

# Genetyka

+prawo

KWARTALNIK NAUKOWY ZAKŁADU GENETYKI MOLEKULARNEJ I SĄDOWEJ  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika ■ Collegium Medicum ■ Katedra Medycyny Sądowej



**KATEDRA  
MEDYCYNY SĄDOWEJ**  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika  
Collegium Medicum

## Fauna nekrofilna

Świetlana przyszłość entomologii sądowej.  
Jak wymiar sprawiedliwości wykorzystuje owady?

## Drodzy Czytelnicy!

Oględziny miejsca zdarzenia można bezsprzecznie uznać za kluczowy etap każdego postępowania, którego powodzenie zależy od sumienności i rzetelności zaangażowanych w nie osób. Dla przykładu – rolą specjalisty medycyny sądowej wezwanego do przeprowadzenia oględzin ujawnionych zwłok jest wyjaśnienie przyczyn, a niekiedy również rekonstrukcja okoliczności, w jakich mogło dojść do zgonu. Doświadczonego profesjonalistę udzielenie odpowiedzi na większość pytań zazwyczaj nie przysparza problemów, jednak w przypadku rozkładu zwłok określenie choćby przybliżonego czasu śmierci tradycyjnymi metodami może się okazać zupełnie niemożliwe. W takich sytuacjach przed naruszeniem dowodów należy rozważyć powołanie biegłych z dziedziny pokrewnych, np. entomologów. O kulisach pracy entomologa sądowego, szerokich możliwościach i ograniczeniach tej nauki w naszym kraju opowiada dr Szymon Matuszewski z Wydziału Prawa i Administracji Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Więcej informacji o aktualnych postępach w tej dziedzinie znajdują Państwo w rubryce „Metody badawcze”, w której zamieściliśmy również krótkie podsumowanie spotkania Europejskiego Stowarzyszenia Entomologii Sądowej, które odbyło się w kwietniu br. w Toruniu.

Przy założeniu, że oględziny miejsca zdarzenia przebiegły pomyślnie, zabezpieczone w ich toku ślady trafiają do biegłych o różnych specjalnościach. Jak przekonają się Państwo z lektury tekstu „Czytanie z plam”, umiejętności i warsztat różnych biegłych nie stoją na jednakowym poziomie. Wspomniane w artykule ślady nasienia nie są może najprostsze do ujawnienia, jednak świadomość możliwych ograniczeń powinna skłaniać osoby przeprowadzające oględziny do wykorzystania wszystkich dostępnych narzędzi, aby jakość wydanej ekspertyzy nie budziła najmniejszych wątpliwości.

Podłoże niepowodzenia w analizie śladów biologicznych czy wręcz wydania błędnej ekspertyzy może być jednak zupełnie inne. W 2004 r. świat obiegła informacja zamieszczona w magazynie „Science” dotycząca niskiej jakości baz danych profili mitochondrialnego DNA (mtDNA). Podczas przeglądu danych z bazy FBI, przeprowadzonego z wykorzystaniem metod filogenetycznych, okazało się bowiem, że sekwencje z niektórych rekordów zostały zupełnie pomieszane. Wywołało to szeroką dyskusję na temat populacyjnych baz danych i bez wątpienia przyczyniło się do poprawy ich jakości. Mimo to błędy w analizach mtDNA wciąż się zdarzają, zwłaszcza w ekspertyzach mało doświadczonych laboratoriów. Dlaczego? O odpowiedź na to i inne pytania dotyczące analizy najbardziej „wymagającej” cząsteczki – mtDNA – poprosiliśmy światowej klasy specjalistę z zakresu genetyki populacyjnej i sądowej, prof. Antonio Salasa z Uniwersytetu Santiago de Compostela (Hiszpania), współautora wspomnianego doniesienia z 2004 r. Okazuje się po raz kolejny, że teoretyczna wiedza z zakresu genetyki ewolucyjnej jest nie do przecenienia również w praktycznym wykorzystywaniu mtDNA dla celów sądowych.

**Prof. dr hab. Tomasz Grzybowski**  
Kierownik Katedry Medycyny Sądowej  
oraz Zakładu Genetyki Molekularnej i Sądowej  
Collegium Medicum UMK

## \* Spis treści

3-4

### NOWOŚCI W GENETYCE SĄDOWEJ

Przewrót kopernikański w badaniach mtDNA  
Nowa metoda określania czasu zgonu  
Jadowity problem  
Komu służy kokaina

5-7

### WYWIAD NUMERU

Ten trudny mtDNA

- Już niebawem będziemy analizować całe sekwencje genomów mitochondrialnych dla potrzeb genetyczno-sądowych  
- przewidyuje Antonio Salas, prof. Uniwersytetu Santiago de Compostela w Hiszpanii.

8-10

### CIEKAWY PRZYPADKI

Czytanie z plam

Ile można wyczytać ze śladów na odzieży ofiary gwałtu? W opisanym przypadku plamy i ich dokładna analiza okazały się kluczowe.

11-13

### 5 PYTAŃ DO...

Fauna nekrofilna

O tym, czym jest i jak duże znaczenie ma entomologia sądowa, rozmawiamy z dr. Szymonem Matuszewskim.

14-15

### METODY BADAWCZE

Co nowego w molekularnej entomologii sądowej?

W dniach 18-21 kwietnia 2012 r. w Toruniu po raz pierwszy w Polsce odbyło się spotkanie Europejskiego Stowarzyszenia Entomologii Sądowej (European Association for Forensic Entomology, EAFE).

**WYDAWCA:**  
Zakład Genetyki Molekularnej i Sądowej  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Collegium Medicum

**REDAKTOR WYDANIA:**  
Tomasz Grzybowski

**ZESPÓŁ REDAKCYJNY:**  
Urszula Rogalla, Rafał Skowronek,  
Marcin Woźniak

Foto na okładce: archiwum dr. Szymona Matuszewskiego  
Zostały podjęte wszelkie środki, aby zawarte w publikacji informacje były dokładne i aktualne w dniu oddania do druku. Rozpowszechnianie materiałów redakcyjnych bez pisemnej zgody wydawcy jest zabronione.  
Copyright © 2012 ZGMiS, wszelkie prawa zastrzeżone.

**REDAKCJA, PROJEKT GRAFICZNY, REKLAMA, PRODUKCJA:**  
Novimedia Sp. z o. o. (Novimedia jest częścią  
Wydawnictwa Zwierciadło) www.novimedia.pl  
(Zespół – Dyrektor Zarządzający: Monika MACIĄG, Szef Redakcji:  
Angelika KUCIŃSKA, Szef Studia Graficznego: Diana BOROWSKA,  
Senior Art Graphic: Paweł RYGOL, Wydawca: Angelika KUCIŃSKA,  
Korekta: Elżbieta WOŹNIAK, Fotoedycja: Piotr BARTOSZEK,  
Produkcja: Michał SEREDIN).

**NOVIMEDIA**

Copyright © 2012 Novimedia Sp. z o. o., wszelkie prawa zastrzeżone.

## \* Przewrót kopernikański w badaniach mtDNA?

Genetycy populacyjni wytypowali nową sekwencję referencyjną. Co to znaczy dla genetyki sądowej?

