

PRACE ORYGINALNE / ORIGINALS

- Filip Bolechała, Marcin Strona, Tomasz Konopka**
Modus operandi niepoczytalnych sprawców w zabójstwach wielokrotnych
Modus operandi of insane offenders in multiple homicides207
- Ewa Pufal, Marzena Sykutera, Teresa Nowacka, Anna Stefanowicz, Karol Śliwka**
Opracowanie metody oznaczania citalopramu i desmetylocitalopramu w paznokciach i włosach i jej wykorzystanie w toksykologii sądowej
 Development of a method for estimation of citalopram and desmethylcitalopram in nails and hair and its usefulness in forensic toxicology216
- Piotr Engelhardt, Weronika Grzech, Jarosław Drzewiecki, Karol Śliwka**
Przydatność badań lekarskich wymienionych w „protokole pobrania krwi” dla oceny stopnia upojenia alkoholem
 Evaluating the applicability of medical examinations constituting “the protocol of obtaining a blood sample” in measuring the degree of intoxication223
- Marta Czarnogórska, Marek Sanak, Danuta Piniewska, Nina Polańska, Agnieszka Stawowiak, Barbara Opolska-Bogusz**
Identyfikacja rzadkich wariantów genetycznych w loci DXS10074, DXS10079, DXS10146 oraz DXS10148 multiplexu Investigator Argus X-12 w populacji Polski Południowej
 Identification of rare genetic variants at DXS10074, DXS10079, DXS10146 and DXS10148 loci of Investigator Argus X-12 multiplex in the South Polish population235
- Agata Kodroń, Edyta Rychlicka, Iwona Milewska, Marcin Woźniak, Tomasz Grzybowski**
Analiza danych populacyjnych loci miniSTR: D10S1248, D14S1434 i D22S1045 w regionie kujawsko-pomorskim
 Population data analysis of miniSTR loci: D10S1248, D14S1434 and D22S1045 in the Pomerania-Kujawy region of Poland243
- Michał Szeremeta, Witold Pepiński, Anna Niemcunowicz-Janica, Małgorzata Skawrońska, Adam Sackiewicz, Iwona Ptaszyńska-Sarosiek, Magdalena Okłota**
Ocena wizualizacji śladów biologicznych z użyciem alternatywnego źródła światła (ALS) w aspekcie ich identyfikacji genetycznej. Część I. Analiza śladów krwi i śliny
 Evaluation of visualization of biological stains with the use of alternative light source (ALS) for the purpose of genetic identification. Part I. Blood and saliva stains analysis248
- Adam Sackiewicz, Anna Niemcunowicz-Janica, Witold Pepiński, Małgorzata Skawrońska, Michał Szeremeta, Iwona Ptaszyńska-Sarosiek, Magdalena Okłota**
Ocena wizualizacji śladów biologicznych z użyciem alternatywnego źródła światła (ALS) w aspekcie identyfikacji genetycznej. Część II. Analiza śladów nasienia
 Evaluation of visualization of biological stains with the use of alternative light source (ALS) for the purpose of genetic identification. Part II. Semen samples analysis258
- Patrycja Daca, Marta Mielnik-Sikorska, Jarosław Bednarek, Tomasz Grzybowski**
Ocena stopnia wysycenia bazy danych mitochondrialnego DNA dla populacji Polski
 Saturation of the Polish mitochondrial DNA database263

PRACE KAZUISTYCZNE / CASE REPORTS

Anna Bury, Ewa Meissner, Agnieszka P. Jurczyk, Stefan Szram, Jarosław Berent

Przypadki zapalenia mięśnia sercowego i ich wpływ na mechanizm zgonu

Cases of myocarditis and their effect on the mechanism of death270

Magdalena Okłota, Anna Niemcunowicz-Janica, Adam Sackiewicz, Iwona Ptaszyńska-Sarosiek, Michał Szeremeta

Zgony w przebiegu asfiksji wywołanej w celu eskalacji doznań seksualnych. Opisy przypadków

Deaths during asphyxia induced to escalate sexual experience. Case reports275

HISTORIA MEDYCZYNY SĄDOWEJ / HISTORY OF FORENSIC MEDICINE

Erazm Baran

Udział polskich medyków sądowych w badaniach zbrodni katyńskiej

Contribution of Polish forensic medicine specialists to the studies of war crimes committed in Katyn281

PRACE POGLĄDOWE / REVIEWS

Krzysztof Maksymowicz, Małgorzata M. Żoźna, Jacek Kościuk, Bartosz Dawidowicz

Dokumentowanie przebiegu i wyników eksperymentu procesowo-kryminalistycznego oraz możliwości przeprowadzenia wirtualnego eksperymentu procesowego przy zastosowaniu technik laserowego skanowania 3D

Documentation of course and results of crime scene reconstruction and virtual crime scene reconstruction possibility by means of 3D laser scanning technology292

Małgorzata Kłys

Z rtęcią (i ...) przez stulecia

Mercury (and...) through the centuries298

Ireneusz Sołtyszewski

Akredytacja laboratoriów sądowych

Accreditation of forensic laboratories308

KRONIKA ŻAŁOBNA / OBITUARY

Pro Memoria Doktor nauk medycznych Wiesław Gawrzewski (1937-2010)315

Pro Memoria Doktor nauk medycznych Krzysztof Paweł Klepacki (1957-2009)318

Filip Bolechała, Marcin Strona, Tomasz Konopka

Modus operandi* niepoczytalnych sprawców w zabójstwach wielokrotnych

Modus operandi of insane offenders in multiple homicides

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UJ CM
Kierownik: prof. dr hab. n. med. M. Kłys

Celem niniejszego opracowania było opisanie i scharakteryzowanie osobowych cech sprawców oraz ich *modus operandi* w przypadkach, gdy zabijali oni więcej niż jedną ofiarę, a w czasie czynności procesowych uznano ich niepoczytalność. Badano również różnice pomiędzy zabójstwami pojedynczymi a wielokrotnymi w populacji sprawców niepoczytalnych. Analizie poddano pełne akta spraw wraz z ekspertyzami sądowo-lekarskimi dotyczące 21 ofiar zabitych przez 9 sprawców. Wyniki badań wykazały pewne powtarzalne, charakterystyczne cechy występujące częściej w zabójstwach wielokrotnych oraz różnicujące je od zabójstw z pojedynczą ofiarą popełnianych przez sprawców niepoczytalnych. Należały do nich między innymi: obecność zaburzeń psychotycznych z komponentą depresyjną, wyraźnie zaznaczony motyw emocjonalno-afektywny, wspólne zamieszkiwanie i pozytywna relacja sprawcy z ofiarą, zabijanie własnych dzieci, występowanie elementów planowania działań, atak na śpiącą ofiarę i rzadko przeprowadzany od przodu oraz koncentracja urazów w jednym regionie ciała.

Homicides committed by insane offenders have been rarely investigated from the forensic point of view in a comprehensive and detailed manner. The objective of the study was to describe and characterize the *modus operandi* and personal characteristics in cases when more than one victim was killed and the perpetrator was deemed insane in judicial proceedings. Differences between single and multiple-victim homicides in the population of

insane murderers were also examined. Complete dossiers and forensic examination reports of 21 homicide victims killed by 9 individuals were retrospectively analyzed. The comparative control group consisted of 41 cases with only one victim killed by a single insane perpetrator. The offence and offender variables were subjected to a comparative statistical analysis. The results indicated some specific factors that can be regarded as distinctive features more commonly observed in multiple vs. single victim killings perpetrated by insane individuals. There was a significant correlation between, psychosis with depressive delusions, emotional/affective motivation, common domicile and a positive relationship between the perpetrator and the victim, infanticide committed in the perpetrator's offspring, actions with elements of planning, attacking victims while asleep, attacking from the back rather than from the front, concentration and clustering of injuries in one region of the body and multiple psychotic homicides. The results and conclusions of this study can provide practical, useful implications for homicide investigations, offender profiling or forensic psychiatric and psychological evidence.

Słowa kluczowe:

zabójstwa wielokrotne, niepoczytalność, *modus operandi*

Key words:

multiple homicides, insanity, *modus operandi*

* Poszerzona wersja referatu „Multiple homicides committed by insane offenders”, przedstawionego podczas 7 Międzynarodowego Kongresu BMLA (Baltic Medico-Legal Association), Helsinki (Finlandia) 11-13.11.2010

WSTĘP

We współczesnym świecie, gdzie życie człowieka stanowi najcenniejszą wartość, każde zabójstwo postrzegane jest jako złamanie podstawowej normy współżycia społecznego. Poza wyjątkowymi, szczególnymi sytuacjami, w których ze względu na okoliczności jesteśmy skłonni zrozumieć lub usprawiedliwić zachowanie sprawcy, to zasadniczo w powszechnym odczuciu pozbawienie życia innej osoby jest aktem powszechnie piętnowanym, nagannym i kompletnie nieakceptowalnym. Tak też traktowane jest przez prawo w cywilizowanych społecznościach, które przewidują najcięższe kary dla sprawców dopuszczających się takich czynów. Zabójstwa zawsze stanowiły przedmiot szerokiego zainteresowania i dyskusji na gruncie codziennym oraz naukowym. Często towarzyszą temu silne negatywne emocje oraz niezrozumienie faktu, jak człowiek obdarzony zdolnością pojmowania dobra i zła potrafi dopuścić się takiego czynu. Szczególnie dotyczy to przypadków, w których zabójca na mocy prawa unika odpowiedzialności ze względu na obecność zaburzeń psychicznych skutkujących jego niepoczytalnością. Tym bardziej w sytuacjach, gdy zabójstwo dokonane zostaje z wyjątkowym okrucieństwem i brutalnością, połączone jest z gwałtem, ofiarą staje się dziecko lub ofiar tych jest więcej.

Zabójstwa popełniane przez sprawców niepoczytalnych były dotychczas rzadko analizowane na gruncie medycyny sądowej i praktycznie nie spotyka się prac ujmujących tę tematykę w sposób całościowy i dokładny. Z reguły tylko pewne zagadnienia poruszane były w opracowaniach z zakresu psychiatrii, psychologii, socjologii lub prawa [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9]. Jednak to medycyna sądowa pozwala spojrzeć na przytoczone zagadnienie od strony analizy samego czynu i sposobu jego realizacji, przez co również może dostarczyć wielu informacji istotnych dla określenia i opisanego sprawcy zabójstwa.

Zdarzenia, w których sprawca pozbawia życia więcej niż jedną ofiarę nie należą do często spotykanych, jednak ze względu na drastyczność okoliczności wzbudzają ogromne zainteresowanie. Wydaje się, że przypadki takie można traktować jako pewną szczególną i osobną grupę zabójstw, która cechuje się określonymi charakterystycznymi elementami, zarówno w odniesieniu do sprawców,

ofiar, jak i całościowo ujętego *modus operandi*. W terminologii zagadnienia panują pewne niejasności oraz różnice dotyczące podziału i definicji zabójstw z udziałem większej ilości ofiar, podyktowane często dziedziną wiedzy w jakiej operują autorzy opracowań. Jednak podsumowując różne punkty widzenia wydaje się, że najbardziej przejrzyste i prosto można zakwalifikować zabójstwa wielokrotne jako pozbawienie życia dwóch lub więcej ofiar w trakcie czasowo jednego zdarzenia, w tym samym miejscu i bez wygaszenia emocji sprawcy [10]. Jako osobne grupy należałoby traktować zabójstwa seryjne, masowe i „szaleńcze” (spree killers) oraz wydzielane przez niektórych autorów zabójstwa zawodowe (na zlecenie), dokonywane przez terrorystów czy „państwowe” w imieniu władz totalitarnych [11].

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Analizie poddano 21 przypadków zabójstw dokonanych przez dziewięciu ustalonych sprawców w latach 1982-2006. Warunkiem doboru do grupy badawczej było kryterium pozbawienia życia więcej niż jednej ofiary przez tego samego sprawcę oraz decyzja sądu uznająca jego niepoczytalność w rozumieniu aktualnego art. 31 § 1 k.k. lub art. 25 § 1 Kodeksu Karnego z roku 1969. W każdym przypadku orzeczenie sądu opierało się na wydanych w postępowaniu opiniach sądowo-psychiatrycznych, zazwyczaj po przeprowadzonej kilkutygodniowej obserwacji w warunkach zamkniętych i obejmowało również decyzję dotyczącą ewentualnego stosowania środka zabezpieczającego w postaci detencji. W opracowaniu brano pod uwagę tylko zabójstwa dokonane, a pominięto usiłowania bez wystąpienia skutku śmiertelnego. Kierowano się w tej kwestii przekonaniem, że z oczywistych względów szpitalna dokumentacja medyczna nie daje równie dokładnego i precyzyjnego opisu wszystkich występujących śladów obrażeń ciała, jak protokół sekcji zwłok. Grupę porównawczą stanowiło 41 przypadków z lat 1974-2007, w których osoba niepoczytalna dokonała zabójstwa pojedynczej ofiary. Ponieważ niniejsza publikacja stanowi część większego projektu naukowego dotyczącego analizy zabójstw popełnionych przez sprawców niepoczytalnych, to podkreślić należy, że sposób zbierania oraz opracowywania danych

w grupie badanej i porównawczej był identyczny.

Za źródło informacji posłużyły pełne akta sądowe zakończonych już postępowań karnych znajdujące się w archiwach sądów okręgowych i rejonowych Polski południowej, a przede wszystkim Krakowa. W szczególności poszukiwane dane pochodziły z: protokołów oględzin miejsca ujawnienia zwłok i/lub miejsca zdarzenia wraz z dokumentacją fotograficzną, wyników badań pośmiertnych, pozostałych opinii medyczno-sądowych oraz innych ekspertyz kryminalistycznych, analizy dowodów rzeczowych, policyjnych notatek urzędowych, protokołów przesłuchań świadków i wyjaśnień osób oskarżonych, zapisów eksperymentów procesowych oraz opinii sądowo-psychiatrycznych i psychologicznych. Do zbierania i analizy danych wykorzystano własny kwestionariusz badawczy, podobny do formularzy wykorzystywanych przy profilowaniu nieznanymi sprawców ciężkich przestępstw. W każdym przypadku zebrano informacje dotyczące: historii i linii życia zabójcy i ofiary, relacji sprawcy w odniesieniu do czynu i ofiary (np. stan psychiczny, procesy motywacyjne, znajomość) oraz całości sposobu działania przed, w trakcie i po dokonaniu zabójstwa czyli szeroko rozumianego *modus operandi*. Wybrane zmienne jakościowe zostały poddane analizie statystycznej przy użyciu testu Chi kwadrat Pearsona. Zgodnie z przyjętymi kryteriami w naukach biomedycznych i humanistycznych, jako istotne statystycznie uznano związki i różnice, w których wartość poziomu istotności była mniejsza niż pięć setnych ($p < 0.05$). Dla zobrazowania siły zależności pomiędzy poszczególnymi zmiennymi posłużono się wyliczeniem współczynnika F_i w analizowanych zestawieniach (0-1).

WYNIKI BADAŃ

Wśród wszystkich poddanych analizie zabójstw dokonanych przez osoby niepełnosprawne, czyny wielokrotne stanowiły jedną trzecią przypadków. Inaczej rzecz ujmując można wskazać, że blisko co piąty sprawca spełniający kryteria art. 31 § 1 k.k. zabijał więcej niż jedną ofiarę.

