мочевины и креатинин, на выявлении которых и основано установление наличия мочи на исследуемых объектах.

Пятна мочи флюоресцируют сине-голубым цветом при ультрафиолетовом облучении; при освещении видимым синим светом они кажутся более светлыми по сравнению с окружающим фоном.

Несмотря на то, что мочевины содержатся в моче в наибольшем количестве по сравнению с другими органическими компонентами, ее значение для установления наличия мочи невелико вследствие быстрого разрушения под влиянием внешних воздействий и в результате значительного колебания ее уровня при различных состояниях организма человека.

В настоящее время установление наличия мочи на объектах исследования основано на выявлении креатинина и его производных, являющихся специфическими составными компонентами мочи. Наибольшее распространение в нашей стране получила методика установления наличия мочи по креатинину, разработанная Л. О. Барсегянц (1962). Она основана на сочетании двух цветовых реакций — образовании изонитрозокреатинина и его последующего перевода в берлинскую лазурь.

2.5. УСТАНОВЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ ПОТА

В практике судебно-медицинской экспертизы часто приходится устанавливать лиц, которым принадлежали или которые могли использовать те или иные предметы одежды, головные уборы и т.д. В этих случаях исследуют следы пота.

В качестве ориентировочного исследования на наличие следов пота рекомендуется осмотр предметов одежды в ультрафиолетовых лучах, при этом пятна пота и потожировых выделений часто обнаруживают голубоватую флюоресценцию.

Доказательным методом на наличие пота является реакция на аминокислоту серин, содержащуюся в нем в значительном количестве. Реакция на серии достаточно чувствительна, причем положительный результат может быть получен при исследовании 5-10 мг материала со свежими и 15 мг — со старыми пятнами пота.

2.6. УСТАНОВЛЕНИЕ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ОБЪЕКТОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

После выявления на вещественных доказательствах следов крови или каких-либо частиц органов и тканей необходимо определить их вид, т.е. установить, принадлежит ли кровь или эти частицы человеку или какому-нибудь животному.

Для определения видовой специфичности белков в судебно-медицинской практике, как правило, применяют иммунологические методы исследования, в частности реакцию преципитации. После открытия Ф.Я. Чистовичем (1899) видовой антигенной специфичности сывороточных белков судебная медицина получила научно обоснованный метод дифференцирования крови человека и животных. основополагающие работы в области видовой специфичности в 1901 г. были опубликованы Р. Uhlenhuth и до настоящего времени не утратили актуальности.

Реакция преципитации является одной из реакций иммунитета, при которой происходит взаимодействие антигенов и антител. При определении видовой специфичности крови антигенами являются главным образом сывороточные белки — альбумины и глобулины, а антителами — иммунные глобулины преципитирующей сыворотки.

Видовая специфичность присуща не только белкам крови, но и различным белковым субстанциям выделений — спермы, слюны, пота, мочи, выделений из носа, влагалища и т.д.

В настоящее время все преципитирующие сыворотки для судебно-медицинской экспертизы изготавливают путем иммунизации кроликов, а в ряде случаев, при необходимости, могут быть получены при иммунизации кур, коз и других животных. В настоящее время изготавливают сыворотки, способные преципитировать белки крови человека, рогатого скота, лошади, свиньи, собаки, кошки, птицы, кролика, лося.

Реакция преципитации. Реакцию преципитации можно выполнить в нескольких вариантах: в жидкой среде и в геле.

Реакция преципитации в жидкой среде. Применяемые в реакции преципитирующие сыворотки должны быть прозрачными, не гемолизированными, иметь светло-желтый или желтый цвет. Титр сывороток должен быть равен 1:10000. Как правило, пригодны для реакции сыворотки, способные в течение 10 мин образовать осадок при разведении антигена 1:10000.

Специфичными считаются сыворотки, реагирующие только с соответствующим белковым компонентом и не реагирующие с чужеродным белком в течение 1 ч, при концентрации белка 1 : 1000. Такая сыворотка может реагировать с компонентами белка филогенетически близких видов животных.

Применяемые в судебно-медицинской практике преципитирующие сыворотки реагируют с сывороточными белками и не преципитируют гемоглобин, составляющий 80% всех белков крови. Гемоглобин обладает видовой, тканевой и возрастной специфичностью. Он состоит из глобина и простетической группы. Глобин обладает антигенными свойствами. В связи с тем, что ряд авторов ставили под сомнение антигенные свойства гемоглобина, вопрос об изготовлении антигемоглобиновых сывороток не был решен в течение долгого времени и только после открытия Фрейндом адьюванта возник вновь. J. Chernoff (1953) изготовил сыворотки анти-Hb с титром 1:10000. Невысокий титр этой сыворотки, по мнению Т.А. Куприной (1980), можно объ-

яснить не только антигенными свойствами гемоглобина, но и малой выраженностью генов иммунного ответа на него.