Analizy DNA mitochondrialnego (mtDNA) dla celów sądowych wymagają punktu odniesienia, czyli tzw. sekwencji referencyjnej, względem której porównuje się profile mtDNA badanych próbek. Jak dotąd wszystkie wyniki porównywano względem tzw. sekwencji referencyjnej Andersona (rCRS), będącej pierwszą poznaną w całości cząsteczką mtDNA, opisaną w 1981 r. Niektórzy genetycy wskazywali jednak na konieczność zmiany układu odniesienia na taki, w którym uzyskiwane wyniki byłyby porównywane do najstarszej znanej, w pewnym sensie pierwotnej sekwencji. Tymczasem rCRS uzyskano od osoby pochodzenia europejskiego, reprezentującej powstałą stosunkowo niedawno (w sensie ewolucyjnym) grupę cząsteczek mtDNA, tzw. haplogrupę H2a2a1. Rodzi to pewne problemy interpretacyjne, np. trudności w odróżnieniu stanu

**W przewrocie pomogła analiza genomów mitochondrialnych neandertalczyków**

pierwotnego od mutacji. W kwietniowym numerze jednego z najwyżej punktowanych czasopism naukowych z zakresu genetyki – „The American Journal of Human Genetics” – znalazł się artykuł, którego autorzy zdecydowali się wytypować nową sekwencję referencyjną, tzw. RSRS. Została ona zrekonstruowana na podstawie analizy dużej liczby pełnych genomów mitochondrialnych ludzi współczesnych (*Homo sapiens sapiens*) i neandertalczyków (*Homo neanderthalensis*). Wprowadzenie w życie tej

idei może spowodować duże zamieszanie w genetyce sądowej (i nie tylko), gdyż będzie pociągało za sobą całkowitą zmianę sposobu zapisu wyników badań mtDNA. Czas pokaże, czy pomysł przyjmie się w międzynarodowym środowisku naukowym... ■

Behar i wsp. 2012. A „Copernican” Reassessment of the Human Mitochondrial DNA Tree from its Root. Am J Hum Genet 90:675–684.

## \* Nowa metoda określania czasu zgonu



Foto: Hermann Schaaflhausen, Shutterstock

**Dokładne określenie czasu zgonu jest jedną z podstawowych informacji pozwalających śledczym zawęzić krąg podejrzanych i weryfikować ich alibi. Który ze sposobów gwarantuje największą dokładność?**

Zadanie oszacowania czasu, który upłynął od chwili śmierci danej osoby, spoczywa na barkach medyka sądowego obecnego podczas oględzin zwłok. Istnieje kilka mniej lub bardziej precyzyjnych metod pozwalających określać czas zgonu, wśród których najczęściej wymienia się ocenę zmian pośmiertnych i pomiar temperatury dokonywany zazwyczaj w odbyciu denata. W przypadku upływu ledwie kilkudziesięciu czy kilkuset minut od śmierci metody te jednak są mniej precyzyjne. Stąd zrodził się pomysł, aby do pomiaru temperatury wykorzystywać gałki oczne, których temperatura nie jest zależna ani

od masy ciała, ani ubioru zmarłej osoby, jak ma to miejsce w metodach standardowych. Pierwsze badania prowadzono na świniach, a zachęceniu powodem badaczce zdecydowali się ostatnio wykorzystać ich wyniki w praktyce sądowo-lekarskiej. Okazało się, że temperatura gałki ocznej spada znacznie szybciej niż odbytu i nie obserwuje się w tym przypadku tzw. efektu plateau (fazy opóźnienia spadku temperatury w początkowym okresie stygnięcia pośmiertnego), który znacznie zaburzał wyniki szacunków opartych na pomiarach temperatury w odbycie. Przekształcenie wzoru znanego z Newtonowskiego prawa stygnięcia pozwoliło szacować czas zgonu z dokładnością do 30 min. ■

Kalisan M. 2012. First practical applications of eye temperature measurements for estimation of the time of death in casework. Report of three cases. Forensic Sci Int doi:10.1016/j.forsciint.2011.11.027.

# \* Jadowity problem

Jad węży jest, obok kości słoniowej, najczęściej przemycanym towarem pochodzenia zwierzęcego. Swoją popularność zawdzięcza rzekomym właściwościom regeneracyjnym i przeciwmarszczkowym docenianym przez kobiety na całym świecie.



Jego pozyskiwanie wiąże się jednak z uśmiercaniem zwierząt, co interesuje wymiar sprawiedliwości w przypadkach gatunków chronionych. W majowym „Journal of Forensic Sciences” opisano przypadek, który zdarzył się w Indiach i dotyczył zabezpieczenia od podejrzanych skór węży oraz kryształów substancji mogącej potencjalnie być liofilizowanym jadem. Próbkę trafiły do laboratorium genetycznego, w którym po nietypowej, choć skutecznej izolacji DNA zdecydowano o zbadaniu części mitochondrialnego DNA kodującej tzw. cytochrom b – gen od dawna wykorzystywany w analizie pochodzenia gatunkowego. Znalezione kryształy faktycznie okazały się być jadem kobry indyjskiej (*Naja naja*) – bardzo jadowitego gatunku, w Indiach objętego ochroną. W obliczu tych doniesień – co rzadkie – wszczęto postępowanie przeciw zatrzymanym kłusownikom.

Singh i wsp. 2012. Species Identification from Dried Snake Venom. *J Forensic Sci* doi:10.1111/j.1556-4029.2011.02049.x.

# \* Komu służy kokaina

Kokaina jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych narkotyków, a jako silny stymulant układu nerwowego od lat stanowi przedmiot wielu badań naukowych.

Ostatnio zespół badaczy z Brazylii, zachęcony wynikami opublikowanymi dla innych substancji chemicznych, postanowił ocenić, czy kokaina może mieć wpływ na tempo rozwoju larw much plujek. W eksperymencie zastosowano jednak szczególne warunki... Pięciu królikom podano kokainę w ilości dwukrotnie przekraczającej dawkę śmiertelną, a kolejnym pięciu (grupie kontrolnej) roztwór soli fizjologicznej. Wszystkie zwierzęta poddano sekcji zwłok, a fragmenty ich wątroby wyekspozowano na larwy dwóch gatunków much – *Chrysomya putoria* i *Chrysomya albiceps*. Larwy, które zasiedliły organy, ważono dziewięciokrotnie w sześciogodzinnych odstępach. Okazało się, że larwy obu gatunków rozwijają się szybciej, żerując na wątrobach pochodzących od królików, którym podano kokainę. Największe różnice widoczne były 12 godzin po kolonizacji. Wydaje się więc, że opisanie tego zjawiska może mieć istotny wkład w badania nad oceną czasu zgonu na podstawie dowodu z analiz entomologicznych.

de Carvalho i wsp. 2012. The effect of cocaine on the development rate of immatures and adults of *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) and its importance to postmortem interval estimate. *Forensic Sci Int* 220: 27–32.



**Badania wykazały, że kokaina przyspiesza tempo rozwoju larw much plujek**

Opracowanie: Urszula Rogalla

# Ten trudny mtDNA...

- Już niebawem będziemy analizować całe sekwencje genomów mitochondrialnych dla potrzeb genetyczno-sądowych – przewiduje Antonio Salas, prof. Uniwersytetu Santiago de Compostela w Hiszpanii.

Tomasz Grzybowski

**Polimorfizm DNA mitochondrialnego (mtDNA) jest wykorzystywany w szerokim zakresie przez genetyków populacyjnych i sądowych od ponad trzech dekad. Czy mógłby Pan wskazać obszary genetyki sądowej, w jakich ma zastosowanie analiza mtDNA?**

Prof. Antonio Salas

Genom mitochondrialny pełni kilka ról w genetyce sądowej. Być może najważniejszą jest możliwość badania próbek silnie zdegradowanych i takich, które cechuje niskie stężenie DNA. Wynika to z faktu, że mtDNA jest obecny w komórkach eukariotycznych w tysiącach identycznych kopii, podczas gdy DNA jądrowy występuje w zaledwie dwóch kopiach (chromosomy autosomalne), a nawet tylko w jednej (chromosomy X i Y u mężczyzn).