Sprawcami zabójstw w grupie badanej było siedmiu mężczyzn i dwie kobiety w wieku 19-48 lat (średnia 33 lata). Trzy osoby mieszkaly w dużym mieście wojewódzkim, jedna w mieście powiatowym,

a pięć w rejonach wiejskich. Obie kobiety i czwórka mężczyzn znajdowało się w związkach małżeńskich oraz posiadało dzieci. Wszyscy natomiast zamieszkiwali nie sami lecz z innymi osobami, z którymi łączyły ich więzy rodzinne. Legitymowali się zazwyczaj wykształceniem podstawowym lub zawodowym, w jednym przypadku średnim, a w jednym niepełnym wyższym. Większość sprawców cechowała nieagresywna struktura osobowości, uważani byli za osoby spokojne, nie zagrażające innym i nie wykazujące wcześniej agresji słownej lub fizycznej w stosunku do otoczenia lub ofiar (7 osób). Tylko jedna osoba była wcześniej karana sądownie. Siedmiu sprawców przejawiało od dłuższego czasu objawy zaburzeń psychicznych dostrzegane przez bliskich, a z tego 5 osób było leczonych w warunkach ambulatoryjnych lub szpitalnych. Jednak tylko troje pozostawało w regularnej kontroli medycznej i przyjmowało leki. W dwóch sprawach obecność choroby psychicznej była zupełnie niezauważona przez otoczenie.

W każdym przypadku opinię sądowo-psychiatryczną uznającą niepełnosprawność sprawcy wydano po kilkutygodniowej obserwacji w warunkach szpitalnych. Na tej podstawie rozpoznawano: schizofrenię paranoidalną (3), zaburzenia afektywne z objawami psychotycznymi (2), zaburzenia psychotyczne na podłożu organicznym i uzależnienia od alkoholu (2), utrwalone zaburzenia urojeniowe (1) oraz krótkotrwały epizod psychotyczny (1). Tylko w jednej sprawie nie wnioskowano o stosowanie środka zabezpieczającego w postaci detencji psychiatrycznej i był to pojedynczy przypadek, w którym wydano więcej niż jedną opinię. U ośmiu z dziewięciu sprawców w chwili czynu występowały zaburzenia funkcji poznawczych w postaci urojeń (głównie ksbnych, prześladowczych i bycia kontrolowanym) oraz często zaburzenia postrzegania (zazwyczaj imperatywne omamy słuchowe).

Przedstawiając analizowaną grupę można wskazać, że w siedmiu przypadkach sprawcy pozbawili życia dwoje ludzi, w jednym zdarzeniu zabito trzy ofiary, a w jednej sprawie miało miejsce zabójstwo czterech osób. Płeć ofiar rozkładała się w zbliżonych proporcjach (11 – męska, 10 – żeńska), a rozpiętość wieku wynosiła od 1,5 roku do 64 lat przy średniej około 23 lata. Tak niska średnia wieku ofiar podyktowana była faktem, że w ponad połowie przypadków (11 spraw) za-

bójstwa dokonano na osobie niepełnoletniej. Za każdym razem sprawca znał dobrze swoje ofiary i poza jednym przypadkiem mieszkał z nimi, będąc w bliskiej relacji rodzinnej. W ponad połowie analizowanych spraw pozbawione życia zostało dziecko zabójcy (ośmiu synów i trzy córki), pięciokrotnie dotyczyło to współmałżonka, czterokrotnie rodzica. Obie sprawczynie z badanej grupy zabiły tylko własne dzieci, w tym jedną dwójkę, a drugą czwórkę. Natomiast mężczyźni czterokrotnie dopuszczali się czynu wobec żony i dziecka/dzieci, dwukrotnie zabili oboje rodziców, a jeden raz żonę i dalszego znajomego podejrzewanego o bycie jej kochankiem. Ze wszystkimi ofiarami sprawcy pozostawali w bliskiej relacji emocjonalnej, przy czym aż w dwunastu przypadkach stosunek ten był pozytywny.

Tylko w jednym przypadku w chwili ataku sprawca znajdował się pod wpływem alkoholu, a nigdy zabójstwo nie było wynikiem i nie nastąpiło bezpośrednio po kłótni lub awanturze. W sposobie działania sześciu sprawców, którzy zabili piętnaście ofiar dostrzec można było pewne elementy planowania i wcześniejszego przygotowywania działań. Blisko w połowie badanych czynów (10) sprawcy zabili swoje ofiary podczas ich snu. We wszystkich pozostałych konfrontacja miała formę nagłego, zaskakującego, bezpośredniego ataku, a w żadnym przypadku nie stosowano podstępów, oszukania lub ataku z ukrycia. W pierwszym momencie ofiary były zazwyczaj uderzane jakimś przedmiotem (13) lub obezwładniane rękami (6), a dwie osoby zostały postrzelone. Nigdy atak nie przebiegał w postaci duszenia.

Za każdym razem miejscem zdarzenia było mieszkanie lub dom jednorodzinny sprawcy i za wyjątkiem jednego przypadku, w którym zabity został dalszy znajomy, było to również miejsce zamieszkania ofiary. Zwraca uwagę fakt obecności innych ludzi w bezpośredniej lub bliższej okolicy miejsc zdarzeń. Dlatego prawdopodobieństwo pojawienia się potencjalnych świadków było zawsze duże lub co najmniej średnie.

Nie odnotowano żadnego przypadku, w którym ofiara była krępowana, kneblowana lub występowały elementy dodatkowej, niezwyklej agresji wobec niej (np. torturowanie, znęcanie się).

Analizując sposób pozbawienia życia przez sprawców zabójstw wielokrotnych należy podkreślić, że każdy z nich stosował tę samą metodę

wobec wszystkich swoich ofiar. W niektórych przypadkach za przyczynę zgonu odpowiadały obrażenia o różnym charakterze i wielomiejscowej lokalizacji. Najczęściej obserwowano śmiertelne obrażenia od urazów tępych (9), rany cięte (5), rany rąbane (5), a w dalszej kolejności utonięcia (4), postrzały (2) i rany kłute (1). Zaskakująco wysoki odsetek utonięć jest wynikiem jednego zdarzenia, w którym matka utopiła w beczkach z wodą czwórkę swoich dzieci. W jedenastu przypadkach obrażenia skutkujące zgonem dotyczyły głowy, w czterech szyi, a po trzy razy klatki piersiowej i brzucha. Zwraca uwagę fakt, że spośród siedemnastu ofiar, które posiadały na ciele ślady obrażeń, to w dziesięciu przypadkach rozmieszczenie miało charakter koncentracji i grupowania na mniejszych obszarach ciała. W czterech sprawach rozkład był miernie chaotyczny, a w trzech pojedynczy (2 przypadki postrzału i głęboka rana cięta szyi). Liczba wszystkich zadawanych urazów wahała się od jednego (3 przypadki) przez kilka (7 przypadków) do paręnaście-kilkadziesiąt (7 przypadków) przy największej stwierdzonej liczbie wynoszącej około 70. Utopione dzieci nie posiadały żadnych zmian urazowych. Przyglądając się lokalizacji wszystkich śladów obrażeń można stwierdzić, że najczęściej urazy zadawane były w sklepienie głowy (11), twarz (6) i szyję (6). W żadnej ze spraw nie wykazano obrażeń w okolicy narządów rodnych ani innych cech napaści seksualnej. Tylko dwie ofiary posiadały na ciele ślady obrażeń obronnych. Natomiast sześć zabójstw zakwalifikowano jako nadzabijanie (overkilling), z cechami wyładowywania szczególnej agresji na głowie, twarzy i plecach. Rozkład śladów obrażeń wskazywał, że atak przebiegał częściej od tyłu i boku niż bezpośrednio z przodu (17:4) oraz z wyraźną preferencją pozycji leżącej ofiary nad stojącą (12:9). Analizując przebieg zdarzenia w każdym przypadku należy przyjąć, że wszyscy sprawcy zadawali obrażenia wyłącznie z intencją zabicia, w życiowo ważne okolice ciała.

W zdecydowanej większości przypadków narzędzia, którymi posłużono się do zabójstwa zostały porzucone na miejscu zdarzenia i tam znalezione (14). Po zabicu dwóch osób narzędzie ukryto, w jednej sprawie nie zostało nigdy ujawnione, a do uśmiercenia czterech ofiar wykorzystano stojące beczki z wodą. Z reguły było to narzędzie przypadkowe znalezione w miejscu zdarzenia lub poblizu (13), a do czterech zabójstw

posłużono się przedmiotem przygotowanym, przyniesionym na miejsce zbrodni przez sprawcę. Zazwyczaj sprawcy używali jednego narzędzia (15), a jego charakter ewidentnie wskazywał na możliwość zadania obrażeń śmiertelnych (13). Tylko w jednej sprawie wykorzystano dwa narzędzia o podobnym typie i raz sprawca dysponował przedmiotami o całkowicie różnym charakterze. Zawsze jednak wszystkie ofiary konkretnego sprawcy były zabijane przy użyciu tych samych narzędzi. Ofiary wielokrotnych zabójców pozbawione zostały życia za pomocą: siekiery (5), noża (4), młotka (3), podłużnego narzędzia twardego, tępego (3) i długolufowej broni myśliwskiej (2).

Tylko dwóch sprawców, którzy zabili łącznie sześć ofiar ukryło ich ciała po zdarzeniu. Z tego tylko jedno zwłoki zostały wrzucone do rzeki, a pozostałe odnaleziono zamaskowane w miejscu zabójstwa (w beczkach z wodą czwórka dzieci zabita przez matkę oraz w szafie żona zabita przez męża). We wszystkich innych przypadkach ciała znajdowano w miejscach będących sceną zabójstwa, gdyż sprawcy nie interesowali się problemem ich ukrycia. Trzech zabójców po zdarzeniu podjęło działania mające na celu zacieranie śladów przestępstwa, z czego dwóch robiło to metodycznie i kompleksowo, a jeden niedokładnie i chaotycznie. Pozostali nie podejmowali jakichkolwiek czynności związanych z tą kwestią. Pomimo, że wszyscy sprawcy znali dobrze swoje ofiary, to tylko w pięciu przypadkach obserwowano zakrywanie twarzy i oczu przy pomocy takich rzeczy jak odzież, pościel lub koc. Czterokrotnie obecne były natomiast ślady wskazujące na „pielęgnowanie”, dbałość o ciało ofiary po śmierci. Nie stwierdzono w żadnej sprawie manipulowania przy ubraniu ofiar ani zabierania lub przywłaszczania sobie należących do nich przedmiotów. W całej badanej grupie w dwóch przypadkach (4 ofiary) odnotowano działania w postaci niszczenia, zniekształcania ciała po śmierci lub niezwyklej agresji skierowanej wobec zwłok. Dotyczyło to mężczyzny, który rozkawałkował ciała swoich bliskich i dodatkowo jednej osobie usunął wnętrzności wrzucając je do toalety, a drugiej wydtubał oczy i zdjął skórę z głowy. W kolejnym przypadku kobieta po zabójstwie swoich dzieci podpaliła dom, w którym znajdowały się ich ciała. Tylko w jednej sprawie dopatrzono się zachowań rytualnych lub symbolicznych, gdy

sprawca po nakryciu zwłok ofiary położył koło nich krzyżyk drewniany.

Ustalenie osoby sprawcy niepoczytalnego, który dokonał zabójstwa wielokrotnego nie nastęczało zazwyczaj większych trudności wykrywczych i operacyjnych. Byli oni często wskazywani jako podejrzani przez inne osoby lub osobiście powiadamiali otoczenie o popełnieniu przestępstwa. Zazwyczaj sprawców ujęto bezpośrednio lub w pierwszych dniach po zdarzeniu. Z reguły znajdowali się oni wówczas w miejscu zabójstwa, w jego okolicy lub u członków rodziny, a ich zachowanie wzbudzało zainteresowanie i podejrzenia. Tylko jeden z zabójców uciekał i ukrywał się po dokonaniu czynu. Podczas zatrzymania żaden ze sprawców nie stawiał czynnego oporu funkcjonariuszom policji ani nie zachowywał się agresywnie. W toku postępowania karnego prawie wszyscy zabójcy od samego początku, konsekwentnie przyznawali się do popełnionego czynu, nie zmieniali i nie przedstawiali fałszywych wersji przebiegu zdarzenia oraz nie wskazywali innych potencjalnych sprawców. Charakter manifestowanych zaburzeń psychicznych często nie pozbawiał ich możliwości przedstawienia spójnej wersji wydarzeń.

Porównując ze sobą przypadki, w których niepoczytalni sprawcy zabili więcej niż jedną ofiarę ze sprawami, gdy zabójstwo dotyczyło pojedynczej osoby, ujawniły się pewne różnice między oboma grupami. Z przeprowadzonych badań wynikało, że w sytuacjach gdy na miejscu zdarzenia ujawniono zwłoki kilku ofiar, to sprawcy cechowali się znacząco częstszym występowaniem nasilonych zaburzeń depresyjnych ($p=0.00009$, $Fi=0.4201$) oraz obecność pewnych elementów planowania działań ($p=0.00539$, $Fi=0.3375$). Zabójstwa wielokrotne również wiązały się wyraźnie ze współwystępującą motywacją emocjonalno-afektywną ($p=0.01074$, $Fi=0.3824$).

Sprawcy tego typu zabójstw działający w stanie zniesionej poczytalności prawie za każdym razem mieszkali z osobami, którym odebrali życie (wyjątkiem była jedna ofiara), co przy ofiarach pojedynczych zdarzało się tylko w nieco więcej niż połowie przypadków. Różnica ta była znacząca statystycznie ($p=0.00663$, $Fi=0.4023$). Szczególnie predysponowane do stania się jedną z kilku ofiar osoby niepoczytalnej były dzieci ($p=0.00001$, $Fi=0.4113$).

W zabójstwach wielokrotnych wyraźnie częściej niż w pojedynczych, bo w ponad 1/3 przypadków atak odbywał się w czasie snu ofiar ($p=0.00003$, $Fi=0.3991$) i prawie trzykrotnie rzadziej był przeprowadzany od przodu ($p=0.02478$, $Fi=0.4995$). Sposób zadawania urazów prowadził zazwyczaj (ponad połowa przypadków) do koncentracji, grupowania się obrażeń w jednym rejonie, co było znaczącą różnicą w odniesieniu do grupy porównawczej ($p=0.04094$, $Fi=0.5096$). Ponadto stwierdzano obecność pewnych elementów planowania działań ($p=0.01118$) oraz częstsze występowanie agresji emocjonalnej o charakterze „chłodnym” ($p=0.02376$).

W przypadkach zabójstw wielokrotnych sprawcy nieco częściej podejmowali próby samobójcze oraz cechował ich pozytywny stosunek do ofiary, jednak różnice te nie były istotne statystycznie.

DYSKUSJA

Z piśmiennictwa światowego, choć niezbyt licznie dotyczącego omawianego tematu, wynika, że zabójstwa wielokrotne częściej popełniane są przez sprawców dotkniętych poważnymi zaburzeniami psychicznymi, niż przez osoby bez takich obciążeń. Weisman i Sharma, którzy analizowali 64 przypadki zabójstw rodziców przez dzieci wykazali, że 14% sprawców niepoczytalnych odebrało życie obojgu rodzicom, a w grupie poczytalnych odsetek ten wynosił 8% [12]. Inni autorzy podają, że występowanie zabójstw wielokrotnych w grupach sprawców psychotycznych lub z innymi poważnymi zaburzeniami psychicznymi spotyka się w około 6-10% przypadków [3, 7, 8, 9]. Natomiast wśród zabójców bez takich obciążeń odsetek ten jest niższy i nie przekracza paru procent [13]. Przeprowadzone w krakowskim Zakładzie Medycyny Sądowej badania porównawcze wykazały, że wielokrotny typ zabójstwa był znacząco statystycznie liczniej spotykany w grupie sprawców niepoczytalnych w stosunku do grupy poczytalnych ($p=0.0054$) [14]. Ci ostatni zabijając więcej niż jedną osobę kierowali się zazwyczaj motywem ekonomiczno-rabunkowym lub chęcią zemsty i odwetu. Z kolei zabójstwa wielokrotne pod wpływem motywów patologiczno-urojeniowych mają zdecydowanie charakter wewnątrzrodzinny, co potwierdziły w pełni wyniki powyższych badań. Dlatego też

w sytuacji ujawnienia zwłok dwóch lub więcej spokrewnionych ze sobą osób i po wykluczeniu motywacji rabunkowej, należy kierować uwagę na najbliższego członka rodziny, jako bardzo prawdopodobnego sprawcę zabójstwa. Jest to możliwe już w pierwszych etapach prowadzonego śledztwa. Zabójstwa rodzinne z motywu zemsty wynikają zazwyczaj z uwarunkowań kulturowych lub rytualnych i w Polsce zdarzają się wyjątkowo rzadko.