Т.А. Куприна (1980) разработала методику получения анти-Нб сывороток. Она получила специфичные сыворотки анти-Нб, по диагностической ценности превышающие обычные преципитирующие сыворотки.

Таким образом, после применения в судебно-медицинской практике анти-Нб сывороток появится возможность получения препарата многоцелевого использования: для установления наличия крови (органный принадлежность), видовой принадлежности крови, выделений, органов и тканей, для отличия крови плода и ребенка первых месяцев жизни от крови взрослого человека. Особое значение использование анти-Нб-сывороток может иметь для определения видовой принадлежности следов крови, состоящих из ее форменных элементов, и случаев, когда в крови животных примешаны выделения человека.

Реакция преципитации в геле. При работе с мутными вытяжками, когда ни центрифугирование, ни фильтрование не позволяют устранить замутнение, целесообразно реакцию преципитации осуществлять в агаре. Впервые реакция была предложена О. Ouchterlony (1949). Принцип ее заключается в следующем. В агаре в две лунки помещается антиген и антитело. Ингредиенты диффундируют друг к другу, и в месте контакта образуется полоса преципитации. Часто вместо одной полосы отмечается несколько полос преципитации. Это зависит от того, что отдельные компоненты, составляющие антиген и антитело, движутся с разной скоростью. Количество линий полностью определяется строением антигена. Реакция, по утверждению ее автора, является специфичной. Однако J. Tesar (1961) отмечал неспецифические явления, связанные с влиянием остатков стиральных порошков и средств, применяемых в быту, на белковые компоненты крови — образование неспецифических преципитатов.

Определение групповой принадлежности крови проводят для выявления возможности ее происхождения от определенного лица. В эритроци-

тарных, сывороточных и ферментных системах крови содержится большое число передающихся по наследству антигенов (белков), определенное сочетание которых в каждой системе характеризует ту или иную группу крови. Групповую принадлежность определяют как в следах крови на вещественных доказательствах, так и в присланных образцах крови, изъятых у потерпевших и подозреваемых. Необходимо учитывать, что в жидкой крови возможность определения групп различных систем крови значительно шире, чем в высохших пятнах крови, что объясняется снижением активности многих групповых антигенов крови при ее высыхании, разрушением групповых свойств под влиянием различных факторов внешней среды.

Эритроцитарные группы. В следах крови в настоящее время выявляются группы эритроцитарных систем АВ0, MNSS, P, Льюис, резус.

Система АВ0 благодаря высокому полиморфизму и исключительной устойчивости ее антигенов к внешним воздействиям имеет первостепенное значение для дифференциации следов крови. По системе АВ0 всех людей делят на четыре основные группы: 0αβ (I), Аβ (II), Вα (III) и АВ0 (IV). У лиц I группы в эритроцитах содержится слабый антиген 0, а в сыворотке крови — антитела α и β; у лиц II группы — антиген А и антитело β; у лиц III группы — антиген В и антитело α, у лиц IV группы — антигены А и В (в сыворотке антитела α и β отсутствуют). Средняя частота встречаемости четырех групп системы АВ0 составляет соответственно — 35, 35, 20 и 10 %.

Как установлено, в эритроцитах большинства людей с группами А (II), В (III) и АВ0 (IV) содержится сопутствующий антиген Н, близкий по своей природе к антигену 0. Поэтому систему АВ0 в настоящее время принято называть системой АВ0 (Н). Определение антигена Н существенно расширило возможности групповой дифференциации следов крови. В свою очередь, изучение особенностей антигена А позволило подразделять его на А₁ (А «сильное») и А₂ (А «слабое»), что значительно расширяет групповую дифференциацию следов крови. Методика дифференцирования подгрупп системы

AB0 с помощью специальных растительных фитоагглютининов (пектинов) впервые разработана в нашей стране.

Решающее значение для установления групп крови системы AB0 в исследуемом пятне имеет обнаружение в нем того или иного антигена, так как антитела α и β в крови разных лиц имеют различную силу выраженности, более подвержены внешним воздействиям, вследствие чего могут сохраняться в пятне лишь в течение незначительного времени, всего лишь несколько дней. Антигены же A, B, 0 и H при соответствующих условиях могут сохраняться в пятне крови десятки, сотни и даже тысячи лет.