Analiza mtDNA jest istotna także wówczas, kiedy dostępnym materiałem są łodygi włosów, gdyż próbki te nie zawierają DNA jądrowego w ilościach wykrywalnych standardowymi metodami. Należy pamiętać, że włosy bez cebulek należą do najczęściej ujawnianych śladów biologicznych na miejscu przestępstwa.



**DNA mitochondrialny pełni kilka ról w genetyce sądowej – przydaje się w badaniach próbek zdegradowanych i tych o niskim stężeniu DNA**

**MITOCHONDRIALNY DNA MOŻE BYĆ UŻYTECZNYM MARKEREM W USTALANIU POKREWIEŃSTWA ZE WZGLĘDU NA SZCZEGÓLNY MODEL DZIEDZICZENIA PO KĄDZIELI. WŁAŚCIWOŚĆ TA MOŻE ZOSTAĆ WYKORZYSTANA JAKO UZUPEŁNIENIE INNYCH TESTÓW GENETYCZNO-SĄDOWYCH.**

Mitochondrialny DNA może być również użytecznym markerem w ustalaniu pokrewieństwa w linii matczynej ze względu na szczególnie model dziedziczenia po kądzieli. Właściwość ta może zostać wykorzystana jako uzupełnienie innych testów genetyczno-sądowych, zwłaszcza jeśli w grę wchodzi dalekie pokrewieństwo, w przypadku którego nawet badanie całego genomu jądrowego mogłoby się okazać bezużyteczne. Analiza mtDNA jest wreszcie bardzo pomocna przy identyfikacji gatunkowej. Ma to związek z faktem wykorzystywania przez genetyków

**Analiza mtDNA jest istotna, gdy dostępnym materiałem są łodygi włosów – jeden z najczęstszych śladów pozostawianych na miejscu przestępstwa**



śmiennictwie i bazach danych, nie pozostając bez wpływu nie tylko na genetykę sądową, ale również na genetykę kliniczną i populacyjną. Prześledziliśmy rodzaje błędów w sekwencjach uzyskanych na przestrzeni ostatnich 15 lat. Chociaż metody zostały znacznie udoskonalone, nadal wielu błędów nie udaje się uniknąć. Problemy te mogą mieć istotne konsekwencje, jeśli dotyczyć będą rutynowych badań z zakresu genetyki sądowej lub genetyczno-sądowych baz danych. Należy mieć na uwadze, że bazy danych obejmujące sekwencje mtDNA czy szerzej – badania mtDNA w ogóle – używane są do potwierdzania winy lub niewinności i każdy błąd może prowadzić do uniewinnienia przestępcy lub, co gorsza, skazania osoby niewinnej.

Tomasz Grzybowski

**W jaki sposób perspektywa filogenetyczna i ewolucyjna mogą być przydatne do weryfikacji jakości sekwencji mtDNA w genetyce sądowej?**

Prof. Antonio Salas

Zamiast udzielać bezpośredniej odpowiedzi na to pytanie, chciałbym streścić sytuację, w której sam zdałem sobie sprawę, że filogenetyka, dziedzina bardziej teoretyczna, może być istotna z punktu widzenia genetyki sądowej, która jest nauką doświadczalną. Od 15 lat byłem związany z badaniami popula-

ewolucyjnych genów mitochondrialnych do badań nad zależnościami ewolucyjnymi między gatunkami. Działalność ta przyczyniła się do utworzenia dużych, powszechnie dostępnych baz danych (takich jak GenBank), które pozwalają obecnie porównywać mtDNA z próbek dowodowych z profilami mitochondrialnymi próbek zdeponowanych w bazach, uzyskanymi wcześniej z setek różnych znanych organizmów.

Tomasz Grzybowski

**Czy nazwałby Pan analizę mtDNA dla celów sądowych szczególnym wyzwaniem w porównaniu z innymi metodami profilowania DNA? Skąd biorą się błędy w danych uzyskiwanych z mtDNA?**

Prof. Antonio Salas

Doświadczenie podpowiada nam, że analiza DNA mitochondrialnego jest znacznie trudniejsza niż stosowanie jakichkolwiek innych metod w genetyce sądowej. Wynika to z faktu wykorzystywania – w głównej mierze – sekwencjonowania do analizy mtDNA, podczas gdy pozostałe markery genetyczne badane są prostszymi metodami. Co więcej, komponent mitochondrialny genomu danej

**BAZY DANYCH OBEJMUJĄCE SEKWENCJE mtDNA CZY SZERZEJ – BADANIA mtDNA W OGÓLE – UŻYWANE SĄ DO POTWIERDZENIA WINY LUB NIEWINNOŚCI I KAŻDY BŁĄD MOŻE PROWADZIĆ DO UNIEWINNIENIA PRZESTĘPCY LUB, CO GORSZA, SKAZANIA OSOBY NIEWINNEJ.**

osoby może być złożony w tym sensie, że nie wszystkie kopie mtDNA w jednym organizmie są zawsze jednakowe. Może istnieć pewna zmienność nawet w obrębie jednej tkanki (np. między łodygami włosowymi), co nazywane jest heteroplazmą.

Analiza wyników sekwencjonowania DNA mitochondrialnego jest na tyle skomplikowana, że nie może zostać zautomatyzowana w prosty sposób. Dlatego trudno dokumentować i przechowywać dane o różnicowaniu sekwencji, a tworzenie baz danych może okazać się koszmarem. Wspomniana złożoność doprowadziła do akumulacji pewnej liczby błędów w pi-

cyjnymi i ewolucyjnymi. Z czasem byłem coraz bardziej zainteresowany łączeniem różnych dziedzin nauki. W rzeczywistości nie postrzegam siebie jako modelowego genetyka sądowego, ponieważ istotną część mojego czasu poświęcam projektom niezwiązanym ani z mtDNA, ani z naukami sądowymi. Ale, ogólnie rzecz ujmując, pomogło mi to spojrzeć na DNA mitochondrialny z szerszej perspektywy, która nie jest typowa dla genetyki sądowego (tak przynajmniej było 10 lat temu). Co więcej, współpracowałem z matematykami, genetykami, klinicystami, informatykami itd. w czasie tych ostatnich kilku lat i to pomogło mi otworzyć się na naukę, również w odniesieniu do

nauk sądowych. W połączeniu z dużym wpływem wielu wybitnych naukowców, szczególnie mojego kolegi z Niemiec, prof. Hansa Jürgena Bandelta, pozwoliło mi to uświadomić sobie, że sztuczna zmienność odzwierciedlona w sekwencjach wyraźnie różni się od zmienności będącej wynikiem działania natury, tzn. wygenerowanej przez mutacje i dziedziczenie. Jeśli więc ktoś chce wyłapywać błędy w sekwencjach mtDNA, musi tylko porównać wyniki uzyskane w laboratorium z mutacjami przedstawionymi w globalnym drzewie filogenetycznym mtDNA. Kiedy istnieją oczywiste różnice, można założyć z dużą dozą pewności, że są wynikiem błędów w odczycie sekwencji. W większości przypadków rozbieżno-

Prof. Antonio Salas

Nie ulega wątpliwości, że udostępnianie dużej liczby pełnych genomów mitochondrialnych miało znaczący wpływ na poszerzenie naszej wiedzy o globalnej zmienności mtDNA. W pewien sposób wskazuje to na przyszłość genetyki sądowej w zakresie badania DNA mitochondrialnego. Już niebawem będziemy analizować całe sekwencje genomów mitochondrialnych dla potrzeb genetyczno-sądowych. W ten sposób uzyskamy najwyższą możliwą rozdzielczość (i siłę dyskryminacji) dla wspomnianej cząsteczki w kryminalistyce i sprawach identyfikacyjnych.



