

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ВСЕРОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО СУДЕБНЫХ МЕДИКОВ

Материалы VI

Всероссийского съезда судебных медиков «ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ И ПРАКТИКИ»

**(Посвященные 30-летию Всероссийского общества
судебных медиков)**



Издательский центр «Академия»
Москва–Тюмень 2005

ных аллелей приведены во втором столбце таблицы 3. Указывая эти размеры с точностью до 1 п. н. мы учитываем, однако, возможность их отличия в пределах нескольких (1-3) пар нуклеотидов внутри каждой аллельной группы из-за возможных нуклеотидных вставок и делеций. Указанные размеры аллелей отличаются от данных, приведенных в работе на 2 п. н. и, на наш взгляд, являются более точными.

Эти данные были нами использованы как опорные параметры для определения основных характеристик полиморфизма локуса D1S11 в репрезентативной выборке российской популяции.

Всего было обследовано более 1000 человек из разных регионов Российской Федерации преимущественно русской национальности (по паспортным данным). По своему составу это была выборка русских с включенными мигрантами из других популяций, которую можно охарактеризовать как выборку из гетерогенной популяции. В ходе настоящего исследования общая обследованная выборка была разбита на две группы. Первая группа (далее по тексту – выборка 1) была составлена из числа фигурантов судебно-медицинских экспертиз, назначенных в Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения г. Москвы в 1999-2003 годах (594 неродственных человека). Вторая группа (далее по тексту – выборка 2), объемом в 545 неродственных человек, была сформирована из числа фигурантов судебно-медицинских экспертиз, назначенных в Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава России в 2001-2004 годах.

В качестве биологического материала для анализа использовали образцы периферической крови обследуемых лиц.

Для амплификации аллелей локуса D1S11 использовали праймерную систему, описанную в работе [5]. Разделение продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществляли в 1,5-2% агарозных гелях с последующей окраской бромистым этидием.

Аллельные варианты локуса D1S11 идентифицировали по внешним стандартам молекулярных масс двумя разными методами.

Для выборки 1 в качестве стандарта прямого соответствия использовали искусственно синтезированную «псевдоаллельную лестницу», содержащую 17 негомологичных фрагментов ДНК длиной от 381 до 973 п. н., с шагом в 37 п. н. Эти фрагменты по размеру соответствуют аллелям 9-25 минисателлита D1S11.

Аллельные варианты локуса D1S11 для выборки 2 определяли другим методом: не непосредственным поиском прямого соответствия по размеру, а опосредованно, расчетным путем с помощью аппаратно-программной системы Kodak EDAS 120 (Кодак, США) с использованием в качестве маркера ДНК pBR322/AluI. Для вероятностно-статистического анализа данных были использованы компьютерные програм-

мы RxC (G. Carmody, Ottawa, Канада), Arlequin [6], и PowerStats.

В табл. 4 представлено распределение наблюдавшихся генотипов в двух исследованных выборках. В каждой выборке было выявлено около 40% генотипов от общего числа возможных. При этом для обеих выборок наиболее частыми оказались три генотипа: гетерозиготы 15-18, а также гомозиготы 18-18 и 15-15.

Таблица 4

Распределение наблюдавшихся генотипов локуса D1S11 в двух исследованных популяционных выборках

Аллели	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
9				2			5		1	8	8		4	1			
10				3		1	2			3			2				
11							2		1	2					1		
12	3	4			1	1	43			40	16	5	6	2	1		1
13		1	1	2			1			2	2						
14	1			1			2		1								
15	8	4	1	44	2	2	52	1	10	88	38	4	6	7	1	2	1
16							2		1	1	5	1	1	2	1		
17	2	1		4			4			7	3				1		
18	7	4	3	43	2	4	144	8	10		23	2	7	8			1
19	2						17		1	13			1		4		1
20		1		1		1	1		1	2	1						
21	2	1					6	1	7	2							
22		2		3			7			6			1				
23							1		1					1			1
24					1					1			1				
25							1		1								
26										1							

Под выделенной серым цветом диагональю таблицы приведено распределение генотипов для выборки 1, над диагональю – распределение генотипов для выборки 2.