Выявление антигенов системы AB0(H) производится тремя основными методами: количественный метод абсорбции агглютининов прост, позволяет избежать влияния различных загрязнений предмета-носителя, но недостаточно чувствителен; серологические методы абсорбции-элюции и смешанной агглютинации весьма чувствительны и в основном применяются для установления групповой принадлежности крови в следах малого размера. Эти методы основаны на способности антител α и β абсорбироваться соответствующими антигенами A и B. В качестве недостатка методов абсорбции-элюции и смешанной агглютинации следует отметить необходимость использования при них диагностических сывороток высокой активности, а также тщательного соблюдения всех этапов исследования во избежание появления неспецифических реакций, могущих привести к экспертным ошибкам.

При использовании метода абсорбции в количественной модификации материал пятна приводят во взаимодействие с сыворотками α и β , взятыми в заранее подобранном титре. При наличии в пятнах антигена соответствующие антитела сыворотки соединяются с ним и сыворотка либо теряет способность реагировать с соответствующими эритроцитами (например, сыворотка α не агглютинирует эритроциты группы A), либо значительно понизит свой титр. После абсорбции определяют титр сывороток, и на основании изменения титра судят о присутствии того или другого антитела или их обоих в

пятне крови. Метод требует сравнительно большого количества исследуемой крови.

Реакции абсорбции-элюции и смешанной агглютинации позволяют последовательно в одном и том же материале исследовать антигены нескольких эритроцитарных систем.

Система MNSs имеет девять групп: MNSs, MNs, Ns, Mss, Ms, MS, NSs, MNS и Ns. Вследствие благоприятной частоты распределения среди населения система является весьма информативной для судебно-медицинской групповой идентификации. Установление групповых факторов системы MNSs в пятнах крови сложно в связи с меньшей устойчивостью и сохраняемостью антигенов M, N, S, s в пятнах крови по сравнению с групповыми антигенами системы AB0(H), а также с различной антигенной силой выраженности ее групповых факторов M и N. В настоящее время для выявления антигенов системы MNSs в следах крови довольно успешно применяются методы абсорбции-элюции и смешанной агглютинации с использованием высокоактивных диагностических сывороток.

Система P используется также для определения групповой принадлежности крови. Антиген P недостаточно устойчив к воздействию факторов внешней среды и присутствует в эритроцитах примерно у 70—80 % европейского населения. У разных людей антиген P имеет различную силу выраженности — сильную, умеренную и слабую. Слабый антиген может не выявляться в следах крови либо обнаруживаться лишь в очень свежих пятнах. Сильный антиген P выявляется в следах значительной давности — от 4—5 мес.

Система Льюис (Le) характеризуется четырьмя антигенами — Le (a), Le (b), Le (c), Le (d), причем в крови каждого человека обязательно содержится один из этих антигенов, что обуславливает наличие в этой системе четырех групп крови Le (a+), Le (b+), Le (c+), Le (d+) со средней частотой встречаемости соответственно 25, 60, 12 и 3%.

В качестве особенности этой системы следует отметить ее связь с явлением выделительства групповых антигенов системы AB0(H).

Примерно 85 % людей являются выделителями своих групповых антигенов системы АВ0(Н), в 15% — невыделители. Это значит, что во всех выделениях (сперма, слюна, пот, выделения влагалища, моча) человека, являющегося выделителем, содержится групповой антиген системы АВ0, соответствующий его крови, например антиген А при группе крови А (II). В выделениях человека с этой же группой А (II) крови, но относящегося к невыделителям, антиген А будет отсутствовать либо будет выражен слабо. Деление людей на выделителей и невыделителей групповых антигенов в системе АВ0(Н) позволяет дифференцировать происхождение пятна спермы от двух лиц с одинаковой группой крови, но различающихся по категории выделительства — обнаружение в пятне спермы антигена системы АВ0(Н) позволит исключить его происхождение от лица, являющегося невыделителем группового антигена.

У живых лиц категорию выделительства обычно определяют по выраженности групповых антигенов системы АВ0(Н) в образцах их слюны. У трупов она определяется по трупной крови посредством выделения в ней групповых антигенов системы Льюис. Установлено, что лица с группами Le (b+) и Le (d+) всегда являются выделителями групповых антигенов системы АВ0(Н), а с группами Le (a+) и Le (c+) — невыделителями.