Przypadkom zabójstw z późniejszym samobójstwem sprawcy często towarzyszy większa liczba ofiar oraz wewnątrzrodzinny charakter. Liczne badania podkreślają, że u podstaw takich zachowań z reguły znajdują się poważne zaburzenia psychiczne, a ich udział szacowany jest przez różnych autorów na 20-75% [15, 16, 17]. Dotyczy to szczególnie zaburzeń psychotycznych z silną komponentą depresyjną, reaktywnych z urojeniami depresyjnymi, schizofaktywnych lub dekompensacji psychotycznej w chorobach afektywnych [1, 18]. Gdy zamach samobójczy okazuje się nieskuteczny, to często późniejsze badanie psychiatryczno-psychologiczne wskazuje na niepoczytalność sprawcy. Stwierdzono również, że w przypadkach samobójstw rozszerzonych będących dziełem mężczyzn często ofiarami stają się dzieci i żona [19]. W przypadku kobiet zabijanie mężów wraz z dziećmi przed odebraniem sobie życia zdarza się niezwykle rzadko. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na wiele podobieństw pomiędzy czynami wielokrotnymi, a zabójstwami z późniejszym samobójstwem sprawcy. Podstawową cechą wspólną jest silna emocjonalna relacja pomiędzy sprawcą a ofiarami, mająca zazwyczaj charakter rodzinny. Ofiarami stają się wówczas osoby najbliższe sprawcy, z którymi na co dzień spędza czas i razem porusza się w jednej sieci zależności życiowych. Sceną zabójstwa staje się wtedy miejsce wspólnego zamieszkania. Paradoksalnie wzajemna relacja jest często bezkonfliktowa, ma pozytywne zabarwienie, a zaburzenia psychiczne zniekształcające obraz rzeczywistości prowadzą do zachowań motywowanych patologicznym altruizmem. W rozumieniu sprawcy zabójstwo ma wtedy uchronić bliskich przed rzekomymi nieszczęściami, cierpieniami lub niebezpieczeństwem. Czasami na skutek zaburzeń myślenia i postrzegania sprawcy doświadczają bardzo silnego poczucia zagrożenia swojego życia ze strony innych ludzi. Wówczas zabijają członków rodziny

w przekonaniu, że po ich śmierci najbliżsi zostaną bez opieki i środków do życia. Dlatego w takich sytuacjach do stania się ofiarami predysponowane są szczególnie dzieci.

Zwraca uwagę fakt, że niepoczytalność wszystkich sprawców zabójstw wielokrotnych wynikała z obecności zaburzeń o charakterze psychotycznym, a w żadnej sprawie nie była podyktowana wystąpieniem „innego zakłócenia czynności psychicznych” w rozumieniu art. 31 § 1 k. W takich sytuacjach czyn miał miejsce nie w początkowej fazie choroby, lecz po jej co najmniej kilkuletnim przebiegu. Symptomatyczne było zaniechanie leczenia lub unikanie regularnej kontroli i przyjmowania leków przez sprawców. Towarzyszyła temu bierna postawa najbliższego otoczenia, które ze względu na wcześniejszy brak przejawów agresji traktowało takie osoby jako niegroźne, bezkonfliktowe i nie wymagające szczególnej uwagi. Podkreślić należy, że tylko jeden zabójca w chwili czynu znajdował się pod wpływem alkoholu. Natomiast, pomimo obecności tak poważnych zaburzeń psychicznych, niejednokrotnie obserwowano pewne elementy planowania w działaniach sprawców. Przeczy to powszechnemu przekonaniu, że niepoczytalność a priori wyklucza całkowicie przejawy racjonalnego myślenia i zachowania. Ponadto różniło to zabójstwa wielokrotne od pojedynczych z uwagi na fakt, że zabicie kilku osób w jednym zdarzeniu wymaga pewnej systematyczności i kolejności działań oraz przewidywania, choćby w małym stopniu, trudności możliwych do napotkania.

Ciekawym spostrzeżeniem, nigdzie dotychczas nie odnotowanym w piśmiennictwie, jest to, że niepoczytalni sprawcy zabójstw wielokrotnych często atakują swoje ofiary podczas ich snu. Można to wytłumaczyć faktem, iż w takich sytuacjach zdecydowanie łatwiej jest pozbawić życia naraz kilka osób dysponując metodami o mniejszej sile rażenia i wymagającymi bezpośredniego zbliżenia się do ofiar. Unikają oni w ten sposób bezpośredniej konfrontacji, nie ryzykują ewentualnego oporu, a „altruistyczna” motywacja może im podpowiadać, że w ten sposób ofiary nie będą odczuwały bólu i cierpienia.

Celem niepoczytalnych zabójców wielokrotnych jest tylko i wyłącznie szybkie pozbawienie życia swoich ofiar. Dlatego też nie krępują ich, nie torturują ani nie znęcają się, nie zadają dodatkowego

bólu i nie traktują w sposób przedmiotowy. Aby sprawnie osiągnąć efekt atakują zazwyczaj z zaskoczenia, nagle, od tyłu lub boku, zadają większą ilość obrażeń skupiając je w jednym miejscu na życiowo ważnych okolicach i najczęściej urazy obejmują głowę. W ten sposób ofiary nie mają szans podjąć działań obronnych i nie posiadają śladów obrażeń na kończynach górnych. Zabicie człowieka motywowane zaburzeniami psychotycznymi jest celem nadrzędnym, a sprawcy kompletnie nie interesują się dalszymi konsekwencjami swojego czynu ani nie starają się uniknąć odpowiedzialności (potencjalni świadkowie, zacieranie śladów, ukrywanie ciała lub narzędzia, ucieczka z miejsca zdarzenia, przyznanie się do popełnionego przestępstwa itd.). Za każdym razem wobec wszystkich ofiar sprawca stosował tę samą metodę pozbawienia życia. Potwierdziły się też wcześniejsze spostrzeżenia, że zakrywanie twarzy znanych dobrze sprawcy ofiar po zabójstwie nie jest charakterystyczne dla zabójców z motywów patologiczno-urojeniowych [10].

WNIOSKI

Wyniki niniejszej pracy pozwoliły wykazać, że zabójstwa wielokrotne, popełnione przez sprawców niepoczytalnych, cechują się pewnymi podobieństwami i powtarzalnymi właściwościami. Dotyczy to zarówno samych sprawców jak i zmiennych opisujących sposób ich działania oraz wybór ofiar. Do najbardziej charakterystycznych i typowych cech występujących często w przypadkach zabójstw z udziałem większej liczby ofiar, a dokonanych przez osoby niepoczytalne można zaliczyć:

- obecność zaburzeń psychotycznych z silną komponentą depresyjną,
- kilkuletni przebieg choroby,
- nieagresywna osobowość sprawcy,
- zabójstwo nie jest wynikiem kłótni czy awantury, a sprawca nie znajduje się pod wpływem alkoholu,
- silna emocjonalna relacja pomiędzy sprawcą a ofiarą, która często ma zabarwienie pozytywne (wyraźnie zaznaczony motyw emocjonalno-afektywny, nierzadko mający postać patologicznego „altruizmu”),
- wspólne miejsce zamieszkania sprawcy z ofiarą, które staje się sceną zabójstwa,

- zabijanie członków najbliższej rodziny, a w szczególności własnych dzieci,
- występowanie elementów planowania działań,
- atak na śpiącą ofiarę,
- atak zaskakujący, nagły, bezpośredni ale rzadko przeprowadzany od przodu ofiary,
- koncentracja urazów w jednym regionie ciała,
- dążenie do szybkiego uśmiercenia ofiary przez zadawanie większej ilości obrażeń w okolicy ciała zapewniające błyskawiczne osiągnięcie skutku (głowa, twarz, szyja) i brak działań o typie znęcania się, torturowania, panowania nad ofiarą,
- brak obrażeń „obronnych”,
- brak seksualnych elementów napaści,
- narzędzie czynu przypadkowe, znajdowane zazwyczaj na miejscu zdarzenia.

PIŚMIENNICTWO

1. Szynusik A.: Zabójstwa popełniane przez chorych psychicznie. W: Gierowski J. K., Majchrzyk Z., red. *Psychopatologia zabójstw. Sympozjum Naukowe Sekcji Psychiatrii Sądowej Polskiego Towarzystwa Psychiatrycznego XXXVII Zjazd Naukowy Psychiatrów Polskich*; 1992 kwiecień; Poznań, Polska. Warszawa; 1992: 27-30.

2. Vielma M., Vincente B., Hayes G. D., Larkin E. P., Jenner F. A.: Mentally abnormal homicide – a review of a special hospital male population. *Med Sci Law*. 1993; 33: 47-54.

3. Leong G. B., Silva J. A.: A psychiatric-legal analysis of psychotic criminal defendants charged with murder. *J Forensic Sci*. 1995; 40: 445-48.

4. Simpson A. I. F., McKenna B., Moskowitz A., Skipworth J., Barry-Walsh J.: Homicide and mental illness in New Zealand 1970-2000. *Br J Psychiatr*. 2004; 185: 394-398.

5. Koh K. G. W. W., Gwee K. P., Chan Y. H.: Psychiatric aspects of homicide in Singapore: a five-year review (1997-2001). *Singapore Med J*. 2006; 47: 297-304.

6. Laajasalo T., Haakanen H.: Excessive violence and psychotic symptomatology among homicide offenders with schizophrenia. *Crim Behav Ment Health*. 2006; 16: 242-253.

7. Shaw J., Hunt I., Flynn S., Meehan J., Robinson J., Bickley H., et al.: Rates of mental disorder in

Ponadto zwrócono uwagę na podobieństwa pomiędzy zabójstwami wielokrotnymi, a czynami o typie zabójstwo-samobójstwo (samobójstwo rozszerzone, poagresyjne, dyadic death).

Przeprowadzone badania dały możliwość scharakteryzowania tej rzadkiej, choć szczególnej i wzbudzającej duże zainteresowanie grupy zabójstw. Informacje z przeprowadzonych badań mogą okazać się bardzo pomocne i przydatne w praktyce, na przykład w obszarze profilowania nieznanego sprawcy zabójstwa, w zakresie opinio- wania sądowo-psychiatrycznego lub prowadzonych czynności dochodzeniowo-śledczych. Podkreślają też znaczenie medycyny sądowej dla wzajemnej in- spiracji i rozwoju „nauk pomostowych” na gruncie wspólnych zainteresowań, celów, materiału i metody badawczej.

people convicted of homicide: a national clinical survey. *Br J Psychiatr*. 2006; 188: 143-147.

8. Laajasalo T.: Finnish homicides and mental disorders: an investigation of offence and offender characteristics [dissertation]. Helsinki: Helsinki University Printing House; 2007.

9. Matejkowski J. C., Cullen S. W., Solomon P. L.: Characteristics of persons with severe mental illness who have been incarcerated for murder. *J Am Acad Psychiatry Law*. 2008; 36: 74-86.

10. Szaszkievicz M.: Model opracowywania charakterystyki psychofizycznej nieznanego sprawcy zabójstwa. W: Gierowski J. K., Jaśkiewicz-Oby- dzińska T., red. *Zabójcy i ich ofiary. Psychologiczne podstawy profilowania nieznanego sprawcy zabójstwa*. Kraków: Wydawnictwo IES; 2002.

11. Gradoń K.: Zabójstwo wielokrotne. Profilowanie kryminalne. Warszawa: Wolters Kluwer Polska Sp. z o.o; 2010.

12. Weisman A. M., Sharma K. K.: Forensic analysis and psycholegal implications of parricide and attempted parricide. *J Forensic Sci*. 1997; 42: 1107-1113

13. Leong G. B., Silva J. A.: A psychiatric-legal analysis of criminal defendants charged with murder: a sample without major mental disorder. *J Forensic Sci*. 1995; 40: 858-861.

14. Bolechała F.: *Medyczno-sądowa analiza zabójstw dokonanych przez sprawców niepoczy- talnych (praca doktorska)*. Kraków; Uniwersytet

Jagielloński Collegium Medicum Wydział Lekarski;
2010.

15. Coid J.: The epidemiology of abnormal homicide and murder followed by suicide. *Psychol Med.* 1983; 13: 855-860.

16. Milroy C. M.: The epidemiology of homicide-suicide (dyadic death). *Forensic Sci Int.* 1995; 71: 117-122.

17. Lecomte D., Fornes P.: Homicide followed by suicide. *J. Forensic Sci.* 1998; 43: 760-764.

18. Gierowski J. K.: *Motywacja zabójstw.* Kraków: Wydawnictwo Akademii Medycznej w Krakowie; 1989.

19. Hatters Friedman S., Hrouda D. R., Holden C. E., Noffsinger S. G., Resnick P. J.: Filicide-suicide: common factors in parents who kill their children and themselves. *J Am Acad Psychiatry Law.* 2005; 33: 496-504.

Adres do korespondencji:

ul. Grzegórzecka 16

31-531 Kraków

e-mail: filip.bolechala@gmail.com

Ewa Pufal, Marzena Sykutera, Teresa Nowacka, Anna Stefanowicz, Karol Śliwka

Opracowanie metody oznaczania citalopramu i desmetylocitalopramu w paznokciach i włosach i jej wykorzystanie w toksykologii sądowej*

Development of a method for estimation of citalopram and desmethylcitalopram in nails and hair and its usefulness in forensic toxicology

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Kierownik Katedry: dr hab. med. T. Grzybowski, prof. UMK

W pracy przedstawiono możliwość wykorzystania włosów i paznokci do oznaczania citalopramu i jego metabolitu (desmetylocitalopramu). Citalopram jest lekiem przeciwdepresyjnym z grupy selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI) stosowanym w leczeniu depresji, w zapobieganiu nawrotów zaburzeń depresyjnych oraz w niektórych zaburzeniach lękowych. Do badań wykorzystano metodę chromatografii cieczowej z detektorem masowym. W toku przeprowadzonych badań opracowano metodę izolacji i identyfikacji citalopramu i jego metabolitu (desmetylocitalopramu) z włosów i paznokci. Paznokcie i włosy pozyskano od osób, które przyjmowały citalopram w terapeutycznych dawkach co najmniej przez okres 12 miesięcy. Materiał pobierano po zaprzestaniu przyjmowania leku. W wyniku przeprowadzonych badań, w paznokciach stwierdzono obecność citalopramu w stężeniu 0,40-10,49 ng/mg, a desmetylocitalopramu w stężeniu 0,32-3,70 ng/mg. We włosach stężenie citalopramu wynosiło 1,04-8,69 ng/mg, a desmetylocitalopramu 0,07-1,27 ng/mg.

The report presents the possibility of using an alternative material of determining citalopram and its metabolite (desmethylcitalopram) in hair and nails. Citalopram (Cipramil, Citaratio, Citaxin, Oropam,

Cital, Cilon, Aurex) is an antidepressant drug of the selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) class, employed in treatment of depression, prevention of depressive disorders recurrence and in some anxiety disorders. The investigations were performed using liquid chromatography coupled with electrospray-ionization mass spectrophotometry (LC-ESI-MS). In the course of the study, the authors developed a method for isolation and identification of Citalopram and its metabolite (desmethylcitalopram) from hair and nails. Determination were performed in hair and nail samples collected from individuals who had been administered citalopram in therapeutic doses at least for 12 months before sample collection. Hair and nail samples were obtained 4, 6, 9 and 15 months after discontinuing drug administration. The concentration of citalopram in nails was 0.40-10.49 ng/mg and the concentration of desmethylcitalopram was 0.32-3.70 ng/mg. In hair, citalopram concentration was 1.04-8.69 ng/mg and for desmethylcitalopram, the concentration range was 0.07-1.27 ng/mg.