**Sekwencjonowanie drugiej generacji jest przyszłością genetyki sądowej**

ści te wynikają z pomyłek drukarskich, ale także z zanieczyszczeń w laboratorium, pomylenia próbek itd. Nietrudno zatem wyobrazić sobie użyteczność filogenetyki molekularnej w genetyce sądowej. W gruncie rzeczy mamy tu do czynienia z unikalnym markerem pozwalającym wskazywać błędy w niezwykle przejrzysty sposób. Genetyka populacyjna jest również bardzo przydatna do zrozumienia zmienności populacji ludzkiej. Należy pamiętać, że badania dla celów genetyczno-sądowych nie tylko obejmują konkretne próbki pobrane na miejscu zdarzenia, ale także odnoszą się do populacji referencyjnej, w której do tego zdarzenia doszło. Nie jest możliwe właściwe wnioskowanie o wyniku badania mtDNA bez kontekstu populacyjnego.

Tomasz Grzybowski

**Czy wzrost liczby pełnych genomów mitochondrialnych dostępnych w piśmiennictwie i bazach danych daje jakąś korzyść dla środowiska genetyków sądowych?**

Tomasz Grzybowski

**Jakie są Pańskie przewidywania co do rozwoju technik analizy mtDNA dla celów sądowych?**

Prof. Antonio Salas

Wszyscy zacznijmy stosować nowe procedury analizy mtDNA związane z tzw. sekwencjonowaniem następnej generacji (NGS, ang. Next Generation Sequencing), być może drugiej lub trzeciej. Techniki te są obecnie powszechnie stosowane w badaniach z zakresu genetyki medycznej, chociaż już mają pewien wkład w badania populacyjne i ewolucyjne. Niektóre laboratoria testują ich użyteczność dla analiz próbek z miejsc zdarzenia, jednak wciąż nie udaje się przezwyciężyć niektórych problemów. Dla przykładu – techniki te nadal są stosunkowo kosztowne. Co więcej, NGS wymagają DNA dobrej jakości, co jest praktycznie nieosiągalne w większości przypadków badanych przez genetyków sądowych. I wreszcie należy jeszcze poświęcić wiele czasu na standaryzację wspomnianych technik w zakresie ich dokładności na

poziomie wymaganym w badaniach sądowych. NGS są tak dokładne jak standardowe metody sekwencjonowania, ale jedynie wówczas, kiedy dysponujemy DNA dobrej jakości – kiedy materiał jest zdegradowany, ich wyniki pozostawiają na razie wiele do życzenia. Przewiduję ponadto, że powstanie wiele nowych aplikacji bioinformatycznych dla przetwarzania i przechowywania danych. Pojawią się również zapewne nowe podejścia statystyczne dotyczące tempa mutacji i heteroplazmii. MtDNA może również stać się użytecznym narzędziem w sprawach gwałtów, w momencie, kiedy dopracowane zostaną techniki sekwencjonowania nowej generacji.

**\* BIOGRAM**  
PROF. ANTONIO SALAS



Profesor Uniwersytetu Santiago de Compostela w Hiszpanii, światowej klasy specjalista w zakresie genetyki ewolucyjnej człowieka. Jest autorem i współautorem ponad 150 artykułów dotyczących zmienności ludzkiego mtDNA, opublikowanych w czasopiśmie recenzowanych, w tym w najbardziej prestiżowych, takich jak „Science”, „Nature”, „Nature Genetics”, „American Journal of Human Genetics” czy „PLoS Medicine”. Zainteresowania prof. Antonio Salasa obejmują również bioinformatykę, genetykę sądową i badania nad warunkowaną genetycznie podatnością na choroby. W zakresie genetyki populacyjnej prof. Salas zajmował się populacjami z całego globu, skupiając swoją uwagę m.in. na wydarzeniach demograficznych kształtujących zmienność DNA Europy, Afryki i Ameryki.

# Czytanie z plam



**Ile można wyczytać ze śladów na odzieży ofiary gwałtu? W opisanym przypadku plamy i ich dokładna analiza okazały się kluczowe.**

## Dyskoteka

Tej imprezy Ania\* nie zapomni prawdopodobnie nigdy. Wraz z kilkoma koleżankami wybrała się do dużego klubu, aby potańczyć i miło spędzić sobotnią noc. Przez kilka godzin dziewczyny szalały na parkiecie modnego

lokalu, nie żałując sobie piwa i drinków oraz flirtując. W pewnej chwili do grupki rozbawionych dziewcząt podszedł młody mężczyzna, który przedstawił się jako właściciel lokalu i wyraził wdzięczność za „rozkręcenie”

imprezy. W ramach podziękowań dziewczyny zostały zaproszone do zwiedzenia prywatnej części klubu, niedostępnej dla zwykłych gości. Z propozycji tej skorzystały skwapliwie i przeniosły się wraz z nowo poznanym „kolegą” do nowocześnie urządzonej, mniejszej sali, gdzie kontynuowano zabawę. Po pewnym czasie alkohol i zmęczenie zrobiły jednak swoje. Dziewczęta skorzystały z oferty właściciela lokalu i zdecydowały się odpocząć w luksusowo wyposażonych apartamentach. Kiedy po kilku godzinach Ania nieco oprzytomniała, zorientowała się, że jest sama w pokoju, którego nie zna. Zanim zdążyła pozbiierać myśli, w pokoju zjawił się ów nowo poznany właściciel klubu, który zaczął składać dziewczynie dwuznaczne propozycje. Ania zdecydowanie odrzucała zaloty mężczyzny, co doprowadziło w końcu do wybuchu niekontrolowanej agresji. Następnie kilka godzin dziewczyna zapamiętała jako pasmo przemocy, połączone z uwięzieniem i wielokrotnym gwałceniem. Kiedy oprawca wreszcie zasnął ze zmęczenia, przerażona Ania wymknęła się z klubu i uciekła do domu. Tam zobaczyła ją matka, która natychmiast zawiozła dziewczynę na policję, a następnie na obdukcję lekarską. Zeznania dziewczyny oraz praca operacyjna policji doprowadziły w ciągu kilku godzin do aresztowania podejrzanego, będącego faktycznie właścicielem lokalu, w którym bawiła się Ania. Mężczyzna ten, o imieniu Dawid\*, był znany w lokalnym środowisku jako syn przywódcy jednej z grup przestępczych działających w mieście.