Группы системы Льюис в эритроцитах крови человека формируются довольно поздно, к 6 — 7 годам.

Система резус содержит семь наследуемых антигенов: D, C, C^W, E, d, c, e. Ее антигены в различных сочетаниях образуют около 100 возможных групп крови. В крови резус-положительных людей содержится хотя бы один из антигенов D, C, C^W, E. Резус-отрицательные люди не содержат в крови ни одного из указанных четырех антигенов. Около 85 % всех людей являются резус-положительными и около 15%—резус-отрицательными.

Сывороточные группы. К настоящему времени установлено более десяти сывороточных систем, имеющих сывороточные группы крови. Однако в экспертной практике при исследовании пятен крови применяются лишь три

из них: системы гаптоглобина (Hr), гамма-иммуноглобулина (Gm) и группоспецифического компонента (Gc).

2.7. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЛОС

Для установления принадлежности волос определенному лицу — подозреваемому или потерпевшему, у него изымают образцы волос и направляют их для сравнения судебно-медицинскому эксперту. В качестве образцов направляют волосы с лобной, теменной, височной и затылочной частей головы (с каждой области берут в виде пучка не менее 15—20 волос, срезая их у основания ножницами или вырывая). При необходимости образцы волос могут быть изъяты и с других частей тела — лобка, подмышечных впадин и др.

Принадлежность исследуемого объекта к волосам устанавливается на основании характерного их строения (морфологической картины). В волосе различают корень (часть волоса, находящаяся в коже) и стержень (наружная часть волоса, расположенная над кожей). Корень представляет собой волосяную луковицу, он исследуется в том случае, если волос вырван с корнем. Чаще изучается стержень волоса, в котором различают три слоя. Наружный слой волоса (кутикула) представляет собой черепицеобразно расположенные плоские клетки. Корковый слой состоит из клеток веретенообразной формы, в середине волоса имеется сердцевина. Обнаружение в объекте исследования указанных трех слоев позволяет сделать вывод о том, что он является волосом.

Сердцевина волос человека обычно выглядит в виде тонкого тяжа либо отдельных островков. Она составляет незначительную часть толщины волоса, основная же масса волоса человека представлена корковым веществом. У животных основную массу волоса составляет сердцевина с хорошо выраженным строением. Корковое же вещество волоса животных узкое, свободные края клеток кутикулы несколько отстоят друг от друга, что при микроскопическом исследовании создает впечатление зубчатого края волоса. Особенности строения рисунка кутикулы, образуемого свободными краями клеток ку-

тикулы, и строения сердцевины позволяют различать волосы животных разных видов.

Видовая принадлежность волос может быть установлена с помощью эмиссионного спектрального анализа (по составу элементов).

Для решения вопроса о возможности происхождения волос от определенного субъекта производят сравнение волос, доставленных в качестве вещественных доказательств, и образцов волос проходящих по делу лиц (пострадавших, подозреваемых). При этом изучаются и сравниваются такие особенности волос, как цвет, форма, длина, толщина, наличие и характер сердцевины, особенности периферических и корневых концов, наличие пигмента, его цвет, характер, расположение и др. В этих же целях могут быть использованы и иммунологические исследования — определение групповой принадлежности волос по системе АВ0 (Н) методами абсорбции-элюции и «смешанной» агглютинации. Эти методы позволяют определять групповые антигены системы АВ0 в одном волосе или даже в части волоса длиной 2-3 см.

2.8. СУДЕБНО-ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПОЛОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ СЛЮНЫ И ВОЛОС ПО X-ХРОМАТИНУ

При исследовании вещественных доказательств со следами слюны (окурки папирос, сигарет, заклеенные конверты и др.) и волос, обнаруженных на месте происшествия, на одежде или теле преступника и жертвы, бывает важно решить вопрос: кому принадлежат слюна или волосы — мужчине или женщине.

Определение половой принадлежности слюны возможно по эпителиальным клеткам слизистой полости рта, которые постоянно отделяются и вместе со слюной попадают на различные предметы.

Половую принадлежность волос можно устанавливать при наличии на корневой части волоса наружного корневого влагалища, состоящего из эпителиальных клеток.

Метод установления половой принадлежности слюны и волос основан на исследовании структурного образования в ядрах эпителиальных клеток — X-хроматина (полового хроматина).