Słowa kluczowe:

citalopram, desmetylocitalopram,
paznokcie, włosy, LC-ESI-MS

Key words:

citalopram, desmethylcitalopram,
nails, hair, LC-ESI-MS

* Poszerzona wersja referatu, przedstawionego podczas XV Zjazdu Naukowego PTMSiK, Gdańsk 16-18.09.2010. Badania zostały sfinansowane przez Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu w ramach grantu UMK 2/2009 (Collegium Medicum).

WSTĘP

Citalopram (1-[3-(dimetylamino)propylo]-1-(4-fluorofenylo)-1,3-dihydro-5-izobenzofurankarbonitryl) jest lekiem przeciwdepresyjnym z grupy selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI), stosowanym w leczeniu depresji, w zapobieganiu nawrotów zaburzeń depresyjnych oraz w niektórych zaburzeniach lękowych. Depresja i związana z nią obniżona jakość życia sprawia, że coraz częściej stosowane są leki przeciwdepresyjne a w tym citalopram. Został on wprowadzony do światowego lecznictwa w 1989 roku przez duńską firmę farmaceutyczną H. Lundbeck pod nazwą handlową Cipramil. Obecnie jest składnikiem czynnym preparatów, takich jak: Cipramil, Seropram, Cital, Citalon, Citaxin, Cilon, Oropam. Citalopram występuje w postaci pary izomerów optycznych S- i R-enancjomerów, z których S-enancjomer odpowiada za działanie przeciwdepresyjne, natomiast R-enancjomer jest nieaktywny. Citalopram wchłania się szybko po podaniu doustnym, osiągając największe stężenie w osoczu średnio po 4 h (1-7 h). Jego biodostępność wynosi 80%, a okres półtrwania 33 h. Stężenie citalopramu we krwi osiąga stan równowagi po upływie 1-2 tygodni od podania leku i mieści się w granicach 20-200 ng/ml. Leczenie citalopramem rozpoczyna się od podawania leku w dawce 20 mg, po czym zwiększa się dawkę do 40-60 mg. Przed zakończeniem terapii dawkę leku stopniowo się zmniejsza. Citalopram jest eliminowany przez wątrobę (85%) oraz nerki (15%). Tylko 12-23% citalopramu jest wydalone w postaci nie zmienionej. Głównym metabolitem citalopramu jest desmetylocitalopram.

Citalopram jest dobrze tolerowany przez organizm, nie wywołuje uzależnienia, a dzięki wysokiej selektywności ma niewiele działań niepożądanych. W przypadku inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny najniebezpieczniejszym działaniem niepożądanym jest zespół serotoninergiczny. Stan ten jest wynikiem znacznie podwyższonego stężenia serotoniny. Do takiej sytuacji może dojść po znacznym przedawkowaniu citalopramu [1] lub po przypadkowym podaniu go pacjentowi, który przyjmuje leki będące inhibitorami enzymów z grupy MAO [2].

W dostępnej literaturze opisano wiele metod oznaczania citalopramu i desmetylocitalopramu

w materiale biologicznym takim jak krew, surowica czy włosy [1-5]. Wyniki analizy krwi czy surowicy pozwalają na stwierdzenie, czy dana osoba w chwili pobrania próby była pod działaniem leku, natomiast nie dają odpowiedzi czy lek był przyjmowany w przeszłości. W takich sytuacjach analiza paznokci lub włosów pozwoli na retrospektywną ocenę przyjmowania danego leku.

Badania prowadzone przez wielu autorów [6-14] dowodzą, że cennym materiałem diagnostycznym są włosy dlatego, iż większość ksenobiotyków, w tym między innymi substancje psychoaktywne czy leki, odkłada się w nich i daje możliwość ich wykrycia. Z badań prowadzonych przez Müllera C. i innych [12], którzy oznaczali citalopram we włosach osób, które były w trakcie leczenia citalopramem wynika, że stężenie tego leku we włosach w segmencie 0-2 cm wynosiło 1107 ng/mg, a w segmencie 2-4 cm 557 ng/mg.

Obserwacja kierunków rozwoju toksykologii wskazuje, że spośród materiałów alternatywnych duże znaczenie mają również paznokcie [7-9, 14-19]. Wyniki dotychczasowych badań ksenobiotyków w paznokciach zachęcają do rozszerzenia tych badań na inne leki. W literaturze brak jest danych na temat oznaczania citalopramu w paznokciach.

Analiza paznokci wzbudza coraz większe zainteresowanie zarówno w medycynie sądowej, jak i medycynie klinicznej. Paznokcie, podobnie jak włosy, rosną w sposób ciągły (u rąk 2-4 razy szybciej, niż u stóp). Średni dobowy przyrost płytki paznokciowej kciuka wynosi 0,1 mm na dobę, natomiast całkowity odrost paznokcia od rąk trwa około 3-6 miesięcy, a od stóp średnio 12-18 miesięcy. Tempo wzrostu zależy od płci, wieku (najszybciej rosną w 2 i 3 dekadzie życia, z wiekiem wzrost paznokci jest coraz wolniejszy), diety, czynników dziedzicznych, pory roku (szybszy wzrost paznokcia obserwuje się latem aniżeli zimą).

Celem niniejszej pracy było opracowanie metody oznaczania citalopramu i jego metabolitu – desmetylocitalopramu w paznokciach i włosach oraz wykorzystanie jej do oznaczania tych związków w próbkach pobieranych od pacjentów, którzy zakończyli terapię citalopramem. Celem pracy było również wykazanie jak długo po zaprzestaniu przyjmowania leku istnieje możliwość wykrycia citalopramu.

MATERIAŁ I METODA

Materiał

Materiał do badań stanowiły paznokcie z rąk i stóp oraz włosy pobrane od osób, które przyjmowały citalopram w dawkach terapeutycznych przez okres 12 miesięcy. Paznokcie i włosy pobierano po upływie 4, 6, 9 i 15 miesięcy od chwili zakończenia terapii. Do badań pobierano fragmenty włosów o długości 1 cm, przycięte przy skórze oraz paznokcie z rąk i stóp o długości 1-2 mm. Próby przechowywano w temperaturze pokojowej.

Ekstrakcja

Próbki paznokci i włosów przed ekstrakcją poddano dekontaminacji z użyciem wody destylowanej a następnie n-heksanu. Procedurę przeprowadzono w łaźni ultradźwiękowej. Wysuszone paznokcie i włosy pocięto na drobne segmenty i poddano hydrolizie z użyciem 1M NaOH przez 10 min. w temp. 95°C. Ekstrakcję citalopramu i desmetylocitalopramu przeprowadzono z użyciem chlorku metylenu (pH 8-10).

Analiza LC-ESI-MS

Analizę jakościową i ilościową citalopramu i desmetylocitalopramu przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografu ciekowego sprzężonego z detektorem masowym z jonizacją elektrosprej (LC-ESI-MS) firmy Agilent Technologies 1100 Series. Rozdział chromatograficzny przeprowadzono na kolumnie Eclipse XDB C18 (150 mm x 4,6 mm, 5µm). Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę acetonitryl-TFA (60:40 v/v) z przepływem 0,4 ml/min. Parametry detektora masowego: napięcie fragmentora 70 V, napięcie kapilary 3 kV, temperatura N₂ 350°C, ciśnienie nebulizera 30 psi, przepływ gazu suszącego 12 L/min.

Analizę citalopramu i desmetylocitalopramu prowadzono w opcji monitorowania wybranego jonu (SIM) [MH⁺] 325 m/z dla citalopramu, [MH⁺] 311 m/z dla desmetylocitalopramu. Czas retencji dla citalopramu t_R = 5,2 min, dla desmetylocitalopramu t_R = 4,8 min, dla diazepam (IS) t_R = 7,1 min.

Walidacja metody

Do kalibracji metody wykorzystano materiał kontrolny – paznokcie oraz włosy pobrane od osób,

które nie przyjmowały citalopramu. Przygotowano próby wzorcowe paznokci i włosów, zawierające citalopram o stężeniu 0,05 ng/mg, 0,1 ng/mg, 1 ng/mg, 15 ng/mg. Tak przygotowane próby poddano analizie w identycznych warunkach, jak próby włosów i paznokci pobrane od pacjentów.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Analizę citalopramu i desmetylocitalopramu we włosach i w paznokciach przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografii ciekowej z detektorem masowym. Krzywa kalibracyjna dla obu związków wykazywała liniowy przebieg w badanym zakresie stężeń (0,05 - 15 ng/mg). Współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio: R² = 0,9711 (citalopram, włosy), R² = 0,9936 (citalopram, paznokcie), R² = 0,9953 (desmetylocitalopram, włosy), R² = 0,9990 (desmetylocitalopram, paznokcie). Granica wykrywalności (LOD) citalopramu i desmetylocitalopramu wynosiła 0,01 ng/mg, natomiast granica oznaczalności LOQ=0,05 ng/mg. Precyzję w seriach wewnątrz- i międzygrupowych, wyrażoną w RSD, obliczono na podstawie serii trzech powtórzeń (n=3) analiz prób włosów i prób paznokci, zawierających citalopram i desmetylocitalopram o stężeniu 0,75 ng/mg. Serie powtarzano w ciągu trzech dni (p=3). Wyznaczone precyzje w seriach wewnątrzgrupowych nie przekraczały 5,2%, natomiast precyzje w seriach międzygrupowych dla analizowanych związków nie były wyższe niż 5,7%.

Opracowaną metodę wykorzystano do oznaczenia poziomu citalopramu i desmetylocitalopramu – jego metabolitu we włosach oraz paznokciach rąk i stóp, pobranych od osób przyjmujących citalopram w dawkach terapeutycznych przez 12 miesięcy. Materiał pobierano od pacjentów po upływie 4, 6, 9 i 15 miesięcy po zaprzestaniu terapii. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli I i II.

W analizowanych próbach włosów i paznokci stwierdzono obecność citalopramu i desmetylocitalopramu, nawet po upływie 15 miesięcy po zakończeniu terapii. W próbach włosów, pobranych po upływie 4 miesięcy od zakończenia terapii, stwierdzono najwyższe stężenie citalopramu (8,6 ± 2,1 ng/mg), które zmniejszało się wraz z upływem czasu. Jeszcze po 15 miesiącach od zakończenia leczenia można było stwierdzić we

Tabela I. Stężenie citalopramu i desmetylocitalopramu we włosach pobranych od osób, po zakończeniu terapii citalopramem.

Table I. Citalopram and desmethylcitalopram concentration in hair samples collected from patients after cessation of citalopram treatment.

Czas po zakończeniu terapii Time after cessation of therapy	Citalopram [ng/mg]	Desmetylocitalopram [ng/mg]
4 miesiące 4 months	8,6 ± 2,1	0,98 ± 0,16
6 miesięcy 6 months	6,5 ± 1,6	0,90 ± 0,12
9 miesięcy 9 months	6,6 ± 1,5	1,27 ± 0,20
15 miesięcy 15 months	1,0 ± 0,3	0,07 ± 0,01

Tabela II. Zawartość citalopramu i desmetylocitalopramu w paznokciach pobranych od osób, po zakończeniu terapii citalopramem.

Table II. Citalopram and desmethylcitalopram concentration in nails samples collected from patients after cessation of citalopram treatment.

Czas po zakończeniu terapii Time after cessation of therapy	Citalopram [ng/mg]		Desmetylocitalopram [ng/mg]	
	pazn. z rąk fingernails	pazn. ze stóp toenails	pazn. z rąk fingernails	pazn. ze stóp toenails
4 miesiące 4 months	0,40 ± 0,13	0,91 ± 0,43	0,47 ± 0,22	1,20 ± 0,36
6 miesięcy 6 months	2,36 ± 0,71	5,24 ± 2,23	0,74 ± 0,36	1,71 ± 0,39
9 miesięcy 9 months	6,80 ± 2,64	10,49 ± 4,02	2,67 ± 0,55	0,99 ± 0,37
15 miesięcy 15 months	0,69 ± 0,20	1,14 ± 0,73	0,58 ± 0,16	0,32 ± 0,12

włosach obecność leku w stężeniu $1,0 \pm 0,3$ ng/mg. Interpretacja analizy ilościowej włosów stwarza wiele problemów, bowiem mechanizm wbudowywania ksenobiotyków we włosy, jak dotąd nie został jeszcze wystarczająco poznany. Jest to proces złożony i zależy od wielu czynników takich jak na przykład tempo wzrostu włosów, kolor włosów, wiek, płeć oraz właściwości osobnicze. Ważną rolę odgrywa również charakter chemiczny związku, jego właściwości fizykochemiczne takie jak lipofilność i polarność, powinowactwo do połączeń z białkami krwi, metabolizm, szybkość przepływu krwi, rozpuszczalność ksenobiotyku w lipidach [20]. Z danych literaturowych wynika, że w zależności od właściwości osobniczych włosy rosną od 0,7 do 3,6 cm/miesiąc. Mając na uwadze fakt, iż włosy do badań były pobierane od osób w podeszłym wieku można by przyjąć, że tempo ich wzrostu było mniejsze niż 1 cm/miesiąc. W związku z tym włosy pobrane po 15 miesiącach odzwierciedlałyby okres czasu około 10-11 miesięcy po zakończeniu terapii. Jak dotąd brak w literaturze danych dotyczących czasu pojawiania się citalopramu we włosach po zaprzestaniu przyjmowania leku. Takie badania przeprowadzono dla innych związków. Z badań prowadzonych nad ustaleniem czasu pojawiania się ksenobiotyków we włosach po jednorazowym ich podaniu w dawce terapeutycznej wynika, że w przypadku kokainy związek ten można było jeszcze wykryć po 10 dniach od podania, morfinę po 7-8 dniach a meprobamat po 4-5 dniach [20]. Müller C. i inni [12] w swojej pracy przedstawił wyniki badań włosów pobranych od osoby będącej w trakcie terapii citalopramem i przyjmującej ten lek od 4 miesięcy. Badania dowiodły, że w trakcie leczenia citalopramem stężenie tego leku we włosach jest bardzo wysokie. Stężenie citalopramu oznaczone metodą LC/ESI-CID/MS oraz metodą GC/MS wynosiło w segmencie 2-4 cm czyli na początku terapii 557 ng/mg, natomiast w segmencie 0-2 cm wynosiło aż 1107 ng/mg. Stwierdzone przez Müllera stężenie citalopramu we włosach osoby będącej w trakcie leczenia jest więc 1000 razy większe niż, jak wykazano w przeprowadzonych przez nas badaniach, stężenia citalopramu we włosach pobranych po zakończeniu terapii citalopramem.

W paznokciach rąk i stóp stwierdzono wyraźnie

wyższe stężenia citalopramu w próbach pobranych po upływie 9 miesięcy po zaprzestaniu terapii. Być może jest to związane z tym, iż w początkowym okresie terapii podawane są mniejsze dawki citalopramu, które są zwiększane stopniowo w dalszym etapie leczenia. Wyższe stężenia citalopramu w paznokciach pobranych ze stóp niż w paznokciach pobranych z rąk, można by tłumaczyć różnym tempem wzrostu paznokci. Przeprowadzone badania wykazały, że stężenie citalopramu było zdecydowanie wyższe we włosach niż w paznokciach z rąk, jak i stóp. Podobną zależność można było zaobserwować w przypadku analizy innych leków w tym między innymi atenololu [7], gdzie we włosach stwierdzono 1,5 ng/mg tego leku a w paznokciach 0,5 ng/mg.