Всего нами было выявлено 18 аллелей, содержащих от 9 до 26 повторов (см. табл. 3). Наиболее распространенными оказались аллели 15 и 18, частота наблюдений которых превысила 0,33 в выборке 1 и 0,28 в выборке 2. Примечательно, что в ходе настоящего исследования было выявлено 4 новых, то есть не описанных ранее, высокомолекулярных аллелей для этого маркера: это аллели с 23 (901 п. н.) по 26 (1012 п. н.). При этом аллель 26 наблюдался только один раз в гетерозиготном состоянии в выборке 1.

Значения основных популяционных характеристик локуса D1S11 для обеих исследованных выборок приведены в табл. 5. По этим данным, информативность D1S11 для исследованной выборки превышает или сравнима с информативностью таких минисателлитов, как IL1RN-VNTR, RB1-VNTR, IgH-5'VNTR, D17S5, но уступает таким индивидуализирующим системам как D1S80 и APOB-3'VNTR.

Количественная оценка степени различий распределения аллелей и генотипов между двумя исследованными выбор-

Таблица 3

Распределение аллелей локуса D1S11 в двух исследованных выборках.

Аллель	Размер, п. н.	Выборка 1		Выборка 2	
		Число наблюдений	Частота аллеля	Число наблюдений	Частота аллеля
9	383	27	0,023	33	0,030
10	420	18	0,015	11	0,010
11	457	5	0,004	6	0,006
12	494	131	0,110	139	0,128
13	531	10	0,008	6	0,006
14	568	11	0,009	5	0,005
15	605	402	0,338	317	0,291
16	642	12	0,010	15	0,014
17	679	22	0,019	23	0,021
18	716	447	0,376	310	0,284
19	753	43	0,036	149	0,137
20	790	10	0,008	13	0,012
21	827	21	0,018	26	0,024
22	864	20	0,017	24	0,022
23	901	3	0,003	6	0,006
24	938	3	0,003	3	0,003
25	975	2	0,002	4	0,004
26	1012	1	0,001	0	0
Суммарно		1188	1,000	1090	1,003

Значения основных параметров прикладной информативности локуса D1S11 в двух исследованных выборках

Оценочный параметр	Выборка 1	Выборка 2
Объем выборки, человек	594	545
Число выявленных аллелей	18 (9 – 26)	17 (9 – 25)
Число наблюдавшихся генотипов из общего числа возможных, (%)	66 из 171 (39%)	65 из 153 (42%)
Наблюдаемая гетерозиготность	0,685	0,732
Ожидаемая гетерозиготность (несмещенная оценка)	0,729 ± 0,008	0,797 ± 0,006
Вероятность случайного совпадения генотипов, рМ	0,116	0,071
Дискриминирующий потенциал	0,884	0,929
Потенциал исключения отцовства	0,406	0,480
Усредненный индекс отцовства	1,59	1,87
Индекс полиморфизма	0,69	0,77

ками, и по сравнению с другими данными, не являлась предметом настоящего исследования. Эта работа нами проводится и данные будут опубликованы отдельно.

Тем не менее, на качественном уровне отметим следующее.

Распределение аллелей в целом оказалось весьма сходным в обеих выборках, за исключением двух моментов. В-первых, для самого распространенного в выборке 1 аллеля 18 частота наблюдений в выборке 2 оказалась существенно ниже (0,376 против 0,284). Во-вторых, аллель 19 в выборке 2 наблюдался в 3,8 раза чаще по сравнению с выборкой 1 (0,137 против 0,036). Кроме этого, что уровень полиморфизма для выборки 2 оказался существенно выше по сравнению с выборкой 1.

Наиболее вероятное объяснение этому заключается в том, что при электрофоретическом определении размеров амплифицированных фрагментов по нелокусному внешнему высокомолекулярному стандарту ДНК рBR322 / AluI имеет место системная ошибка. При этом аллель 18 (716 п. н.) может ошибочно определяться как аллель 19 (753 п. н.).

