

УДК 340.6:616.69-008

О.А. Дмитриева, Т.М. Федченко, В.Б. Кожемяко

НОВЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ СПОСОБНОСТИ К ОПЛОДОТВОРЕНИЮ

Владивостокский государственный медицинский университет,
Приморское краевое бюро судебно-медицинской экспертизы (г. Владивосток)

Ключевые слова: экспертиза, молекулярно-генетические методы, репродуктивная функция.

Судебно-медицинская экспертиза половых функций мужчин назначается как в уголовном (половые преступления), так и в гражданском судопроизводстве (определение истинного пола, нарушения половой аутоидентификации, гермафродитизм, бесплодные браки, бракоразводные процессы). С учетом современного состояния биологической и медицинской науки судебно-медицинскую экспертизу половых функций мужчин целесообразно разделить на две группы: 1) экспертиза спорного отцовства при наличии ребенка (плода), 2) другие экспертизы с отсутствием ребенка (плода). К последним относятся экспертизы при изнасиловании, половых сношениях с лицами, не достигшими 16-летнего возраста, повлекших нежеланную и не закончившуюся родами беременность, а также экспертиза репродуктивной функции после травм и рассмотрение сексологических проблем брака.

С развитием молекулярно-генетических методов экспертиза спорного отцовства приобрела доказательную научную базу и принимается судом как полноценное исследование [5]. В настоящее время используются диагностические тест-системы на основе мини-сателлитных ДНК. Для определения отцовства существует два подхода: применение олигонуклеотидных зондов, специфичных в отношении отдельных мини-сателлитных локусов и использование наборов праймеров, специфичных в отношении отдельных полиморфных локусов. С помощью ДНК-зондов, представляющих клонированные последовательности мини-сателлитов, которые взаимодействуют только с одним локусом, можно получить истинную информацию о генотипе изучаемого организма [14].

При другом подходе в качестве альтернативы однолокусным зондам используют полимеразную цепную реакцию (ПЦР) [13]. Отдельные мини- и микросателлитные локусы могут быть амплифицированы с помощью праймеров, комплементарных уникальным последовательностям ДНК, фланкирующим эти повторяющиеся последовательности.

Обе группы методов хорошо дополняют друг друга и в спорных случаях позволяют однозначно иденти-

фицировать личность человека. В лаборатории молекулярно-генетических исследований Приморского краевого бюро судебно-медицинской экспертизы подобного рода исследования проводятся с 1995 г. (до 50 экспертиз в год).

Вышеуказанные методы вытеснили экспертизы по определению сроков зачатия, имеющие предположительный характер. Предпочтение отдается использованию однолокусных зондов, так как именно этот метод в мировой практике считается наиболее точным и принимается в иммиграционных делах, а результаты его настолько наглядны, что понятно интерпретируемая картина представляется в суд. Этот метод работает наиболее эффективно при определении родства плода. Исследование с помощью ПЦР проводится, когда недоступна жидкая кровь обследуемых лиц. В этом случае могут быть исследованы иные биологические объекты: сухая кровь, слюна, соскоб со слизистой оболочки, сперма и др. В обоих вариантах сравнивается положение фрагментов ДНК после электрофореза: при наследовании ДНК родителей полосы ребенка, соответствующие фрагментам ДНК, распределяются между ними (рис. 1).

Способность к оплодотворению — одна из главных при продолжении рода и целиком зависит от состояния спермы (фертильности). Способ исследования семенной жидкости (визуальный подсчет числа половых клеток с различной активностью и микроскопическая оценка целостности гамет) неточен. Используемые в практике судебно-биологических исследований методики малоэффективны при азооспермии и аспермии, а также при патологических состояниях, объединенных в общее понятие патоспермии. На сперматогенез влияют хронические соматические и инфекционные заболевания, хронические бытовые интоксикации, острые и хронические заболевания мужской репродуктивной сферы, при которых происходит повреждение акросомальной системы спермиев, обеспечивающей перфорацию оболочки яйцеклетки за счет акрозина — специфического протеолитического фермента [8]. Такие инфекционные агенты, как уреоплазмы, микоплазмы, хламидии поражают любые отделы

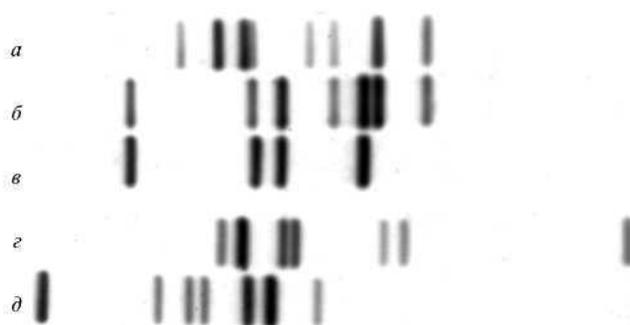


Рис. 1. Экспертизы по спорному отцовству (однолокусные зонды MS1, MS31, MS43AI G3):

а - мать, б - ребенок, в - отец (отцовство подтверждено); г - отец, д - ребенок (отцовство исключено).