Na rozmieszczenie citalopramu i jego kumulowanie się w poszczególnym materiale biologicznym mogą mieć wpływ zarówno jego właściwości chemiczne, jak i procesy biochemiczne. Stąd też mogą wynikać różnice w rozmieszczaniu się citalopramu i desmetylocitalopramu pomiędzy włosy i paznokcie.

WNIOSKI

Przedstawiona w niniejszej pracy metoda oznaczania citalopramu i desmetylocitalopramu we włosach i paznokciach pozwala na oznaczenie tego związku na poziomie 0,05 ng/mg. Alternatywny materiał biologiczny, taki jak włosy i paznokcie, może być wykorzystywany do badań za życia, jak również w badaniach pośmiertnych w toksykologii sądowej, z uwagi na to, że nie ulega takim zmianom rozkładowym, jak krew czy mocz. Ponadto pobieranie włosów i paznokci do badań jest metodą nieinwazyjną, zapewniającą większą wiarygodność otrzymanego materiału (w przypadku niepewności istnieje możliwość ponownego pobrania próby lub jej porównania). Próby nie wymagają również szczególnych warunków w czasie przechowywania i transportu. Analiza włosów i paznokci może być wykorzystana do retrospektywnego zobrazowania przyjmowania leku zarówno w medycynie sądowej oraz toksykologii klinicznej. Umiejętność oznaczania rodzaju i poziomu leku w paznokciach jest szczególnie istotna wtedy, gdy z uwagi na modę lub inne uwarunkowania, u danego osobnika włosów brak.

PIŚMIENICTWO

1. Horak E. L., Jenkins A. J.: Postmortem distribution of olanzapine and citalopram in a drug intoxication. *J. Forensic Sci.* 2005, 50, 679-681.

2. Dams R., Benijts T. H., Lambert W. E., Van Bocxlaer J. F., Van Varenbergh D., Van Peteghem C., De Leenheer A. P.: A fatal case of serotonin syndrome after combined moclobemide-citalopram intoxication. *J. Anal. Toxicol.* 2001, 25, 147-151.

3. Olesen O. V., Linnet K.: Simplified high-performance liquid chromatographic method for the determination of citalopram and desmethylcitalopram in serum without interference from commonly used psychotropic drugs and their metabolites. *J. Chromatogr. B.* 1996, 675, 83-88.

4. Matsui E., Hoshino M., Matsui A., Okahira A.: Simultaneous determination of citalopram and its metabolites by high-performance liquid chromatography with column switching and fluorescence detection by direct plasma injection. *J. Chromatogr. B.* 1995, 668, 299-307.

5. Meng Q. H., Gauthier D.: Simultaneous analysis of citalopram and desmethylcitalopram by liquid chromatography with fluorescence detection after solid-phase extraction. *Clin. Biochem.* 2005, 38, 282-285.

6. Kłys M., Rojek S., Ściśtowski M., Bolechała F.: Znaczenie analizy włosów w ocenie kompleksowych zatrucí śmiertelnych lekami dla celów orzecznictwa sądowo-lekarskiego. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2004, 54, 125-138.

7. Pufal E.: Badania nad oznaczaniem leków w wytworach naskórka i ich przydatność w toksykologii sądowej. *Problems of Forensic Sciences*, 2002, 52, 7-20.

8. Pufal E.: Oznaczanie ksenobiotyków w wytworach naskórka i ich przydatność w toksykologii sądowej. *Problems of Forensic Science*, 2004, 54, 5-17.

9. Pufal E., Piotrowski P., Śliwka K.: Bestimmung von Ticlopidin in Kopfhaaren, Fingernägeln und Zehennägeln. XIV. Mosbacher Symposium der GTFCh, 14-16.04.2005, Mosbach, Germany (Posterpräsentation).

10. Rojek S., Kłys M., Konopka T.: Zastosowanie analizy wybranych substancji psychoaktywnych we włosach dla celów opiniowania sądowo-lekarskiego. Część I. Analiza segmentowa włosów

w przypadkach śmiertelnych zatrucí opioidami i amfetaminami. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2009, 59, 273-278.

11. Rojek S., Kłys M., Rzepecka-Woźniak E., Konopka T.: Zastosowanie analizy wybranych substancji psychoaktywnych we włosach dla celów opiniowania sądowo-lekarskiego. Część II. Przypadki złożonych zatrucí śmiertelnych: heroina-kokaina-amfetaminy w mechanizmie interakcji. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2010, 60, 12-17.

12. Müller C., Vogt S., Goerke R., Kordon A., Weinmann W.: Identification of selected psychopharmaceuticals and their metabolites in hair by LC/ESI-CID/MS and LC/MS/MS. *Forensic Sci. Int.* 2000, 113, 415-421.

13. Weinmann W., Müller C., Vogt S., Frei A.: LC-MS-MS analysis of the neuroleptics clozapine, flupentixol, haloperidol, penfluridol, thioridazine and zuclopenthixol in hair obtained from psychiatric patients. *J. Anal. Toxicology* 2002, 26, 303-307.

14. Sykutera M., Pufal E., Bloch-Bogusławska E.: Oznaczanie leków przeciwdepresyjnych w materiale biologicznym pobranym od osób, których zgon był skutkiem samobójstwa przez powieszenie. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2008, 58, 177-181.

15. Pufal E., Sykutera M., Piotrowski P.: Opracowanie metody oznaczania leków przeciwdepresyjnych w paznokciach i jej wykorzystanie w toksykologii sądowej. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2008, 58, 171-176.

16. Paleri A., Pichini S., Pacifici R., Zuccaro P., Lopez A.: Drugs in nails: physiology, pharmacokinetics and forensic toxicology. *Clin. Pharmacokinet.* 2000, 38, 195-210.

17. Cingolani M., Scavella S., Mencarelli R., Mirtella D., Foldi R., Rodriguez D.: Simultaneous detection and quantitation of morphine, 6-acetylmorphine and cocaine in toenails: comparison with hair analysis. *J. Anal. Toxicol.* 2004, 28, 128-131.

18. Daniel C. R., Piraccini B. M., Tosti A.: The nail and hair in forensic science. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2004, 50, 258-261.

19. Garside D., Roper-Miller J. D., Kolberger B. A., Hamilton W. F., Maples W. R.: Identification of cocaine analytes in fingernail and toenail specimens. *J. Forensic Sci.* 1998, 43, 113-117.

20. Wenig R.: Potential problems with the interpretation of hair analysis results. *Forensic Sci. Int.* 2000, 107, 5-12.

Adres do korespondencji:
Katedra Medycyny Sądowej
UMK w Toruniu
Collegium Medicum w Bydgoszczy
ul. Marii Skłodowskiej-Curie 9
85-094 Bydgoszcz
Tel. 052 585 35 52

Piotr Engelhardt, Weronika Grzech¹, Jarosław Drzewiecki¹, Karol Śliwka

Przydatność badań lekarskich wymienionych w „protokole pobrania krwi” dla oceny stopnia upojenia alkoholem

Evaluating the applicability of medical examinations constituting „the protocol of obtaining a blood sample” in measuring the degree of intoxication

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Kierownik Katedry: dr hab. med. T. Grzybowski, prof. UMK

¹ Z Laboratorium Kryminalistycznego Komendy Wojewódzkiej Policji w Bydgoszczy

Podstawowym narzędziem oceny stanu trzeźwości są badania zawartości alkoholu w powietrzu wydychanym oraz badania krwi. Przed pobraniem krwi osoba taka jest badana przez lekarza, który wypełnia „protokół pobrania krwi”. W niniejszej pracy postanowiono ocenić przydatność stosowanego w protokole badania lekarskiego do oceny stopnia upojenia alkoholem etylowym. W tym celu przeanalizowano 352 „protokoły pobrania krwi” nadesłane do Laboratorium Kryminalistycznego KWP w Bydgoszczy i porównano je z wynikami analizy krwi. Uzyskane wyniki wskazują, że elementy badania lekarskiego wymienione w „protokole pobrania krwi”, wykazują niewielką przydatność w określaniu stopnia upojenia alkoholem etylowym; najbardziej wartościowe są zapach alkoholu z ust oraz wnioski badającego lekarza. Sumaryczne wykorzystanie odstępstw od normy również nie wpływa na zwiększenie przydatności stosowanych w ramach „protokołu pobrania krwi” badań do oceny stopnia upojenia alkoholem etylowym.

Breathalysing and blood analysis is the basic instrument of measuring the level of intoxication. Prior to collecting a blood sample, an individual suspected of being under the influence of alcohol is examined by a physician, who fills out the „protocol of obtaining a blood sample”. This work aims at evaluating the applicability of the described examination in measuring the level of intoxication. In order to do so, our team analyzed 352 „protocols of obtaining blood sample” referred to the Forensic Laboratory KWP in Bydgoszcz, Poland, and compared them with the results of blood analysis. The results of the above

analysis point to the fact that the elements of medical examination constituting „the protocol of obtaining a blood sample” are of a minor usefulness in determining the degree of intoxication with ethyl alcohol. The smell from the mouth and the conclusions formulated the examining physician prove to be the most useful. The summary usage of deviations from the norm does not seem to increase the usefulness of methods used within „the protocol of obtaining a blood sample” in evaluating the degree of intoxication.

Słowa kluczowe:

alkohol etylowy, zatrucie, badania lekarskie

Keywords:

ethyl alcohol, intoxication,
medical examination

WSTĘP

Podstawowym narzędziem oceny stanu trzeźwości jest badanie krwi bądź powietrza wydychanego na zawartość alkoholu. W przypadku pobrania krwi od osoby podejrzewanej o spożycie alkoholu lub środków działających podobnie do alkoholu dokonuje się badania lekarskiego wg „protokołu pobrania krwi” dołączonego do pakietu do pobrania krwi.

Możliwości oceny stopnia upojenia alkoholem w oparciu o badanie kliniczne były tematem wielu opracowań, szczególnie z lat 50-80-tych ubiegłego wieku, których wyniki zostały szczegółowo zebrane w licznych publikacjach książkowych [1, 2], zagadnienie to było także tematem rozprawy doktorskiej [3]. Wprowadzenie uregulowanych prawnie

progów trzeźwości, zastosowanie swoistych metod oznaczania stężenia alkoholu we krwi oraz rozpowszechnienie urządzeń kontrolno-pomiarowych do analizy ilościowej alkoholu w wydychanym powietrzu spowodowało stopniowy spadek zainteresowania niniejszym tematem. Jednakże wraz z popularyzacją używania substancji psychoaktywnych, coraz częstszym stosowaniem nieobojętnych dla ośrodkowego układu nerwowego leków oraz rozwojem motoryzacji stopniowo obserwuje się powrót zainteresowania przydatnością badania klinicznego w ocenie uczestników ruchu drogowego. W związku z powyższym w niniejszej pracy postanowiono ponownie, po upływie dłuższego czasu, skonfrontować wyniki badania lekarskiego, wykonywanego standardowo według protokołu pobrania krwi na alkohol, z wynikami badania krwi.

Elementy badania wg „protokołu pobrania krwi” obejmują podstawowe obserwacje dotyczące wyglądu i stanu osoby badanej. W dalszym ciągu zwraca uwagę podnoszony w przeszłości [2, 3] brak jasnych i precyzyjnych standardów wykonania tych badań, co obniża wartość badania lekarskiego. Poza tym na wynik badania wpływają także inne niezależne zmienne, takie jak: rzetelność badania lekarskiego, indywidualna reakcja na alkohol, zmęczenie, stres itd.

Skutkiem tego są zbyt często występujące sprzeczności pomiędzy wynikami badań a wynikami analizy próby krwi [1]. Przykładowo z opracowania Manczarskiej wynikało, że ocena stanu trzeźwości na podstawie badania klinicznego jest trafna przy koncentracji alkoholu powyżej 1‰, w prawie 93%, przy poziomie alkoholu 0,5-0,99‰ w 76,5%. Natomiast w przypadku stężeń 0,21-0,5‰ lekarz pomimo występowania w większości przypadków zaburzeń tętna i zapachu alkoholu z ust stwierdzał, że badany nie jest pod działaniem alkoholu [4]. Z kolei m.in. Górski w swoich badaniach podnosił, że prawie w 17% przypadków lekarze uznali za trzeźwe osoby, u których badanie krwi dało wynik dodatni. Sytuacja odwrotna, to jest uznanie na podstawie badania klinicznego za nietrzeźwe osoby, u których badanie krwi dało wynik ujemny, miała miejsce w 12% przypadków [5].

Zarówno Manczarska jak i Dzida zauważyli, że prawidłowe rozpoznania nietrzeźwości oparte są w praktyce przede wszystkim na stwierdzeniu zapachu alkoholu z ust [3, 4]. Według Dzidy próba

Romberga i palec-nos są zupełnie bez znaczenia [3].

Badanie lekarskie wg „protokołu pobrania krwi” było przedmiotem analizy w tutejszej Katedrze pod kątem przydatności do rozpoznawania czy badana osoba jest pod wpływem środków działających podobnie do alkoholu. Z analizowanego materiału wynikało, że badanie to nie ma żadnego praktycznego znaczenia przy rozpoznawaniu, czy dana osoba jest pod wpływem środków działających podobnie do alkoholu, jak i określaniu rodzaju tych środków oraz szacowania ich stężeń [6].

Nieco uproszczona w stosunku do „protokołu pobrania krwi” wersja badania lekarskiego używana jest w izbach wytrzeźwień. Badanie to obejmuje następujące elementy: zachowania (przytomny, agresywny, śpiący, gadatliwy, spokojny, awanturujący się, małomówny, oporny); chód (pewny, chwiejny, zatacza się); mowę (wyraźna, niewyraźna, bełkot); określenie stanu nietrzeźwości badanego (mały, średni, duży). Z badań przeprowadzonych na podstawie 138 kart pobytu pacjentów w Opolskiej Izbie Wytrzeźwień wynikało, że określenie stopnia upojenia alkoholem etylowym na podstawie wyników badania fizykalnego obarczone jest dużym błędem i okazuje się mało przydatne w praktyce sądowo-lekarskiej [7].

Na świecie używa się w praktyce i prowadzi badania nad różnymi zestawami testów psychofizycznych oraz elementów badania klinicznego, przeprowadzanych przed pobraniem próbek do badań na obecność alkoholu lub środków działających podobnie do alkoholu, w niektórych przypadkach wykonywanych już przez funkcjonariuszy policji również jako rodzaj badania skryningowego u kierowców podejrzewanych o bycie pod wpływem środków odurzających. W USA używany jest zestaw testów tzw. Standardyzowany Drogowy Test Trzeźwości (Standardized Field Sobriety Test – SFST), na który składają się: ocena oczopląsu poziomego, test stania na jednej nodze oraz test chodzenia i zawracania. Jakkolwiek test był przygotowany jako narzędzie dla policjantów do oceny stopnia trzeźwości kierowców to aktualnie używany jest również do identyfikacji innych substancji upośledzających zdolność do prowadzenia pojazdów mechanicznych, a działających jak ekwiwalent alkoholu we krwi w stężeniu powyżej 0,5‰. Badania prze-

prowadzone w latach 1981 do 1996 wykazały, że wiarygodność zestawu SFST wahała się od 44% do 94% [8, 9, 10, 11].

Inny zestaw testów używany jest w ramach amerykańskiego programu Oceny i Klasyfikacji Leków (The Drug Evaluation and Classification programme – DEC), stosuje się go do oceny czy badana osoba jest niezdolna do prowadzenia pojazdu oraz ewentualnie jakie substancje tę niezdolność spowodowały. Test ten obejmuje 12 etapów. Jego wykonanie trwa około 30 minut. Badanie rozpoczyna się od wykonania pomiaru alkoholu w wydychanym powietrzu. Jeśli uzyskany wynik wyjaśnia przyczynę niezdolności do prowadzenia pojazdu, odstępuje się od dalszego wykonywania testu. W pozostałych przypadkach przechodzi się do dalszych etapów testu, które obejmują: zebranie szczegółowego wywiadu; wielokrotne badanie: tętna, ciśnienia krwi; szczegółową ocenę oczu (szerokość źrenic, reakcja na światło i zbieżność, oczopląs poziomy i pionowy); testy podzielności uwagi takie jak próba Romberga; ocena chodzenia i zawracania; test stania na jednej nodze; próba palec-nos; badanie tonusu mięśniowego; badanie temperatury ciała; poszukiwanie na skórze ewentualnych miejsc wkłucia oraz zabezpieczenie próbek krwi, śliny lub moczu do dalszych badań laboratoryjnych.