Это объяснение выглядит достаточно убедительным в свете ранее полученных в работе [12] данных, касающихся изучения свойств гетерологичных маркерных систем применительно к фрагментному анализу ДНК, а именно, что определение размеров амплифицированных фрагментов по нелокусным внешним стандартам ДНК как в агарозных, так и в полиакриламидных гелях сложным образом зависит от экспериментальных условий и может быть некорректным в определенных диапазонах длин. Тем не менее прояснение этого вопроса требует отдельных исследований, которые нами сейчас проводятся.

Для проверки соответствия наблюдавшегося распределения генотипов локуса D1S11 в обеих исследованных выборках равновесию Харди-Вайнберга (РХВ) использовались три различных статистических теста. Надо заметить, что в настоящее время для такого рода проверок используются различные статистические тесты. Однако выявление возможных (особенно – незначительных) отклонений весьма затруднительно при большом числе нулевых или уникальных классов наблюдений, что имеет место и в нашем случае. Для мини- и микро- сателлитных локусов в последнее время стандартной практикой является использование точных (вероятностных) тестов, и в первую очередь критерия Фишера, который в такой ситуации является наиболее мощным среди достоверных критериев.

По результатам всех тестов, наблюдавшееся распределение генотипов только для исследованной выборки 1 не отклонялось от РХВ. Для выборки 2 наблюдались определенные отклонения, которые в настоящее время являются предметом дополнительных исследований. Возможно, что эти отклонения, так же как и отмеченный выше дисбаланс численных значений полиморфизма между выборками, обусловлены именно тем, что использованному при исследовании выборки 2 методу идентификации амплифицированных аллелей присуща определенная системная ошибка.

Результаты этих дополнительных исследований будут опубликованы отдельно.

МОРФОЛОГИЯ ИНТРАМУРАЛЬНЫХ НЕРВНЫХ СТРУКТУР ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЭТАНОЛОМ

Жихорев В. И. (Ижевск)

Диагностика отравлений этанолом на современном этапе не является однозначной и представляет определенные затруднения в связи с недостаточной полной разработкой ряда аспектов пато- и танатогенеза. Среди них, в первую очередь, следует указать на различную степень алкогольной резистентности, что делает в некоторых случаях несостоятельность ссылки на количественное содержание этанола в жидких средах организма. С этих позиций важное значение для правильной оценки особенностей пато- и танатогенеза в каждом конкретном случае отравления этиловым алкоголем приобретает разработка новых морфологических критериев данного вида смерти. Учитывая нередкость сочетания отравлений этанолом с проявлениями различной степени выраженности ишемической болезни сердца (ИБС), следует обратить внимание на исследование интрамуральной нервной системы сердца (ИМНС) для получения более полных и объективных комплексов диагностических критериев.

С этой целью нами изучены различные отделы интрамуральной нервной системы. Специальному исследованию подвергли интрамуральные нервные образования: нервные волокна и узлы области синусового узла, межжелудочковой перегородки, передней и задней стенок левого и правого желудочков сердца.

Особенности изменений в интрамуральной нервной системе при остром отравлении этиловым алкоголем и умерших от ИБС изучено в одинаковых возрастных группах (от 25 до 65 лет). Используются обзорные, гистохимические, нейростологические методы окраски микропрепаратов, а также гистометрия. Примененная комплексная методика обработки препаратов дала возможность в каждом конкретном случае изучить морфологические изменения ткани сердца и нервных структур (НС.) его в различных отделах.

В контрольной группе наблюдений (смерть от ИБС) в ИМНС выявлены различные по характеру, локализации и степени выраженности изменения, зависящие от нозологической формы, длительности заболевания и последнего приступа. Таким образом, при ишемической болезни сердца в ИМНС обнаружены патоморфологические изменения нервных структур, которые подразделялись на дистрофические, реактивные и единичные компенсаторные.

Дистрофические изменения нервных элементов выявлены преимущественно в мягкотных волокнах в равной степени во всех отделах ИМНС. Среди дистрофических изменений следует отметить нарушение в распределении и изменении агрегатного состояния фосфолипидов, жирных кислот и мукополисахаридов. Отмечены также признаки склеивания нейрофибрилл, глыбчатый распад ядер, вакуолизация и фрагментация нервных волокон.

Особый интерес представлял анализ реактивных изменений нервных элементов, степень выраженности которых