## Pierwsza ekspertyza

Zabezpieczając materiał dowodowy w sprawie gwałtu, szczególną uwagę należy zwrócić na obrażenia na ciele ofiary oraz na ślady na jej odzieży. Obrażenia na ciele powinny zostać szczegółowo opisane i ocenione przez biegłego medyka sądowego pod kątem obecności śladów nasienia w drogach rodnych i na ciele oraz w kierunku ujawnienia znamion wskazujących na odbycie przez ofiarę stosunku z użyciem przemocy fizycznej. Ujawnienie nasienia



**Przebieg sprawy zmieniły zeznania biegłego, który wykonywał badania śladów biologicznych na odzieży**

w drogach rodnych wskazuje na odbycie stosunku, jednak nie stanowi jednoznacznego potwierdzenia, że doszło do gwałtu. Znamiona użycia przemocy są lepszą wskazówką umożliwiającą potwierdzenie zaistnienia stosunku bez zgody kobiety, jednak ewidentne ślady przemocy występują u ofiar gwałtów stosunkowo rzadko. Warto zauważyć, że zróżnicowanie ludzkich zachowań seksualnych sprawia, że nawet ślady przemocy na ciele kobiety nie muszą być jednoznacznym dowodem na brak jej zgody na kontakt seksualny. Odzież ofiary gwałtu to kolejne potencjalne źródło informacji o stanie faktycznym. Ślady nasienia, krwi czy włosy sprawcy lub ofiary oraz ich lokalizacja na poszczególnych elementach odzieży mogą stanowić istotne poszlaki, umożliwiające odtworzenie sekwencji zdarzeń i zweryfikowanie wersji przedstawianych przez strony. W omawianej sprawie ślady na odzieży odgrywały istotną rolę, zgwałcona dziewczyna twierdziła bowiem, że nasienie napastnika powinno znajdować się na jej odzieży, i to w kilku miejscach. Zabezpieczone rzeczy Ani trafiły zatem do laboratorium, gdzie zostały poddane oględzinom i badaniom w kierunku wykazania obecności nasienia oraz przeprowadzenia badań genetycznych. Konkluzje opinii przedstawionej po wykonaniu badań były dość jasne: na odzieży Ani, w szczególności na koszulce, którą miała na sobie w dniu zdarzenia, stwierdzono obecność nasienia pochodzącego od Dawida. Ekspertyza w takiej postaci trafiła do prokuratury, a następnie, jako część akt sprawy wspierająca oskarżenie, do sądu.

Foto: Shutterstock, ZGIMS CM UMK

**ODZIEŻ OFIARY  
GWAŁTU TO ŹRÓDŁO  
INFORMACJI. ŚLADY  
NASIENIA, KRWI CZY  
WŁOSY SPRAWCY  
LUB OFIARY ORAZ  
ICH LOKALIZACJA NA  
POSZCZEGÓLNYCH  
ELEMENTACH ODZIEŻY  
MOGĄ STANOWIĆ  
ISTOTNE POSZLAKI,  
UMOŻLIWIAJĄCE  
ODTWORZENIE  
SEKWENCJI ZDARZEŃ  
I ZWERYFIKOWANIE  
WERSJI  
PRZEDSTAWIANYCH  
PRZEZ STRONY.**

## Linia obrony

W sali sądowej starty się bezpośrednio wersja wydarzeń przedstawiona przez oskarżycieli, oparta m.in. na wynikach ekspertyz, z linią obrony przygotowaną przez adwokatów Dawida. Chłopak przyznawał, że faktycznie zaprosił Anię na zaplecze swojego klubu, gdzie dziewczyna chciała skorzystać z łazienki, ale dziewczyna była tak pijana, że zataczała się i przewracała. Dawid twierdził, że zostawił ją śpiącą w jednym z pomieszczeń. Wydawało się, że przyjęta linia obrony nie utrzyma się w obliczu zgromadzonych dowodów, jednak zeznania biegłego, który wykonywał badania śladów biologicznych na odzieży Ani, mocno skomplikowały obraz sprawy. Biegły ów zeznał, że w celu ujawnienia śladów nasienia zastosował dwa testy biochemiczne, z których pierwszy wykrywa obecność białka enzymatycznego nazywanego kwaśną fosfatazą, a drugi wykrywa obecność białka nazywanego PSA, występującego w wysokich stężeniach w płynie nasiennym. Dodatkowo wyniki testów na obecność obu białek zostały zinterpretowane w opinii jako dowód na obecność nasienia, jednak w sali sądowej biegły wycofał się z tych twierdzeń, zwracając uwagę, że kwaśna fosfataza może występować w niewielkich ilościach również w innych wydzielinach ciała, w tym w wydzielinie pochwowej, a białko PSA może być obecne nie tylko w nasieniu, ale też w moczu mężczyzny. Ponadto biegły wyjaśniał, że w badanych śladach nie stwierdził w toku oględzin mikroskopowych obecności plemników. Po zeznaniach biegłego obrona zyskała zatem istotne argumenty podające w wątpliwość przebieg zdarzeń przedstawiany przez Anię. Dawid twierdził np., że pijana dziewczyna przewróciła się w łazience i w ten sposób na jej odzieży mogły się znaleźć plamy jego moczu. Powstało zatem pytanie: czym w istocie są plamy na odzieży dziewczyny? Od wyjaśnienia tej kwestii zależały dalsze losy procesu.

## Co mówią plamy?

Odzież zabezpieczona od pokrzywdzonej trafiła do ponownych badań, prowadzonych w Zakładzie Genetyki Molekularnej i Sądowej Katedry Medycyny Sądowej CM UMK w Bydgoszczy. Dokonaliśmy kompleksowej analizy zaplamień ujawnionych na każdym z przedmiotów, przeprowadzając oględziny zarówno w świetle widzialnym, jak i nadfioletowym. Oceniliśmy szczegółowo wygląd każdej plamy, jej wielkość, barwę, stopień sztywności tkaniny, na której występowała. Przeprowadziliśmy testy na obecność kwaśnej fosfatazy i PSA, jak również oględziny w kierunku wykazania obecności plemników. Podjęliśmy również próby uzyskania preparatów

mikroskopowych w celu potwierdzenia obecności plemników oraz analizy w celu rozdzielenia ewentualnych plemników obecnych w plamach od komórek nabłonkowych, co można wykonać za pomocą procedury tzw. różnicowej ekstrakcji DNA.

Wszystkie te badania doprowadziły nas ostatecznie do konkluzji, że spośród 10 plam zabezpieczonych z odzieży Ani przynajmniej trzy bez żadnej wątpliwości pochodzą z nasienia i nie mogły powstać w sposób opisywany przez Dawida. Nasze wnioski oparliśmy na kompleksowej ocenie wielu parametrów ujawnionych plam, wśród których obecność kwaśnej fosfatazy i PSA były ważnymi, ale nie jedynymi czynnikami decydującymi o ostatecznym wyniku badań. Podsumowanie badań przeprowadzonych w naszym laboratorium i porównanie ich zakresu z badaniami prowadzonymi przez pierwszego biegłego zajmującego się sprawą przedstawia tabela. Warto tu zauważyć, że ani w naszych badaniach, ani w badaniach prowadzonych wcześniej nie stwierdzono obecności plemników w żadnym z zaplamień. Wbrew pozorom nie jest to jednak istotny argument przeciwko obecności nasienia w badanych śladach, gdyż plemniki w zaschniętych plamach nasienia dość szybko tracą w wyniku wysychania swój charakterystyczny kształt i stają się nierozpoznawalne pod mikroskopem.

Powstaje zatem pytanie: jak to możliwe, że badając te same zaplamienia, dwóch różnych biegłych może wysnuć odmienne wnioski? Można również zapytać, jak to możliwe, że ten sam biegły inaczej ocenia materiał dowodowy w opinii pisemnej, a inaczej na sali sądowej. Wydaje się, że główną okolicznością wpływającą na interpretację opisanych zdarzeń było ograniczenie procedur identyfikacji śladów w laboratorium reprezentowanym przez pierwszego biegłego. Nie wykonując w toku badań śladów nasienia analiz takich jak oględziny w świetle nadfioletowym czy też różnicowa ekstrakcja DNA oraz nie uwzględniając we wnioskowaniu dowodów pośrednich na obecność nasienia w przynajmniej części z ujawnionych plam, biegły był skazany na ograniczoną interpretację uzyskanych wyników badań. Wywołało to kontrowersję, której można było uniknąć – pod warunkiem zastosowania dostatecznie szerokiego warsztatu analitycznego. ■

**Marcin Woźniak**

\* Imiona osób występujących w sprawie oraz niektóre okoliczności zostały zmienione.