Badania wykazały, że rozpoznanie niezdolności do kierowania pojazdem, wykonane przy użyciu tego testu, jest poprawne w granicach 90-94% [8, 12].

W Wielkiej Brytanii prowadzono badania nad skutecznością Drogowego Testu Niezdolności (Field Impairment Test – FIT). Test ten obejmuje pięć elementów: ocenę źrenic, test chodzenia i zawracania, test stania na jednej nodze, próbę Romberga i próbę palec-nos. Jeśli wstępne badanie na obecność alkoholu jest negatywne, wyszkolony oficer policji wykonuje FIT. Badania pokazały, że 60% próbek zabezpieczonych od kierowców, którzy nie wykonali poprawnie FIT było pozytywnych. Policjanci rozpoznawali raczej niezdolność do prowadzenia pojazdu a nie identyfikowali jakie grupy substancji powodują tę niezdolność [11, 13, 14, 15].

Podkreślić należy, że wszystkie elementy wyżej podanych testów, w przeciwieństwie do elementów polskiego „protokołu pobrania krwi“ wykonuje się według ściśle określonych standardów.

MATERIAŁ I METODY

Przeanalizowano 352 wypełnione przez lekarzy „protokoły pobrania krwi“ dołączone do próbek krwi przestanych do Komendy Wojewódzkiej Policji w Bydgoszczy w okresie marzec-czerwiec 2007 roku. Badania laboratoryjne krwi wykonywano z dwóch oddzielnie pobranych do analizy tożsamy próbek metodą chromatografii gazowej techniką analizy fazy nadpowierzchniowej (head-space), przy użyciu chromatografu gazowego z automatycznym podajnikiem próbek (autosamplerem) HS-40 firmy Perkin Elmer, wyposażonego w kolumny o różnej polarności. Dla potrzeb niniejszego opracowania uzyskane wyniki porównywano z wynikami badania lekarskiego wg dołączonego protokołu oraz przeprowadzono analizę statystyczną przy użyciu programu Statistica.

Do analizy danych ze względu na niezgodność rozkładu zmiennej zależnej z rozkładem normalnym zastosowano statystyki nieparametryczne (Test U Manna-Whitneya, Test Kruskala-Wallis).

Podkreślić należy, że na 352 analizowane protokoły, jedynie 85 było wypełnione całkowicie, bez jakichkolwiek pominięć lub nieprawidłowości. Dominowały protokoły nie wypełnione w całości – 267. Fakt ten ukazuje problem rzetelności badania lekarskiego przeprowadzanego przy pobraniu krwi na alkohol. Tym niemniej, ponieważ celem niniejszej pracy jest ocena realnej przydatności używanego protokołu badań a nie modelowej sytuacji, analizie statystycznej poddano wszystkie 352 protokoły. Każdy element badania był oceniany osobno.

Poszczególne elementy badania podzielono na elementy jakościowe i stopniowane.

Do elementów jakościowych zaliczono: ubranie (w porządku, w nieładzie); tętno (normalne, szybko > 100); podnoszenie przedmiotów z ziemi (pewne, niepewne); reakcja źrenic na światło (prawidłowa, nieprawidłowa); próbę Romberga (ujemna, dodatnia); próbę palec-nos (ujemna, dodatnia); orientację co do czasu, miejsca, otoczenia (zachowana, niezachowana); zapach alkoholu z ust (wyczuwalny, niewyczuwalny). Do tej grupy zaliczono też element oceny nastroju i zachowania (spokojny oraz jako odbiegający od normy każdy inny z wymienionych w protokole tj.: wesóły, gadatliwy, awanturniczy, małomówny, przygnębiony).

Z kolei do elementów stopniowanych zaliczono: mowę (wyraźna, niewyraźna, bełkot); chód (pewny, niepewny, zatacza się); wygląd źrenic (normalne, szerokie, wąskie); wygląd twarzy (normalna, blada, czerwona). Każdy z powyżej wymienionych objawów oceniano osobno.

Objawy jakościowe i stopniowane korelowano ze stężeniem alkoholu w pobranej krwi. W przypadku objawów stopniowanych sprawdzono także, czy istnieją istotnie statystycznie różnice pomiędzy średnim stężeniem alkoholu a nasileniem danego zaburzenia.

Dodatkowo oceniano jak kształtuje się trafność wniosków lekarskich.

Ostatecznie zsumowano wszystkie elementy badania (zarówno jakościowe jak i stopniowane), za każdy nieprawidłowy element przyznano 1 pkt i oceniono zależność między stężeniem alkoholu a liczbą uzyskanych w ten sposób punktów.

WYNIKI

Wyniki przedstawiają poniższe tabele.

W tabeli I przedstawiono jak w odniesieniu do poszczególnych elementów badania kształtowały się średnie stężenia alkoholu w przypadku braku jak i stwierdzenia zmian odbiegających od normy.

Każdy z tych elementów, z uwagi na brak możliwości stopniowania, oceniano jedynie pod kątem przydatności do różnicowania stężenia alkoholu we krwi. Elementu badania: „wymioty lub ślady wymiotów“ nie analizowano, bowiem ślady wymiotów stwierdzono tylko w 1 na 352 protokoły. W przypadku tętna i reakcji źrenic na światło uzyskano poziom istotności p dyskwalifikujący z punktu widzenia statystycznego te elementy badania, w pozostałych elementach badania udało się uzyskać poziom istotności p mniejszy niż 0,1, co uznawane jest w badaniach biologicznych jako satysfakcjonujące.

Oceniając te elementy badania, które uzyskały satysfakcjonujący poziom istotności p pod kątem średniego stężenia alkoholu w grupach z odchyleniami w badaniu oraz bez odchylenia w badaniu znamienym jest, że najbardziej przydatnym elementem okazała się ocena zapachu alkoholu z ust, pozostałe elementy wykazują znacznie mniejszą przydatność do oceny stopnia upojenia alkoholem etylowym. Co ciekawe w przypadku tętna, u osób

z przyspieszonym tętnem stwierdzono niższe stężenie alkoholu niż u osób z tętnem normalnym. Z uwagi na wysokie wartości odchylenia standardowego świadczące o dużym rozrzucie pojedynczych wartości wskazać należy, że w indywidualnych przypadkach próba oceny stopnia upojenia w oparciu o oceniane elementy obarczona jest dużym błędem.

Natomiast analizę objawów z grupy stopniowanej dokonano poszukując zależności pomiędzy nasileniem danego objawu a stężeniem alkoholu.

W pierwszym etapie sprawdzono czy istnieją różnice istotne statystycznie pomiędzy średnim stężeniem alkoholu w zależności od stopnia nasilenia lub rodzaju nieprawidłowości zaburzeń mowy, chodu, koloru twarzy i szerokości źrenic przy zastosowaniu testu Kruskala-Wallisa.

I tak przy ocenie koloru twarzy, który był uwzględniony przez badających lekarzy w 337 przypadkach, uzyskany wynik wykazał znamienne różnice statystyczne [$H(2, N=337) = 34,27361$ $p < 0,0001$]. W związku z powyższym dokonano porównania pomiędzy grupami testem U Manna-Whitneya (wyniki w tabeli II).

Powyższe wyliczenia wskazują, że różnica w stężeniach alkoholu dla grup z twarzą normalną i bladą była nieistotna statystycznie, natomiast różnice pomiędzy grupą z twarzą czerwoną a pozostałymi grupami były istotne statystycznie. Zatem stwierdzenie przez lekarza badającego czerwonej twarzy u badanej osoby może wskazywać na upojenie alkoholem etylowym. Jednak z uwagi na dużą wartość odchylenia standardowego spostrzeżenie to również może mieć jedynie wartość orientacyjną.

Z kolei przy ocenie mowy, która była uwzględniona przez badających lekarzy w 325 przypadkach, wynik uzyskany testem Kruskala-Wallisa wykazał znamienne różnice statystyczne [$H(2, N=325) = 56,99324$ $p < 0,0001$]. W związku z tym dokonano porównania pomiędzy grupami testem U Manna-Whitneya (wyniki w tabeli III).

Powyższe wyliczenia wskazują, że różnice w stężeniach alkoholu pomiędzy grupą z normalną mową a pozostałymi grupami były istotne statystycznie, natomiast różnica pomiędzy grupą mówiącą niewyraźnie a bełkoczącą była nieistotna statystycznie. Zatem mowa inna niż normalna może wskazywać na upojenie alkoholem etylowym, natomiast nie ma znaczenia czy przy badaniu zaznaczono mowę nie-

Tabela I. Zależność pomiędzy stężeniem alkoholu a odchyleniami w poszczególnych (jakościowych) elementach badania lekarskiego.

Table I. Correlation between alcohol concentration and errors in particular qualitative elements of medical examination).

Zmienne variables	Poprawne wykonanie proper execution of examination			Niepoprawne wykonanie improper execution of examination			Liczebność całkowita total number of cases	Wyniki obliczeń statystycznych statistical analysis	
	stężenie alkoholu (‰) alcohol concentration	odchylenie standardowe standard deviation	liczba przypadków number of cases	stężenie alkoholu (‰) alcohol concentration	odchylenie standardowe standard deviation	liczba przypadków number of cases		z	poziom p significance level p
ubranie clothes	0,97	0,95	286 (78%)	1,51	0,84	48 (22%)	334	-3,582	0,0003
nastrój mood	0,84	0,90	238 (73%)	1,56	0,89	85 (27%)	323	-5,681	<0,0001
tętno pulse	1,08	0,95	279 (90%)	0,79	0,88	28 (10%)	307	1,525	0,1272
reakcja źrenic pupillary reaction	1,03	0,94	308 (96%)	1,46	0,99	10 (4%)	318	-1,384	0,1663
podnoszenie przedmiotów picking up objects	0,86	0,83	192 (82%)	2,11	0,66	42 (18%)	234	-7,413	<0,0001
próba Romberga Romberg test	0,91	0,92	192 (78%)	1,6	0,85	52 (22%)	244	-4,496	<0,0001
palec-nos finger-nose test	0,89	0,92	195 (77%)	1,52	0,88	58 (23%)	253	-4,249	<0,0001
orientacja co do czasu orientation as to time	0,98	0,92	277 (94%)	2,18	0,98	8 (6%)	285	-2,896	0,0038
zapach alkoholu z ust smell of alcohol	0,29	0,57	131 (43%)	1,62	0,81	173 (57%)	304	-12,37	<0,0001

wyraźną czy bełkot. Także w tym przypadku duża wartość odchylenia standardowego obniża praktyczną przydatność powyższych spostrzeżeń.

Przy ocenie chodu, który był uwzględniony przez badających lekarzy w 264 przypadkach uzyskany

przy zastosowaniu testu Kruskala-Wallisa wynik wykazał znamienne różnice statystyczne [$H(2, N=264) = 71,49955$ $p < 0,0001$]. W związku z tym dokonano porównania pomiędzy grupami testem U Manna-Whitneya (wyniki w tabeli IV).

Tabela II. Średnie stężenia alkoholu i liczebność grup ocenianych pod kątem koloru twarzy oraz analiza statystyczna.

Table II. Average alcohol concentration and the number of individuals in groups subjected to facial color analysis and statistical analysis.

Grupy groups	Stężenie alkoholu (‰) alcohol concentration	Odchylenie standardowe standard deviation	Liczba przypadków number of cases
I twarz normalna normal face	0,87	0,917	239
II twarz blada pale face	1,027	1,07	40
III twarz czerwona red face	1,707	0,86	58
Grupy porównywane compared groups	z	p	
I i II twarz normalna/blada normal face/pale face	0,58	0,597	
I i III twarz normalna/czerwona normal face/red face	5,89	<0,0001	
II i III twarz blada/czerwona pale face/red face	2,93	0,003	

Tabela III. Średnie stężenie alkoholu i liczebność grup ocenianych pod kątem zaburzeń mowy oraz analiza statystyczna.

Table III. Average alcohol concentration and the number of people in groups subjected to speech distortion analysis and statistical analysis.

Grupy groups	Stężenie alkoholu (‰) alcohol concentration	Odchylenie standardowe standard deviation	Liczba przypadków number of cases
I mowa normalna normal speech	0,84	0,90	266
II mowa niewyraźna slurring speech	1,92	0,82	53
III bełkot mumbling speech	1,77	0,84	6
Grupy porównywane compared groups	z	p	
I i II mowa normalna/niewyraźna normal speech/slurring speech	7,15	<0,0001	
I i III mowa normalna/bełkot normal speech/mumbling speech	2,44	0,015	
II i III mowa niewyraźna/bełkot slurring speech/mumbling speech	0,46	0,64	

Tabela IV. Średnie stężenia alkoholu i liczebność grup ocenianych pod kątem zaburzeń chodu oraz analiza statystyczna.

Table IV. Average alcohol concentration and the number of people in groups subjected to gait disturbance analysis and statistical analysis.

Grupy groups	Stężenie alkoholu (‰) alcohol concentration	Odchylenie standardowe standard deviation	Liczba przypadków number of cases
I chód pewny steady gait	0,82	0,83	211
II chód niepewny unsteady gait	2,06	1,89	40
III zatacza się swaying gait	2,226	0,59	13
Grupy porównywane compared groups	z	p	
I i II chód pewny/niepewny steady gait /unsteady gait	7,46	<0,0001	
I i III chód pewny/zataczanie steady gait/swaying gait	4,46	<0,0001	
II i III chód niepewny/zataczanie unsteady gait/swaying gait	0,22	0,83	

Powyższe wyliczenia wskazują, że różnice w stężeniach alkoholu pomiędzy grupą chodzącą pewnie a pozostałymi grupami były istotne statystycznie, natomiast różnica pomiędzy grupą chodzącą niepewnie a zataczającą się była nieistotna statystycznie. Zatem chód inny niż pewny może wskazywać upojenie alkoholowe. Nie stwierdzono jednak by istniała istotna różnica pomiędzy chodem niepewnym a zataczaniem się. Także w tym przypadku duża wartość odchylenia standardowego obniża praktyczną przydatność powyższych spostrzeżeń.

Żrenice – element ten był uwzględniony przez badających lekarzy w 326 przypadkach. Badanie przeprowadzone przy zastosowaniu testu Kruskala-Wallisa, czy istnieją różnice istotne statystycznie pomiędzy średnim stężeniem alkoholu w trzech badanych grupach (grupa I z normalnymi żrenicami, grupa II z szerokimi żrenicami, grupa III z wąskimi żrenicami), nie wykazało znamienych statystycznie różnic [$H(2, N= 326) = 3,996292$ $p = 0,1356$] w związku z powyższym odstąpiono od dalszej oceny.

W podobny sposób jak objawy stopniowane oceniono wnioski, które wypełniono łącznie w 326 przypadkach. W pierwszym etapie sprawdzono czy istnieją różnice istotne statystycznie pomiędzy śred-

nim stężeniem alkoholu w trzech badanych grupach (grupa I – nie jest pod wpływem alkoholu; grupa II – jest pod wpływem alkoholu; grupa III – może być pod wpływem substancji psychotropowych lub odurzających) przy zastosowaniu testu Kruskala-Wallisa. Uzyskany wynik wykazał znamienne różnice statystyczne [$H(2, N= 326) = 162,2257$ $p < 0,0001$]. W związku z powyższym dokonano porównania pomiędzy grupami testem U Manna-Whitneya (wyniki w tabeli V).