сперматозоида, в том числе и его головку [7]. Вероятно, имеют значение также и индивидуальные колебания концентрации сперматозоидов у фертильных мужчин — от 0 до 180 согласно графику Paulsen [11]. В связи с этим рекомендуются «Правилами судебно-медицинской экспертизы половых состояний мужчин» (1968) методики определения мужской репродуктивной функции не должны использоваться. Судебно-медицинскому эксперту вменяется не только единоличное исследование мужчины, но и исследование эякулята.

В устаревших и не выдерживающих критики «Правилах...» утверждается, что с судебно-медицинской точки зрения наличие даже одного нормального подвижного сперматозоида в эякуляте не дает оснований для утверждения о полной неспособности к оплодотворению. Современный этап развития иммунохимии позволяет проводить изучение репродуктивной функции мужчин на уровне индивидуальных белков. Исследование простатической кислой фосфатазы, α_2 -микроглобулина фертильности, простатоспецифического антигена, альбумина и спермоспецифического ингибитора трипсина показало, что при воспалительных явлениях угнетается секреция нейтральной протеиназы, а продукция белкового ингибитора протеиназ возрастает, что также является одним из механизмов протекции эякулированных сперматозоидов от неблагоприятного влияния избыточной активности лейкоцитарных ферментов [9, 10].

Биохимическими маркерами функции придаточных половых желез в семенной плазме являются лимонная кислота, цинк, кислая фосфатаза, фруктоза, гаммаглобулинтрансфераза. Наибольшую диагностическую ценность представляет концентрация лимонной кислоты и цинка в семенной жидкости и содержание лимонной кислоты во всем эякуляте [1].

Нервные центры гипоталамуса чрезвычайно чувствительны к любым, даже незначительным патологическим воздействиям, в связи с чем способность к оплодотворению нельзя определять по одному анализу семенной жидкости, особенно когда в ней обнаруживаются подвижные сперматозоиды с достаточно удовлетворительными морфологическими признаками [3]. Имеет значение и вегетативная нервная система, которая влияет не только на потенцию, но и на сперматогенез, ибо «психические стрессы нарушают гармонию вегетативной нервной системы и даже при нормальном состоянии яичек могут привести к психической стерильности» [6].

И.И. Горпинченко и И.Н. Малышкин [4], J. Dadoune et al. [12] описали современный метод фиксации денатурированной ДНК в головках сперматозоидов. Аномально высокое число (более 30%) денатурированных (красных) головок спермиев сочетается с пониженной способностью к оплодотворению, высокий процент «зеленых» спермиев говорит о хорошей биологической продуктивности. Ультроструктурный

анализ и гистологическое изучение яичек представляется необходимым, поскольку в настоящее время подавление сперматогенеза проявляется не столько в снижении числа спермиев, сколько в выработке их структурно-неполноценных форм [2]. Являясь судебно-медицинской по закону, экспертиза способности к оплодотворению имеет статус комиссионной, а потому должна проводиться с обязательным участием урологов, сексопатологов, андрологов при исследовании эякулята в специализированных лабораториях андрологических центров.

Выводы

1. При наличии ребенка (плода) определение отцовства и идентификация биологических образцов, содержащих ДНК, основано на наличии в геноме человека четких генетических маркеров в виде определенных последовательностей ДНК, набор которых уникален для конкретного индивидуума.

2. При отсутствии ребенка (плода) для решения вопроса о способности к оплодотворению проведения судебно-биологической экспертизы эякулята рутинными методами недостаточно. Для объективной оценки сперматогенной функции целесообразно использовать весь набор современных методов, учитывающих разнообразные физиологические характеристики репродуктивной системы мужчин.

Литература

1. Бурназян Р.А., Оганесян М.Н., Бурштейн Г.Е. // Урология и нефрология. — 1992. — № 4. — 6. — С. 36-38.
2. Быков В.Л. // Морфология. — 1999. — № 6. — С. 78-86.
3. Возианов А.Ф., Горпинченко И.И. Сексология и андрология. — Киев: Абрис, 1997.
4. Горпинченко И.И., Малышкин И.Н. // Сексология и андрология / под ред А.Ф. Возианова, И.И. Горпинченко. — Киев: Абрис. — 1997. — С. 716-743.
5. Гэске Л.И., Иванов П.Л. // Судебно-медицинская экспертиза. — 1995. — № 3. — С. 36-40.
6. Михайличенко В.В. Патогенез, клиника, диагностика и лечение копулятивных и репродуктивных расстройств у мужчин при конгестиях в мочеполовом венозном сплетении: Дисс... д-ра мед. наук. — СПб, 1996.
7. Молчан Ю.В., Рыбалкина В.Н., Тихомирова В.Ю., Гурьянова Е.В. // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2000. — № 4. — С. 101.
8. Морозов П.Г. Мужское бесплодие: прецизионная диагностика. — Кишинев: Штиинца. — 1990.
9. Николаев А. А., Луцкий Д.Л., Бочановский В.А., Ложкина Л.В. // Урология. — 1997. — М 5. — С. 35-39.
10. Николаев А. А., Луцкий Д.Л., Николаева Н.Н., Ложкина Л.В. // Урол. и нефрол. — 1998. — № 5. — С. 27-31.
11. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. — М.: МедПресс. — 2001.
12. Dadoune J., Siffcoi J., Hfousi M. // Реферативный журнал. — 1996. — № 6. — С. 7.