Zabezpieczając materiał dowodowy w sprawie gwałtu, należy zwrócić szczególną uwagę na ślady na odzieży ofiary

\* Cechy śladów biologicznych badanych w omawianej sprawie, podlegające ocenie dla potrzeb pierwszej opinii oraz opinii wykonanej w ZGMiS CM UMK

TEST	PIERWSZY BIEGŁY	ZGMiS CM UMK
Cechy morfologiczne śladu	Nie badano	Badano
Barwa śladu	Nie badano	Badano
Sztywność tkaniny	Nie badano	Badano
Obecność plemników	Badano	Badano
Kwaśna fosfataza	Badano	Badano
PSA	Badano	Badano
Fluorescencja	Nie badano	Badano
Ekstrakcja różnicowa DNA	Nie badano	Wykonano



Larwy much plujek żerujące na zwłokach

# Fauna nekrofilna

O tym, czym jest i jak duże znaczenie ma entomologia sądowa, rozmawiamy z dr. Szymonem Matuszewskim.

**Urszula Rogalla**

**Entomologia może budzić wiele różnych skojarzeń, jednak dla wielu pozostaje bez związku z naukami sądowymi. Czy mógłby Pan przybliżyć to pojęcie?**

**Dr Szymon Matuszewski**

Entomologia to nauka o owadach, natomiast entomologia sądowa to jedna z nauk sądowych, zajmująca się również owadami,

ale z perspektywy potrzeb wymiaru sprawiedliwości. Entomolog sądowy, jako naukowiec, tworzy i ulepsza metody ustalania faktów istotnych prawnie na podstawie śladów entomologicznych. Natomiast jako praktyk stosuje te metody. Ponadto entomolodzy sądowi często zajmują się badaniami biologii czy ekologii tych owadów, które mają znaczenie dla prawa. Dyscyplina, którą uprawiam, zwykle jest kojarzona z ustalaniem czasu zgonu na podstawie

owadów występujących na zwłokach. I faktycznie, jej instrumentarium najczęściej jest angażowane właśnie w tym celu. Nie jest to jednak jedyna możliwość wykorzystania owadów dla potrzeb wymiaru sprawiedliwości. Zdarza się, że na podstawie badań owadów można udowodnić przyczynę śmierci, przemieszczanie zwłok, a nawet obecność sprawcy w miejscu zdarzenia. Dobrą ilustracją możliwości, jakie dają ślady entomologiczne, będzie kazus wykorzystania

Foto: ZGMiS CM UMK, Archiwum dr. Szymona Matuszewskiego

ENTOMOLOGIA SĄDOWA MA BARDZO ISTOTNY WYMIAR LOKALNY. ENTOMOLODZY SĄDOWI W NASZYM KRAJU PRACUJĄ Z INNYMI GATUNKAMI OWADÓW NIŻ ICH KOLEDZY W STANACH ZJEDNOCZONYCH.

mrówek z gatunku *Lasius fuliginosus* w postępowaniu w sprawie zabójstwa. Owady te zabezpieczono na obuwie podejrzanego, osobniki tego samego gatunku ujawniono na zwłokach, a biegły myrmekolog zeznał, że wszystkie one najprawdopodobniej pochodziły z mrowiska znajdującego się w drzewie w pobliżu miejsca ujawnienia zwłok. Wartość tych ustaleń podniósł fakt, że mrówki z tego gatunku zakładają gniazda w znacznej odległości od siebie, co skutkuje rzadkością ich występowania.

#### Urszula Rogalla

**Standardowo czas, który upłynął od momentu śmierci, tzw. PMI (ang. Post-Mortem Interval), stara się określić medyk sądowy dokonujący oględzin zwłok. W jaki sposób dokonuje tego entomolog i na czym polega jego przewaga?**

#### Dr Szymon Matuszewski

Są dwie entomologiczne metody ustalania czasu śmierci. Pierwsza, tzw. rozwojowa, opiera się na analizie rozwoju owadów, a posługujący się nią ekspert ustala, jak długo owady rozwijały się na zwłokach. W tym celu mierzy tzw. wskaźniki wieku owadów (np. stadium rozwoju okazu czy w przypadku larw ich długość), aby następnie na podstawie publikowanych w literaturze modeli rozwoju oraz specyficznych dla sprawy danych temperaturowych ustalić, ile czasu badany okaz rozwijał się do momentu jego zabezpieczenia. Najczęściej w ten sposób określane jest wiek larw muchówek z rodziny *Calliphoridae*, często nazywanych plujkami. Owady te zazwyczaj jako pierwsze kolonizują zwłoki, więc wiek ich larw wyznacza – nierzadko bardzo dokładnie – czas śmierci.



*Necrodes littoralis*, owad z rzędu chrząszczy. Żywi się padliną



Plujki na pysku świni

Druga metoda opiera się na analizie sukcesji owadów na zwłokach. Skład fauny zwłok zmienia się w trakcie rozkładu, a proces tych zmian można wykorzystać właśnie do określenia czasu zgonu. Ekspert posługujący się metodą sukcesyjną ustala, jakie owady są obecne na zwłokach, aby następnie na podstawie zaczerpniętych z literatury modeli sukcesji oraz specyficznych dla sprawy danych meteorologicznych oszacować, ile czasu upłynęło od momentu śmierci do momentu skolonizowania zwłok przez dany zespół gatunków. Z reguły metodę rozwojową stosujemy do miesiąca od zgonu, natomiast metodę sukcesyjną – nawet do kilku miesięcy od śmierci. W okresie od kilku dni do kilku miesięcy od zgonu nie ma dokładniejszych metod ustalania czasu śmierci niż metody entomologiczne. W przypadku zwłok w zaawansowanym stanie rozkładu metody entomologiczne są zresztą metodami jedynymi.

#### Urszula Rogalla:

**Większość nauk sądowych czerpie z doświadczeń opisywanych przez naukowców z zagranicy, głównie ze Stanów Zjednoczonych i z Europy Zachodniej. Dlaczego nie jest to dobry pomysł w przypadku entomologii sądowej?**

#### Dr Szymon Matuszewski:

Oczywiście również w przypadku entomologii sądowej jest cały szereg zagadnień uniwersalnych, jak np. ogólne problemy szacowania PMI na podstawie śladów entomologicznych. Dyscyplina ta ma jednak bardzo istotny wymiar lokalny. Otóż różne obszary geograficzne mają różną faunę nekrofilną. Ponadto populacje geograficzne tego samego gatunku mogą różnić się np. tempem rozwoju. Dlatego entomolodzy sądowi w naszym kraju, pracujący z innymi gatunkami owadów niż, powiedzmy, ich koledzy w Stanach Zjednoczonych, muszą korzystać z modeli rozwoju i sukcesji odpowiednich dla obszaru Polski. Na marginesie: to właśnie modele sukcesji odpowiednie dla Europy Środkowej są efektem badań naukowych, które realizują.