Jakkolwiek nie można wykluczyć, że niższe stężenie alkoholu w grupie III mogło być spowodowane obecnością innej substancji działającej na OUN we krwi u tych osób, to analiza statystyczna wykazała, że nie ma istotnej statystycznie różnicy pomiędzy stężeniem alkoholu w grupie ocenianych jako pod wpływem alkoholu a w grupie gdzie wnioskowano, że osoby te mogą być pod wpływem substancji psychotropowych lub odurzających.

Z uwagi na dużą trafność wniosków, odnośnie tego czy dana osoba w ogóle jest upojona alkoholem, poniżej przedstawiono jak kształtowały się stężenia alkoholu (zgodnie z obowiązującymi w Polsce progami trzeźwości) w poszczególnych przypadkach w odniesieniu do każdej z grup wniosków.

Na 185 ocenianych protokołów badań, w których lekarze we wnioskach podali, że badana osoba była pod wpływem alkoholu, w 6 przypadkach nie stwierdzono obecności alkoholu we krwi, również w 6 przypadkach stwierdzono stężenie alkoholu mniejsze lub równe 0,2‰. Zatem w 12 przypadkach (6,5%) osoby trzeźwe według obowiązujących w Polsce przepisów, w oparciu o wyniki badania klinicznego, uznano za nietrzeźwe. W pozostałych 174 przypadkach (93,5%) rozpoznanie lekarskie korespondowało z wynikami badania krwi, z grupy tej wydzielono grupę 17 przypadków (9%), w których stężenie alkoholu we krwi mieściło się w przedziale pomiędzy 0,2 a mniej niż 0,5‰.

W 13 ocenianych protokołach podano, że badana osoba może być pod wpływem środków odurzających lub działających podobnie do alkoholu,

a zawartość alkoholu we krwi w tych przypadkach mieściła się w zakresie od 0 do 3‰.

Na 128 badanych protokołach, w których we wnioskach podano, że badana osoba była trzeźwa w 18 przypadkach (14%) stwierdzono obecność alkoholu we krwi, z tego w dwóch wartość ta wynosiła powyżej 2‰, w czterech przypadkach wahała się pomiędzy 1 a 2‰, w trzech przypadkach była pomiędzy 0,5 a 1‰. Łącznie w 9 przypadkach (7%) stężenie alkoholu przekraczało wartość 0,5‰, w 3 przypadkach mieściło się pomiędzy 0,2 a mniej niż 0,5‰, a w 6 przypadkach wynosiło poniżej 0,2 ‰ alkoholu we krwi.

Porównując wnioski lekarskie z poszczególnymi elementami badania przyjąć należy, że były one najlepszym wykładnikiem czy dana osoba jest pod wpływem alkoholu.

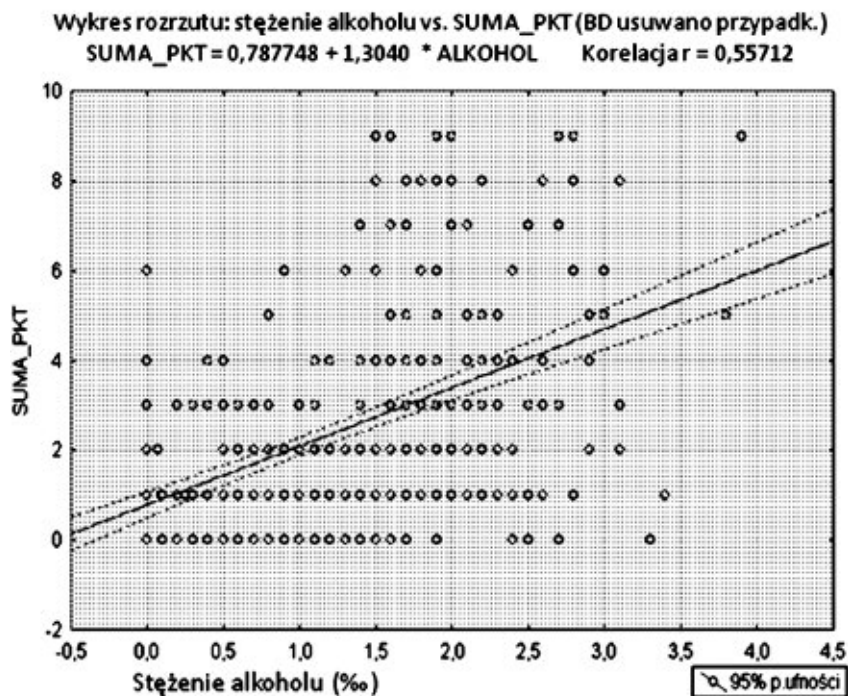
Tabela V. Średnie stężenia alkoholu i liczebność grup ocenianych pod kątem wniosków oraz analiza statystyczna.

Table V. Average alcohol concentration and the number of people in groups subjected to medical conclusion analysis and statistical analysis.

Grupy groups	Stężenie alkoholu (‰) alcohol concentration	Odchylenie standardowe standard deviation	Liczba przypadków number of cases
I nie jest pod wpływem alkoholu sober	0,14	0,42	128
II jest pod wpływem alkoholu intoxicated	1,56	0,84	185
III może być pod wpływem substancji psychotropowych suspected of being under influence of drugs	1,14	0,94	13
Grupy porównywane compared groups	z		p
I i II nie jest/jest pod wpływem alkoholu sober/intoxicated	12,45		<0,0001
I i III nie jest pod wpływem alkoholu/może być pod wpływem substancji psychotropowych sober/suspected of being under influence of drugs	4,64		<0,0001
II i III jest pod wpływem alkoholu/może być pod wpływem substancji psychotropowych (intoxicated/suspected of being under influence of drugs)	1,6		0,11

Ostatecznie przeprowadzono próbę wykreślenia zależności pomiędzy stężeniem alkoholu a ilością nieprawidłowo wykonanych elementów badania lekarskiego. W każdym z ocenianych protokołów zsumowano wszystkie elementy badania

(zarówno jakościowe jak i stopniowane), przyznając za każdy nieprawidłowy element 1 pkt i oceniono zależność między stężeniem alkoholu a ilością uzyskanych w ten sposób punktów uzyskując poniższy wykres (ryc. 1.).



Ryc. 1. Porównanie stężenia alkoholu we krwi z ilością nieprawidłowo wykonanych elementów badania lekarskiego.

Fig. 1. Comparison of alcohol concentration level and the number of errors in medical examination.

Dane te również opracowano statystycznie stosując w pierwszym etapie test t-Studenta celem sprawdzenia czy nie ma różnic pomiędzy średnimi

stężeniami alkoholu dla grup, które uzyskały różne ilości punktów, a następnie korelację porządku rang Spearmana, wyniki podano w tabeli VI.

Tabela VI. Wyniki analizy statystycznej – korelacja porządku rang Spearmana.

Table VI. Results of statistical analysis – Spearman’s rank correlation coefficient.

	Ilość ważnych prób Number of valid trials	Spearman	Współczynnik determinacji Coefficient of determination	t-Studenta t-Student test	poziom p significance level p
SUMA_PKT & stężenie alkoholu total score & alcohol concentration	352	0,59	35%	13,73626	<0,0001

Wynik ten oznacza, że w 6 przypadkach na 10 większa ilość punktów będzie oznaczała większe stężenie alkoholu we krwi. Niestety niezadowalająca wartość współczynnika determinacji: 35%, będącego miarą stopnia, w jakim model wyjaśnia kształtowanie się zmiennej objaśnianej wskazuje na brak przydatności takiego ujęcia problemu.

DYSKUSJA

Niewątpliwie dużą słabością badania lekarskiego stosowanego wg arkusza „protokołu pobrania krwi” jest brak dokładnych definicji używanych pojęć jak i opisu sposobu ich wykonania.

Najbardziej przydatnym elementem jakościowym badania była ocena zapachu alkoholu z ust, co jest zgodne z ustaleniami Manczarskiej i Dzidy [3, 4]. W naszym materiale wykazano, że obecność wymiotów, ocena źrenic (zarówno szerokości jak i reakcji na światło) oraz ocena szybkości tętna nie mają żadnego praktycznego znaczenia do identyfikacji stopnia nietrzeźwości. Być może wynika to bądź z subiektywnej skali ocen np. w odniesieniu do źrenic, bądź niedokładności badania np. przy ocenie tętna. Podkreślić należy jednak, że ocena źrenic jak i szybkości tętna mogą być przydatne przy identyfikacji osób będących pod wpływem niektórych środków działających podobnie do alkoholu (opiaty, kokaina, amfetamina itp.) [15]. W przypadku oceny pozostałych jakościowych elementów badania, uzyskano statystyczną różnicę pomiędzy średnimi stężeniami alkoholu w grupach bez odchyień i grupach z odchyleniami, jednakże różnica ta jest na tyle mała, że analizowane elementy badania lekarskiego z „protokołu pobrania krwi” jako wyosobnione markery nie mają praktycznej wartości w ocenie stopnia upojenia alkoholowego, co jest także zgodne z konkluzjami Dzidy [3].

Pomimo tego wnioski lekarskie co do trzeźwości badanych w ten sposób osób są trafne, jakkolwiek dalej nie jest to wartość zadowalająca. W grupie, w której lekarze we wnioskach podali, że badane osoby są pod wpływem alkoholu u 6,5% osób nie stwierdzono obecności alkoholu we krwi bądź stężenie było mniejsze lub równe 0,2‰. Zatem prawie dwa razy mniej niż Górski, który w takich przypadkach stwierdził prawie 12% błędnych rozpoznań [5]. Z kolei w grupie, w której lekarze we wnioskach podali, że badana osoba jest trzeźwa,

stężenie alkoholu we krwi stwierdzono u 14% badanych osób, z czego 7% powyżej 0,5‰, co jest niewielką różnicą w stosunku do obserwacji Górskiego, który stwierdził takie pomyłki w 17% przypadków [5]. Różnice pomiędzy naszymi wynikami a wynikami sprzed 40 lat wskazują na nieco większą korelację wniosków lekarzy z wynikami badania krwi.

W przedmiotowej analizie nie można natomiast odnieść się do grupy, w której lekarze we wnioskach podali, że badana osoba może być pod wpływem środków odurzających lub psychotropowych, bowiem krew była badana tylko pod kątem zawartości alkoholu.

Uzyskana zależność pomiędzy stężeniem alkoholu a ilością odchyień również nie ma żadnego znaczenia praktycznego z uwagi na znaczny rozrzut wyników, na co wskazuje również niski współczynnik determinacji w obliczeniach statystycznych. Wynik ten jest zgodny z ustaleniami Szatnego i Trnki dotyczącymi pacjentów izby wytrzeźwień [7].

Z uwagi na różne punkty uchwytu podlegające ocenie stosowanych w innych krajach testów w porównaniu do Polski, brak precyzyjnych kryteriów sposobu przeprowadzania badania zawartego w „protokole pobrania krwi” szczegółowe porównanie uzyskanych przez nas wyników z danymi literaturowymi jest praktycznie niemożliwe.

Tym niemniej wykazano, że analiza poszczególnych elementów badania pomimo ich niskiej wartości, lub nawet braku przydatności, wykazuje zaskakująco trafne wnioskowanie lekarskie co do stanu nietrzeźwości a poprawność przekracza 80%. W porównaniu z zestawem SFST, który pierwotnie używany był również do oceny stopnia upojenia alkoholem o odsetku poprawnych rozpoznań wahających się od 44% do 94%, trafność wnioskowania lekarzy badających osobę przed pobraniem krwi na alkohol wypada korzystnie.

WNIOSKI

- elementy badania lekarskiego wymienione w „protokole pobrania krwi” wykazują niewielką przydatność w określaniu stopnia upojenia alkoholem etylowym;
- najbardziej przydatne w określaniu stopnia upojenia alkoholem są: zapach alkoholu z ust oraz wnioski badającego lekarza;

- pozostałe elementy badania lekarskiego takie jak: wygląd twarzy, ubranie, mowa, nastrój, chód, podnoszenie przedmiotów z ziemi, objaw Romberga, próba palec-nos, orientacja co do czasu, miejsca i otoczenia, reakcja źrenic na światło wykazują jedynie bardzo ograniczoną przydatność dla oceny stopnia upojenia;
- takie elementy badania jak: obecność śladów wymiotów, ocena szerokości źrenic oraz szybkość tętna wykazują brak przydatności dla oceny stopnia upojenia;

- sumaryczne wykorzystanie odstępstw od normy nie ma wpływu na zwiększenie przydatności stosowanych w ramach „protokołu pobrania krwi” badań do oceny stopnia upojenia alkoholem etylowym;
- brak jasnych i precyzyjnych kryteriów wykonywania badań uwzględnionych w „protokole pobrania krwi” obniża jego użyteczność.

PIŚMIENNICTWO

1. Jakliński A., Nasiłowski W., Markiewicz J.: Zarys sądowo-lekarskiej toksykologii alkoholu etylowego, PZWL, Warszawa 1978.

2. Gubała W.: Toksykologia alkoholu wybrane zagadnienia, IES, Kraków 1997.

3. Dzida J.: Wartość badania przedmiotowego w sądowo-lekarskiej ocenie trzeźwości, Rozprawa doktorska, Wojskowa Akademia Medyczna 1985.

4. Manczarska H.: Ocena stanu trzeźwości na podstawie badania klinicznego a wynik badania chemicznego krwi metodą Widmarka. Wypadki drogowe – Rola Medycyny, Kryminalistyki i Nauk Pokrewnych w Zapobieganiu i Dochodzeniu Przyczyn Wypadków Drogowych, Zbiór Materiałów III Krajowej Naukowej Narady PTMSiK, 1963, 153-158.

5. Górski K.: Możliwość błędnej oceny trzeźwości na podstawie badania klinicznego przy niskich koncentracjach alkoholu we krwi. Wypadki drogowe – Rola Medycyny, Kryminalistyki i Nauk Pokrewnych w Zapobieganiu i Dochodzeniu Przyczyn Wypadków Drogowych, Zbiór Materiałów III Krajowej Naukowej Narady PTMSiK, 1963, 148-152.

6. Engelhardt P., Pufal E., Śliwka K.: Przydatność obecnie stosowanego wstępnego badania lekarskiego w ocenie kierowców będących pod wpływem środków działających podobnie do alkoholu w materiałach Katedry Medycyny Sądowej CM UMK w Bydgoszczy, Problems of Forensic Science 2006, vol. LXVIII, 368-377.

7. Szatny H., Trnka J.: The Correlation Between Blood Alcohol Level And Clinical Signs Of Intoxication Among Persons Staying In A Sobering

Unit, Problems of Forensic Sciences 2003, vol. LIV, 137-147.

8. Adler E. V., Burns M.: Drug recognition expert (DRE) validation study. Final report to Governor's Office of Highway Safety, State of Arizona, 1994.

9. Compton R. P.: Field evaluation of the Los Angeles Police Department Drug Detection Procedure. Technical Report for National Highway Traffic Safety Administration, 1986.

10. Fazzalario J. J.: The use of Field Sobriety Tests in drunk driving enforcement. OLR research report, No. 2000-R-0873.

11. Heishman S. J., Singleton E. G., Crouch D. J.: Laboratory validation study of drug evaluation and classification program: ethanol, cocaine and marijuana, Journal of Analytical Toxicology 1996, 20 (6), 468-483.

12. Page T.: The Drug Recognition Expert (DRE) Response to the Drug Impaired Driver, An Overview of the DRE Program, Officer, and Procedures 1998.

13. Tunbridge R. J., Keigan M., James F. J.: Recognizing Drug Use and Drug Related Impairment in Drivers at the Roadside, for Transport Research Laboratory 2000.

14. Jackson P. G., Turnbridge R. J., Rowe D. J.: Drug Recognition and Field Impairment Testing: Evaluation of Trials, the 15th International Conference on Alcohol, Drugs and Traffic Safety, Stockholm May 22nd - 26th 2000.