X-хроматин в эпителиальных клетках слюны и волос

X-хроматин представляет собой глыбку величиной около 1 микрона, окрашивающуюся ядерными красителями более интенсивно, чем остальные хроматиновые структуры ядра клетки. Располагается он в эпителиальных клетках, главным образом, на внутренней поверхности ядерной оболочки и может иметь треугольную, плосковыпуклую, трапециевидную, V-образную и др. формы; иногда он имеет вид утолщения или зубца ядерной мембраны. При локализации внутри кариоплазмы X-хроматин трудно отличим от других скоплений хроматина, имеющих такой же размер, но не специфичных для пола. Поэтому в целях диагностики половой принадлежности необходимо учитывать хроматиновые глыбки, расположенные только у ядерной мембраны.

У человека X-хроматин выявляется в клетках почти всех органов и тканей, а также в клетках опухолей. Он имеется в различных тканях и органах позвоночных.

X-хроматин состоит из дезоксирибонуклеиновой кислоты. Ныне существующая гипотеза его происхождения сводится к следующим положениям:

— тельце X-хроматина образует одна из X-хромосом, находящаяся в гетеропикнотическом состоянии (инактивация),

— его может образовывать либо материнская, либо отцовская (по происхождению) X-хромосома.

Формирование X-хроматина происходит на ранней стадии эмбрионального развития (у зародыша человека он появляется на 16-й день развития).

Число клеток с X-хроматин-положительным ядром в слизистой рта у женщин, по данным литературы, колеблется от 20 до 79%, при средних значениях — 40-51 %. У мужчин такие ядра встречаются редко — от 0 до 4%.

Различия в получаемых цифрах частоты X-хроматина отражают прежде всего индивидуальные особенности этого признака. Существует также ряд факторов, оказывающих большое влияние на результаты определения частоты: опытность исследователя, техника приготовления и окраски препаратов, а также физиологическое состояние слизистой рта.

В эпителии слизистой рта различают три слоя: базальный, средний (шиповатый) и поверхностный. Базальный слой состоит из небольших клеток цилиндрической формы, с относительно крупными сферическими и овоидными ядрами, богатыми хроматином. В среднем слое размеры клеток увеличиваются, форма их становится полиэдральной (неправильный многогранник). Ядра сферические и овоидные, в верхних рядах — крупные, окрашивающиеся бледно. Поверхностный слой представлен уплощенными полигональными или овальными клетками с дисковидными ядрами. Клетки самых верхних рядов содержат дегенерирующие ядра в состоянии кариопикноза или кариолизиса, реже — кариорексиса. Эти клетки слущиваются в полость рта.

В слюны попадают клетки поверхностного и отчасти среднего слоев, поэтому частота X-хроматина зависит, главным образом, от его количества в поверхностном слое. X-хроматин наиболее часто встречается в клетках нижних рядов этого слоя, а в верхних — его содержание понижается. Это объясняется тем, что регенерация клеток в поверхностном слое осуществляется за счет амитоза, при котором X-хромосома остается в одном из дочерних ядер. Чем выше амитотическая активность, тем больше X-хроматинотрицательных ядер. Как показывают наблюдения, у лиц с «рыхлой» слизистой, что является результатом высокой активности процесса физиологической регенерации, частота X-хроматина в соскобе значительно ниже, чем у лиц с более упругим и менее слущивающимся эпителием слизистой рта.

В корневой части волос различают внутреннее и наружное корневое влагалище, характерные для вырванного, жизнеспособного волоса. Внутреннее — состоит из трех слоев, клетки которых либо ороговевшие, либо содер-

жат гранулы трихогиалина. Они непригодны для цитологического анализа на X-хроматин. Клетки наружного корневого влагалища содержат ядра, в которых X-хроматин выявляется хорошо.

По данным литературы, минимальная частота X-хроматин-положительных ядер у женщин в волосах составляет 20%, у мужчин — максимальная частота 7%.

2.9. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПОДХОДОВ В ИДЕНТИФИКАЦИОННОЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ

Еще до недавнего времени (до середины 80-х) в судебной медицине для идентификации личности использовались в основном серологические методы, основанные на полиморфизме белков человека. Бурное развитие молекулярной биологии позволило применить нуклеотидные последовательности ДНК в качестве индивидуализирующих маркеров.

В настоящее время типирование ДНК является важнейшей составной частью и одним из наиболее мощных методов анализа биологического материала в судебно-медицинских и криминалистических исследованиях. Эффективность расследования судебно-медицинских случаев и ряда преступлений может быть существенно повышена при применении комплекса методик исследования специфических свойств ДНК, выделенной из различных тканей и биологических жидкостей (крови, спермы, слюны, кожи, волосяного покрова и др).