#### Urszula Rogalla:

**Czy jest Pan w stanie wskazać przyczyny, dla których metody ustalania czasu śmierci na podstawie śladów entomologicznych są tak rzadko wykorzystywane w naszym kraju?**

#### Dr Szymon Matuszewski:

Przyczyn jest wiele. Po pierwsze, możliwości entomologii sądowej są nadal słabo znane w kręgach policyjno-prokuratorskich. Po drugie, policyjni technicy oraz medycy



Zwłoki świni w aktywnym rozkładzie

sądowi nie są przygotowani do ujawniania i zabezpieczania śladów entomologicznych. Po trzecie, nadal niewiele jest w naszym kraju osób, które potrafiłyby wykonać ekspertyzę entomologiczną w przedmiocie czasu śmierci. Wreszcie czas zgonu jest często lekceważony, a jego istotność dla sprawy zostaje nierzadko dostrzeżona dopiero w trakcie postępowania przed sądem, ale wtedy zazwyczaj jest już za późno. Chociaż warto pamiętać, że nawet na tym etapie entomolog sądowy może pomóc. Ostatnio kolega wykonywał ekspertyzę zleconą przez sąd w końcowej fazie postępowania, około czterech lat po zabójstwie. Co ciekawe, na podstawie zdjęć z sekcji zwłok oraz szczątkowych i źle zabezpieczonych śladów entomologicznych udało się zaskakująco dokładnie określić czas zgonu.

#### Urszula Rogalla:

**Jaką przyszłość wroży Pan entomologii sądowej w Polsce?**



Chrząszcz, *Thanatophilus sinuatus*

Foto: Archiwum dr. Szymona Matuszewskiego

#### Dr Szymon Matuszewski:

W wymiarze naukowym – świetlaną. Obecnie kieruję dwoma projektami badawczymi poświęconymi entomologii sądowej. Jeden z nich realizuję we współpracy z entomologami z mojej macierzystej uczelni (z dr Darią Bajerlein oraz dr. Szymonem Konwerskim) oraz z Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (z dr. hab. Krzysztofem Szpilą). Dotyczy on wpływu wagi oraz ubioru zwłok na ich rozkład, zasiedlanie przez owady oraz rozwój larwalny wybranych gatunków owadów. Drugi projekt jest poświęcony szacowaniu na podstawie temperatury czasu pojawienia się na zwłokach owadów wykorzystywanych do ustalania czasu śmierci. Ponadto na UMK wspomniany dr hab. K. Szpila kieruje projektem poświęconym morfologii larw gatunków muchówek istotnych dla entomologii sądowej. Z kolei na Wydziale Biologii mojego macierzystego uniwersytetu przygotowywane są dwa doktoraty: jeden dotyczący sukcesji owadów na zwłokach powieszonych (mgr Mateusz Jarmusz), a drugi – sukcesji owadów na zwłokach

## \* BIOGRAM

DR SZYMON MATUSZEWSKI



Absolwent Wydziałów Prawa i Administracji oraz Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, doktor nauk prawnych, adiunkt w Katedrze Kryminalistyki Wydziału Prawa i Administracji UAM, biegły z zakresu ekspertyzy dokumentów oraz ekspertyzy entomologicznej. Zajmuje się kryminalistyką oraz entomologią sądową, którą zainteresował się w toku studiów biologicznych. W pracy naukowej koncentruje się na doskonaleniu entomologicznych metod ustalania czasu śmierci. Autor ponad 30 publikacji naukowych, w tym sześć artykułów z dziedziny entomologii sądowej w renomowanych czasopismach międzynarodowych z zakresu nauk sądowych.

w zbiorowiskach zaroślowych (mgr Anna Mądra). Co więcej, pojawiają się nowe pomysły i nowi ludzie chętni do zajęcia się tą specyficzną działalnością. Można więc żywić nadzieję, że to, co obserwujemy, nie jest tylko okresową modą na naukę, która w nazwie ma określenie „sądowa”. Jeżeli chodzi o przyszłość praktyki wykorzystywania metod entomologii sądowej w naszym kraju, to jest ona dla mnie zagadką. Wprawdzie ostatnio obserwuję pewien wzrost zainteresowania entomologią sądową, zwłaszcza w kręgach policyjno-prokuratorskich, jednak dopóki nie zostanie wdrożona praktyka rutynowego zabezpieczania śladów entomologicznych w sprawach zabójstw oraz dopóki technicy nie zostaną przeszkoleni w tym zakresie, dopóty instrumentarium entomologii sądowej będzie wykorzystywane raczej okazjonalnie. ■



Pamiętkowe zdjęcie uczestników spotkania Europejskiego Stowarzyszenia Entomologii Sądowej (EAFE)

## Co nowego w molekularnej entomologii sądowej?

W dniach 18-21 kwietnia 2012 r. w Toruniu po raz pierwszy w Polsce odbyło się spotkanie Europejskiego Stowarzyszenia Entomologii Sądowej (European Association for Forensic Entomology, EAFE).

Spotkanie to było prawdziwie międzynarodowe: łącznie przybyło prawie 100 osób z 19 krajów (m.in. z Australii, Brazylii, Iranu, Kamerunu, Malezji, Tajlandii i ze Stanów Zjednoczonych). W części naukowej przedstawiono 29 doniesień ustnych, które podzielono na sześć odrębnych sesji, oraz 56 doniesień plakatowych. Polacy przedstawili dwa doniesienia ustne i dziesięć doniesień plakatowych.

Tematyka wystąpień i dyskusji obejmowała wszystkie współczesne działy tej dynamicznie rozwijającej się dyscypliny naukowej, w tym wykorzystanie metod molekularnych dla celów identyfikacji materiału entomologicznego i ludzkiego (tzw. genoskopii entomologiczno-sądowej). Spośród przedstawionych doniesień dziesięć doniesień ustnych i pięć doniesień plakatowych dotyczyło szeroko rozumianych badań genetyczno-molekularnych. Jak więc przedstawia się aktualny stan wiedzy w tym obszarze entomologii i jakie są potencjalne kierunki rozwoju? Jaki jest wkład polskich genetyków w ten obszar wiedzy?

Konferencję rozpoczął wykładem inauguracyjnym Thomas Pape (Muzeum Historii Naturalnej w Kopenhadze), który omówił

aspekty systematyki i filogenetyki muchówek o znaczeniu sądowym, zwłaszcza rodzin *Calliphoridae* i *Sarcophagidae*. Zwrócił przy tym uwagę na istotną rolę badań molekularnych, które oprócz nowych możliwości identyfikacji gatunkowej istotnie zmieniają panujące dotąd poglądy na temat ewolucji tej grupy zwierząt.

Następnym ważnym wystąpieniem był wykład Jeffery'ego K. Tomberlina (Uniwersytet w Teksasie), który zwrócił uwagę na niedocenianą do tej pory ekologiczną zależność między mikroorganizmami obecnymi na zwłokach, przede wszystkim bakteriami, a owadami. W swoich badaniach zespół z Teksasu za pomocą metody bTEFAP (bacterial Tagged Encoded FLX Amplicon Pyrosequencing) porównał skład fauny bakteryjnej na zwłokach dostępnych i niedostępnych dla owadów. Okazało się, że skład ten różnił się istotnie. Być może już niedługo analiza mikrobów obecnych na zwłokach będzie dodatkowym źródłem cennych informacji dla entomologów sądowych.

Katherine Davies (Uniwersytet w Portsmouth) przedstawiła wyniki swoich badań nad określeniem wieku poczwerek *Calliphora vicina* za

pomocą trzech różnych metod: klasycznej oceny zewnętrznych cech morfologicznych, oceny histologicznej, a także oceny ekspresji genów zależnej od wieku (stadium rozwoju) metodą PCR z oceną ilościową w czasie rzeczywistym (qRT-PCR). Ocena zależnej od wieku ekspresji genów może być stosowana jako jedyna metoda oceny wieku poczwerek, a także jako metoda komplementarna do metod morfologicznych. Potwierdziła to również w swoim wystąpieniu Petry Boehme (Uniwersytet we Frankfurcie), która przedstawiła własne doświadczenia w określaniu wieku poczwerek metodą qRT-PCR i opracowany przez siebie program PUPAC (Pupal ADH Calculator). Umożliwia on, po wprowadzeniu wyników analizy ekspresji sześciu genów, określenie wieku poczwarki z zachowaniem 95-proc. przedziału ufności.