13. Hammond H.A., Jin L., Zhong Y. et al.// *Am. J. Hum. Genet.* - 1994. - No. 55. - P. 175-189.

14. Sajantila A., Makkonen K., Ehnholm C., Peltonen L.// *Human Heredity.* - 1992. - No. 42. - P. 175-189.

Поступила в редакцию 09.06.03.

NEW PROCEDURAL APPROACHES TO FORENSIC MEDICAL EXAMINATION OF ABILITY TO FERTILIZATION

O.A. Dmitrieva, T.M. Fedchenko, V.B. Kozhemyako

Vladivostok State Medical University, Primorsky Regional Forensic Medical Examination Bureau (Vladivostok)

Summary — Allowing for current state of biological and medical science, the forensic medical examination of male reproductive function should be subdivided into two groups: 1) examination of disputable paternity when there is a child (fetus) by using molecular-genetic methods; 2) other examinations without a child (fetus). In the latter case, when solving a question as to the sperm fertility, it is not enough to make the ejaculate examination by applying routine methods. So as to ensure objective appraisal of spermatogeneous function it is expedient to use the whole ensemble of the present-day methods, which allow for manifold physiological characteristics of the male reproductive system.

Pacific Medical Journal, 2004, No. 2, p. 80-82.

УДК57.087.1:681.3]:591.13].15

А.А. Афанасьев, В.М. Черток

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СИСТЕМЫ АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ ALLEGRO-МС ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ БИОМИКРОСКОПИИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА

Владивостокский филиал ДВЮИ МВД России, Владивостокский государственный медицинский университет

Ключевые слова: автоматизированный анализ, биомикроскопия, микроциркуляторное русло.

Одним из наиболее эффективных методов изучения микроциркуляторного русла является биомикроскопия. Со времени проведения в 1865 г. Stricker [14] первого прижизненного исследования микрососудов ретролингвальной мембраны лягушки и до настоящего времени идет процесс совершенствования этого исключительно наглядного и информативного метода.

Существующие методы биомикроскопии микроциркуляторного русла условно можно подразделить на две группы:

- 1) *качественные, которые позволили не только описать ангиоархитектонику большинства органов у многих видов животных и человека, но и проследить поведение клеток крови внутри кровеносного русла, а также во время их выхода за его пределы;*
- 2) *количественные, которые дали возможность объективизировать материалы, полученные при изучении микроциркуляции, проследить изменения важнейших показателей, характеризующих движение крови в сосудах различного типа и в различных органах у животных и человека.*

Материалы исследований, полученные с использованием количественных методов, совершили подлинную революцию в биомикроскопии микроциркуляторного русла, сделали ее незаменимым помощником в клинических и экспериментальных исследованиях [3, 9].

Подавляющее большинство прижизненных исследований микроциркуляции с использованием количественных методов осуществлялось с применением кино- и телемикроскопии. Телевизионная микроскопия сделала возможным прижизненное проведение сканирующей микрофотометрии, поскольку любой горизонтальный отрезок электронного изображения мог быть подвергнут количественному анализу с помощью осциллографа [5, 6]. Крупные увеличения, получаемые на телевизионном экране, позволяют проводить некоторые измерения в процессе эксперимента, получать информацию о состоянии стенок сосудов, элементов крови и периваскулярной ткани. Однако в последнее десятилетие с развитием компьютерных технологий наметился прогресс и в количественной биомикроскопии. Отпала необходимость длительных, кропотливых и не всегда точных измерений объекта, трудоемких вычислений и прочих процедур, значительно удлиняющих и усложняющих процесс исследования. При использовании компьютерных технологий в морфометрии обычно выделяют два способа измерения: ручной (интерактивный) и автоматический. В первом случае пользователь с помощью компьютерной мыши обводит на мониторе интересующий объект, а программа с помощью пороговой обработки информации автоматически выделяет все заданные структуры, одновременно производя измерения и вычисления. Совсем недавно появился принципиально новый класс интеллектуальных приборов — автоматические системы анализа изображений (АСАИ). Такие приборы, выпущенные известными фирмами Цейсса, Лейтца, Райхерта, Оптона и др., совмещая современные высокоразрешающие оптические системы с мощной, высокоскоростной компьютерной техникой, обладают уникальными возможностями для количественного изучения динамики многих физиологических процессов [9, 11, 13]. С введением в практику научных исследований этих систем удалось зарегистрировать и изучить тончайшие механизмы различных биологических процессов. Однако высокая коммерческая стоимость приборов, сложные условия эксплуатации, необходимость приобретения дорогостоящих программ под каждую новую задачу и другие проблемы создают серьезные затруднения для их использования в повседневной практике.