В настоящее время в судебной экспертизе используются два основных типа исследований тандемных повторов: метод ДНК-«дактилоскопии», являющийся фактически методом исследования полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ), и метод, основанный на полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Метод ДНК-«дактилоскопии» был предложен сэром Алеком Джеффрисом (Великобритания). Основные этапы метода ПДРФ:

- 1) выделение ДНК;

- 2) расщепление ДНК на фрагменты с помощью рестрикционных эндонуклеаз;
- 3) электрофорез в агарозном геле длиной более 20 см;
- 4) перенос фрагментов ДНК на нейлоновую мембрану (блоттинг);
- 5) гибридизация фрагментов ДНК, фиксированных на мембране, с олигонуклеотидным зондом, последовательность которого комплементарна тандемному повтору. Могут быть использованы мульти- и однолокусные зонды;
- 6) проявление гибридизовавшихся участков с использованием радиоактивных и нерадиоактивных меток.

В результате такого достаточно трудоемкого исследования при использовании мультилокусного или нескольких однолокусных зондов на каждого человека получается своеобразный отпечаток, подобный штрих-коду. Каждая полоса в этом штрих коде соответствует фрагменту ДНК. Величина анализируемых фрагментов может быть от 1 до 22 тысяч нуклеотидов. Величина гетерозиготности достигает 99%. Поэтому вероятность встречи одинаковой картины у разных людей при исследовании, например, трех локусов ниже 10^8 , т.е. практически исключена. Для получения ДНК-«отпечатков» методом ПДРФ в настоящее время в основном используются монолокусные зонды, с помощью которых анализируются последовательности только на одной паре хромосом.

В связи с высокой точностью идентификации личности метод метки назвали ДНК-«дактилоскопией». С помощью этого метода однозначно доказывается отцовство (материнство), т.к. у каждого индивидуума 50% полос соответствуют отцовским, а другие 50% полос — материнским. Метод ДНК-«дактилоскопии» был впервые использован в Англии в 1985 году. Необходимость использования радиоактивных меток оказалась одним из основных ограничений этого метода в России. Это, как правило, невозможно на базе медицинских учреждений. Методики с использованием нерадиоактивных меток для проявления «отпечатка» имели низкую воспроизводимость и чувствительность при рутинных работах в геномных отделениях. В связи с этими

трудностями метод был незаслуженно исключен из арсенала судебно-медицинских учреждений России и в настоящее время применяется только на базе Краевого бюро СМЭ. В идентификационной экспертизе методом ПДРФ на базе Краевого бюро СМЭ используется разработка компании «Cellmark» (Англия). Проявление «отпечатка» проводится с помощью нерадиоактивного варианта на основе хемилюминисценции. Необходимо отметить, что зонды компании «Cellmark» широко используются во всем мире не только в судебно-медицинских экспертизах, но также в научно-исследовательских работах при изучении популяционных характеристик.

В качестве экспертного материала используют образцы венозной крови человека, сухие пятна крови или спермы, части волосяного покрова, препараты слюны и др. ДНК выделяют различными способами в зависимости от природы исследуемого образца и его количества.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барсегянц Л.О. Установление наличия мочи в пятнах //4-я Всесоюзная конф. судебных медиков.: Труды.- Рига, 1962.— С. 387—391.
2. Барсегянц Л.О. Установление наличия пота в пятнах // Суд.-мед. эксперт.— 1964.— №3.— С. 24—28.
3. Барсегянц Л.О. Установление наличия слюны в пятнах при судебно-медицинских исследованиях // Суд.-мед. экспертиза. — 1960. — № 4. — С. 26-30.
4. Судебная медицина: Учебник / В.Н. Крюков, Л.М. Бедрин, В.В. Томилин и др. Под ред. В.Н. Крюкова.— 3-е изд., перераб. и доп.— М.: Медицина, 1990.— 448 с.
5. Томилин В.В., Гладких А.С. Судебно-медицинское исследование крови в делах о спорном отцовстве, материнстве и замене детей.— М.: Медицина, 1981.— 240 с.
6. Туманов А.К. Сывороточные системы крови.— М.: Медицина, 1978.—230 с.
7. Современные вопросы судебной медицины: Сборник научных работ с междунар.участием, посвящ. 50-лет. Приморского краевого бюро судебно-мед. экспертизы и 40-лет. каф. суд. медицины Владивостокского ГМУ / Под ред. акад. Т.М. Федченко.— Владивосток, 2001.