Zupełnie innego problemu dotyczyło wystąpienie zespołu Jensa Amendta (Uniwersytet we Frankfurcie). Owady, zerując na zwłokach, mogą przypadkowo przenosić na swoim ciele krew i płyny gnilne na miejscu przestępstwa, tworząc tzw. artefakty. Mogą również tworzyć je na skutek zwrócenia spożytego pokarmu (krwi, płynu gnilnego, tkanek) lub jego wydalenia. Jest to więc materiał potencjalnie

zawierający ludzki DNA, możliwy do ekstrakcji i analizy. Niemieccy badacze przeprowadzili szereg doświadczeń z wykorzystaniem zwierzęcej krwi i much *Calliphora vicina*. Analiza artefaktów pozostawionych przez owady z wykorzystaniem markerów STR u świni domowej wykazała, że ekstrakcja i profilowanie DNA są możliwe nawet po czterech miesiącach przechowywania tego typu śladów.

Stosunkowo nową dziedziną entomologii sądowej jest archeoentomologia funeralna, czyli wykorzystanie wiedzy entomologicznej w badaniu grobów lub stanowisk archeologicznych. Analiza kokonów i pozostałości owadów umożliwia określenie zwyczajów związanych z pochówkiem, stanu higieny danej populacji, sezonowości zgonów czy wysunięcie podejrzenia przemieszczenia zwłok. W takich przypadkach bezcenna okazuje się identyfikacja molekularna często uszkodzonych próbek, np. za pomocą analizy sekwencji mitochondrialnego genu COI. Udane przypadki identyfikacji archeologicznego materiału entomologicznego (kokonów) przedstawił Jonathan Parrott (Uniwersytet w Portsmouth).

Kolejnym, nowym kierunkiem badań molekularnych w entomologii sądowej jest ocena wielkości genomów za pomocą cytometrii przepływowej, zaprezentowana przez Christine J. Picard (Uniwersytet w Indianapolis). Jej zespół poddał analizie przedstawicieli 17 gatunków występujących w Ameryce Północnej. Okazało się, że metoda ta umożliwia nie tylko identyfikację co do gatunku, ale także – u przedstawicieli niektórych rodzin – identyfikację płci larw i osobników dorosłych. Metoda ta otwiera więc nowe możliwości badań muchówek, zwłaszcza w kontekście różnic między samcami a samicami.

Oczywiście, jak zawsze, najwięcej wystąpień dotyczyło wciąż rozwijanego tzw. metkowania DNA (DNA barcoding), czyli analizy sekwencji mitochondrialnego genu podjednostki I oksydazy cytochromu c, którą cechuje duża zmienność międzygatunkowa. O tej metodzie pisaliśmy już na łamach „Genetyki i Prawa”, np. w numerze 4(7)/2009. Obecnie trwają intensywne prace nad stworzeniem baz danych zawierających sekwencje COI dla poszczególnych grup owadów o znaczeniu sądowym, zwłaszcza rodziny *Sarcophagidae* (prace z Australii, Belgii, Francji i Polski – Sylwii Szczerbińskiej z Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu).

muchówek występujących w Polsce. O tej nowatorskiej metodzie pisaliśmy już w wymienionym wcześniej numerze „Genetyki i Prawa”.

Ważnym zagadnieniem metodologicznym jest wpływ substancji użytych do utrwalenia zabezpieczonych okazów entomologicznych na możliwość późniejszej ekstrakcji DNA celem dalszej analizy genetycznej. Temat ten podjął zespół Stefano Vanina (Uniwersytet w Huddersfield). Okazało się, że spośród wszystkich odczynników utrwalających jedynie płyn Carnoya i płyn Pampela zaburzały proces ekstrakcji DNA po jednym dniu, 15 i 60 dniach przechowywania materiału.

**W KONFERENCJI WZIĘŁO UDZIAŁ PRAWIE 100 OSÓB Z 19 KRAJÓW. TEMATYKA WYSTĄPIEŃ I DYSKUSJI OBEJMOWAŁA WSZYSTKIE WSPÓŁCZESNE DZIAŁY MOLEKULARNEJ ENTOMOLOGII SĄDOWEJ.**

Poszukuje się również alternatywnych dla COI sekwencji mitochondrialnego DNA, przydatnych w entomologii sądowej. Przykładem są sekwencje 16S i ITS2 (nuclear ribosomal internal transcribed spacer 2), analizowane przez zespół z Hiszpanii (Alberto Fuentes).

Marta Łoś (Muzeum i Instytut Zoologii PAN w Warszawie) natomiast przedstawiła doniesienie ustne na temat wykorzystania metody analizy krzywej denaturacji DNA o wysokiej rozdzielczości połączonej z łańcuchową reakcją polimerazy – DNA-HRM-PCR (high-resolution DNA melting analysis-polymerase chain reaction) dla celów szybkiej identyfikacji 15 gatunków

Jak widać, choćby na przykładzie genoskopii, entomologia sądowa to niezwykle dynamiczna i interdyscyplinarna dziedzina nauki. Dysponujemy coraz większą wiedzą na temat stawonogów o znaczeniu sądowym, a także mamy coraz więcej możliwości technicznych ich badania. Coraz częściej wymagana jest ścisła współpraca przedstawicieli nie tylko medycyny sądowej, entomologii i prawa, ale także genetyków, biologów molekularnych, chemików, statystyków i informatyków. Nasz kraj nie pozostaje w tyle, wnosząc również istotny wkład w rozwój współczesnej entomologii sądowej. ■

Rafał Skowronek



## KONTAKT:

**prof. dr hab. Tomasz Grzybowski**  
kierownik Katedry Medycyny Sądowej  
oraz Zakładu Genetyki Molekularnej i Sądowej  
genetyczne badania ojcostwa i inne badania  
pokrewieństwa, identyfikacja szczątków ludzkich,  
badania pokrewieństwa w linii żeńskiej (mtDNA),  
badania pochodzenia ewolucyjnego linii żeńskiej

> [tgrzyb@cm.umk.pl](mailto:tgrzyb@cm.umk.pl)

**prof. dr hab. Karol Śliwka**  
kierownik Zakładu Medycyny Sądowej  
tanatologia, orzecznictwo, toksykologia sądowa

> [kizmedsad@cm.umk.pl](mailto:kizmedsad@cm.umk.pl)

**dr Marcin Woźniak**  
genetyczna identyfikacja śladów biologicznych,  
badania pokrewieństwa w linii męskiej (chromosom Y),  
badania pochodzenia ewolucyjnego linii męskiej

> [marcinw@cm.umk.pl](mailto:marcinw@cm.umk.pl)

**dr Jarosław Bednarek**  
badania morfologiczno-porównawcze włosów,  
antropologia sądowa

> [bednarek@cm.umk.pl](mailto:bednarek@cm.umk.pl)



## KATEDRA MEDYCYNY SĄDOWEJ

Uniwersytet Mikołaja Kopernika  
Collegium Medicum

Katedra Medycyny Sądowej Collegium Medicum UMK  
Zakład Genetyki Molekularnej i Sądowej  
ul. Marii Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz  
tel. 52. 585.35.52  
fax 52. 585.35.53

> [kizmedsad@cm.umk.pl](mailto:kizmedsad@cm.umk.pl)