15. Oliver J. S., Seymou R. A., Wylie F. M. et al., 'Road safety research report No 63, Monitoring the effectiveness of UK field impairment tests', Department for Transport, London, 2006.

16. Szukalski B.: Narkotyki, Kompendium wiedzy o środkach uzależniających, Instytut Psychiatrii i Psychologii, Warszawa 2005.

Adres do korespondencji:
Piotr Engelgardt
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera
w Bydgoszczy
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej
ul. M. Skłodowskiej-Curie 9
85-094 Bydgoszcz
tel. 585-3552, fax. 585-3553
e-mail: piotr.e@vp.pl

**Marta Czarnogórska, Marek Sanak¹, Danuta Piniewska, Nina Polańska,
Agnieszka Stawowiak, Barbara Opolska-Bogusz**

Identyfikacja rzadkich wariantów genetycznych w *loci* DXS10074, DXS10079, DXS10146 oraz DXS10148 multipleksu Investigator Argus X-12 w populacji Polski południowej

Identification of rare genetic variants at DXS10074, DXS10079, DXS10146 and DXS10148 *loci* of Investigator Argus X-12 multiplex in the South Polish population

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UJ CM

Kierownik: prof. dr hab. n. med. M. Kłys

¹ Z Zakładu Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej II Katedry Chorób Wewnętrznych UJ CM

Kierownik: prof. dr hab. med. M. Sanak

W ostatnich latach analiza mikrosatelitarnych *loci* typu STR zlokalizowanych na chromosomie X (X-STR), obok rutynowo stosowanych markerów autosomalnych oraz chromosomu Y, jest coraz częściej wykorzystywana w badaniach sądowo-lekarskich. Ich przydatność potwierdzają wysokie parametry biostatystyczne uzyskiwane dla różnych populacji ludzkich. Prowadzenie tego rodzaju badań populacyjnych dla poszczególnych grup etnicznych, pozwala również na ujawnienie występowania rzadkich wariantów genetycznych, zdefiniowanych jako nieobecne we wzorcach alleli dostępnych w komercyjnych zestawach multipleksowych. Obecność rzadkich alleli z jednej strony może przyczyniać się do zwiększenia wartości dowodowej ekspertyzy, z drugiej natomiast stwarza niekiedy trudności w interpretacji uzyskanych wyników. W zaprezentowanej pracy, posługując się zestawem Investigator Argus X-12, przebadano 200 próbek DNA pobranych od niespokrewnionych kobiet i mężczyzn z Polski południowej. Analiza markerów X-STR ujawniła siedem rzadkich wariantów genetycznych: DXS10074*15.2, DXS10079*24, DXS10146*38.2, DXS10146*47.2, DXS10148*17, DXS10148*21.1 oraz DXS10148*22, które dotychczas nie były opisane w populacji polskiej. Dodatkowo, sprawdzono czy wspomniane allele zostały odziedziczone przez potomstwo badanych osób.

In recent years, the analysis of X-linked short tandem repeats (X-STR), beside autosomal and Y-chromosomal STR loci, has become widely used in forensic genetic investigations. The usefulness of X-STRs markers in forensic medicine is confirmed by their high biostatistical parameters obtained for different populations. Such population studies performed on particular ethnic groups allow for demonstrating the presence of, rare genetic variants that are not included in the allelic ladders of commercially available multiplex kits. The presence of these alleles can increase the power of evidence. On the other hand, the off-ladder alleles can be sometimes difficult to interpret. In this paper, X-STRs analysis was performed in a population sample of 200 unrelated females and males from the Southern Poland using Investigator Argus X-12 Kit. Seven rare off-ladder alleles were encountered: DXS10074*15.2, DXS10079*24, DXS10146*38.2, DXS10146*47.2, DXS10148*17, DXS10148*21.1 and DXS10148*22 that were not previously reported in the Polish population. Additionally, genetic transmission of these genetic variants was ascertained.

Słowa kluczowe:

chromosom X, markery X-STR,
warianty genetyczne: DXS10074*15.2,
DXS10079*24, DXS10146*38.2,

DXS10146*47.2, DXS10148*17,
DXS10148*21.1, DXS10148*22

Key words:

chromosome X, X-STRs markers,
genetic variants: DXS10074*15.2,
DXS10079*24, DXS10146*38.2,
DXS10146*47.2, DXS10148*17,
DXS10148*21.1, DXS10148*22

WSTĘP

W genetyce sądowej w rutynowych badaniach DNA stosuje się markery mikrosatelitarne zlokalizowane zarówno na chromosomach autosomalnych jak i na chromosomie Y. W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się również na analizę polimorficznych *loci* chromosomu X, ze względu na ich dużą przydatność w badaniach identyfikacyjnych, badaniach stopnia pokrewieństwa, w ustalaniu spornego ojcostwa i macierzyństwa oraz w analizie śladów biologicznych. Markery genetyczne typu X-STR okazały się szczególnie pomocne w badaniach dotyczących pokrewieństwa i identyfikacji, gdy przynajmniej jedna z badanych osób jest płci żeńskiej (np. matka-córka, matka-syn, ojciec-córka), jak również w analizie spraw przestępstw kazirodczych lub gdy domniemani ojcowie są ze sobą blisko spokrewnieni. W takich przypadkach stosowany rutynowo zakres markerów autosomalnych często może nie dostarczyć jednoznacznego rozstrzygnięcia [1].

Ponieważ markery X-STR znajdują się na tym samym chromosomie, istnieje możliwość występowania pomiędzy nimi tzw. nierównowagi sprzężeń (LD; ang. *linkage disequilibrium*). Oznacza to, że allele należące do różnych *loci*, w przypadku ich bliskiego sąsiedztwa mogą być odziedziczone razem. Zjawisko to nie jest źródłem błędu w opinio-waniu sądowo-lekarskim, aczkolwiek konieczne jest jego uwzględnienie w obliczeniach biostatystycznych, bowiem ilorazy szans przyjmują w przypadku układów sprzężonych mniejsze wartości niż dla układów dziedziczonych niezależnie. W związku z powyższym stosowane aktualnie markery X-STR zawarte w komercyjnych zestawach multipleksowych zostały zakwalifikowane do czterech grup sprzężeń (ang. *linkage groups*). Allele układów należących do różnych grup sprzężeń są dziedzicz-

ne (segregują) niezależnie ze względu na częste wymiany segmentów siostrzanych chromatyd. Markery należące do tej samej grupy teoretycznie powinny być rozpatrywane jako dziedziczone wspólnie haplotypy, jednakże z powodu tempa mutacji *loci* X-STR, stwierdzono dla niektórych z tych układów brak istotnego sprzężenia genetycznego [2, 3].

Dotychczas badania polimorfizmu *loci* X-STR można było przeprowadzić przy użyciu dwóch komercyjnych zestawów multipleksowych: Mentype® Argus X-UL i Mentype® Argus X-8 (Biotype, Niemcy), pozwalających na równoczesną analizę genotypu czterech lub ośmiu *loci* X-STR oraz markera płci – amelogeniny [4]. W ostatnim czasie na rynek wprowadzono nowy zestaw Investigator Argus X-12 firmy Qiagen, który umożliwia jednoczesną amplifikację dwunastu *loci* X-STR i *locus* amelogeniny. Zestaw ten zawiera po trzy *loci* z każdej grupy sprzężeń, a mianowicie: DXS8378-DXS10135-DXS10148 z grupy 1 (Xp22), DXS7132-DXS10134-DXS10079 z grupy 2 (Xq11), HPRTB -DXS10101-DXS10103 z grupy 3 (Xq26) oraz DXS7423-DXS100749-DXS10146 z grupy 4 (Xq28) [5].

W niniejszej pracy przedstawiono rzadkie warianty genetyczne, które zaobserwowano w czterech spośród dwunastu *loci* chromosomu X zbadanych zestawem Investigator Argus X-12: DXS10074 (allel 15.2), DXS10079 (allel 24), DXS10146 (allele 38.2 i 47.2) oraz DXS10148 (allele 17, 21.1 i 22). Dodatkowo, sprawdzono czy ujawnione warianty zostały przekazane potomstwu, badając dzieci, których matki posiadały wymienione rzadkie allele.

MATERIAŁY I METODY

Materiałem do badań były wymazy z błony śluzowej jamy ustnej pobrane od stu kobiet oraz stu mężczyzn, którzy zgłosili się do Zakładu Medycyny Sądowej w celu ustalenia spornego ojcostwa i wyrazili pisemną zgodę na przeprowadzenie badania. W przypadku stwierdzenia rzadkiego wariantu genetycznego, badaniem objęto również dzieci w celu określenia czy rzadki allel został przekazany potomstwu. Ekstrakcję genomowego DNA przeprowadzono metodą enzymatyczną z użyciem kolumn jonowymiennych posługując się zestawem Sherlock AX (A&A Biotechnology, Gdańsk). Badanie w zakresie polimorfizmu *loci* STR ludzkiego chromosomu X

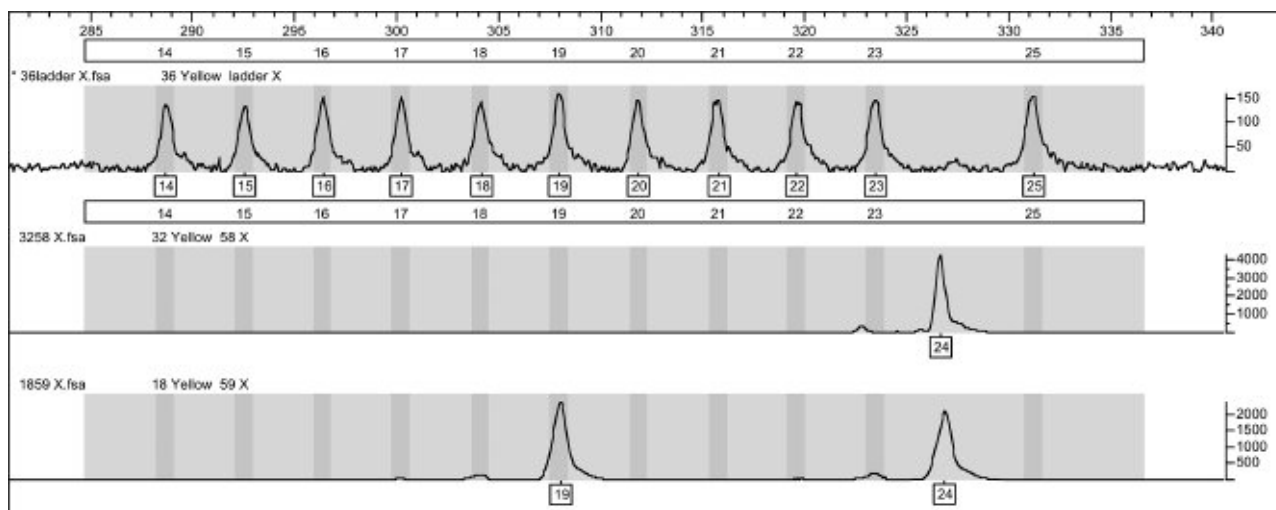
wykonano amplifikując fragmenty DNA z użyciem zestawu Investigator Argus X-12 Kit firmy Qiagen, zgodnie z zaleceniami producenta zestawu.

Amplifikowane produkty multipleksowej reakcji PCR rozdzielano elektroforetycznie w 6% poliakrylamidowym żelu denaturującym (Amresco, USA) z wykorzystaniem sekwenatora ABI Prism 377 (Applied Biosystems, USA), stosując przygotowaną uprzednio macierz kompensacji kolorów i wewnętrzny standard wielkości DNA – Size Standard 550 (BTO). Wielobarwny obraz żelu analizowano przy użyciu oprogramowania GeneScan Analysis 3.7 NT. Przyporządkowanie nazw alleli przeprowadzono z wykorzystaniem programu komputerowego ABI Prism Genotyper 3.7 NT porównując je z odpowiednimi wzorcami allelicznymi dostarczonymi wraz z zestawem Investigator Argus X-12.

WYNIKI

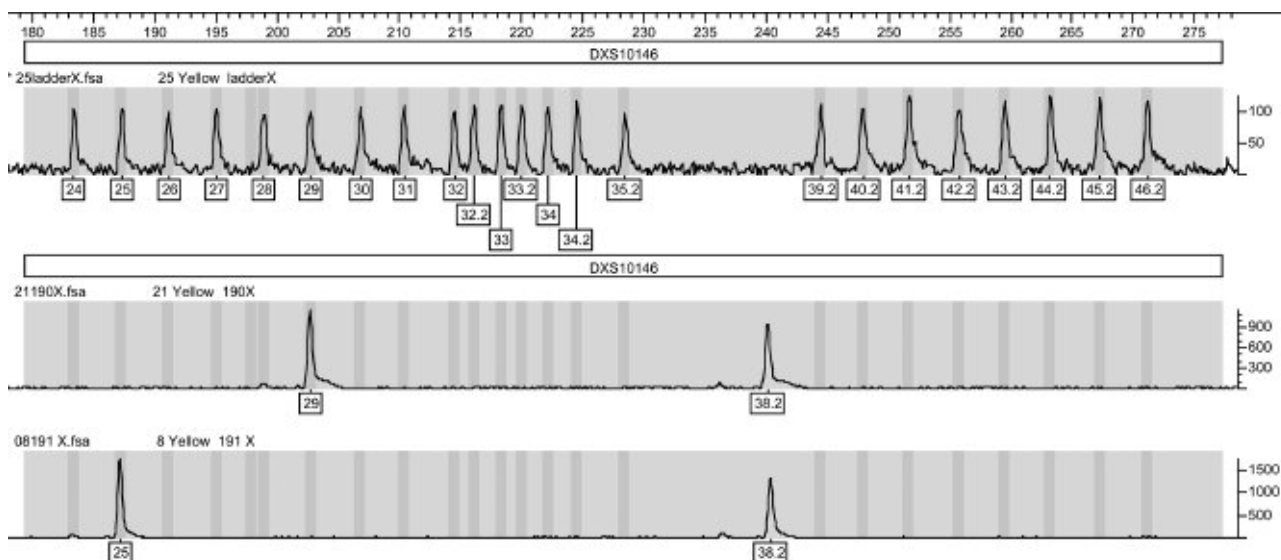
Dla grupy dwustu przebadanych osób ustalono pełne genotypy w zakresie wszystkich dwunastu *loci* X-STR oraz *locus* amelogeny zawartych

w zestawie Investigator Argus X-12. U dziewięciu kobiet oraz dwóch mężczyzn stwierdzono występowanie wariantów genetycznych nieuwzględnionych we wzorcu alleli dostarczonym przez producenta zestawu. Rzadkie allele wykazano dla markerów: DXS10074 (allel 15.2), DXS10079 (allel 24), DXS10146 (dwukrotnie allele 38.2 i allel 47.2) oraz DXS10148 (dwukrotnie allele 17, trzykrotnie allele 21.1 i allel 22). W przypadku kobiet dodatkowo ustalono genotypy ich dzieci (pięcioro płci męskiej i czworo płci żeńskiej), aby sprawdzić czy wyżej wymienione warianty zostały przekazane potomstwu. Dla obu mężczyzn, ze względu na płeć męską ich dzieci, takie badanie nie było możliwe. We wszystkich zbadanych układach dzieci dziedziczyły allele matczyne, przy czym u pięciorga stwierdzono segregację rzadkich alleli matczynych: DXS10079*24 (matka: 19-24, syn: 24) (ryc. 1), DXS10146*38.2 (matka: 25-38.2, córka: 29-38.2) (ryc. 2), DXS10148*17 (matka: 17-26.1, syn: 17) (ryc. 3), DXS10148*21.1 (matka: 21.1-24.1, syn: 21.1) (ryc. 4) oraz DXS10148*22 (matka: 22-23.1, córka: 22-24.1) (ryc. 5).



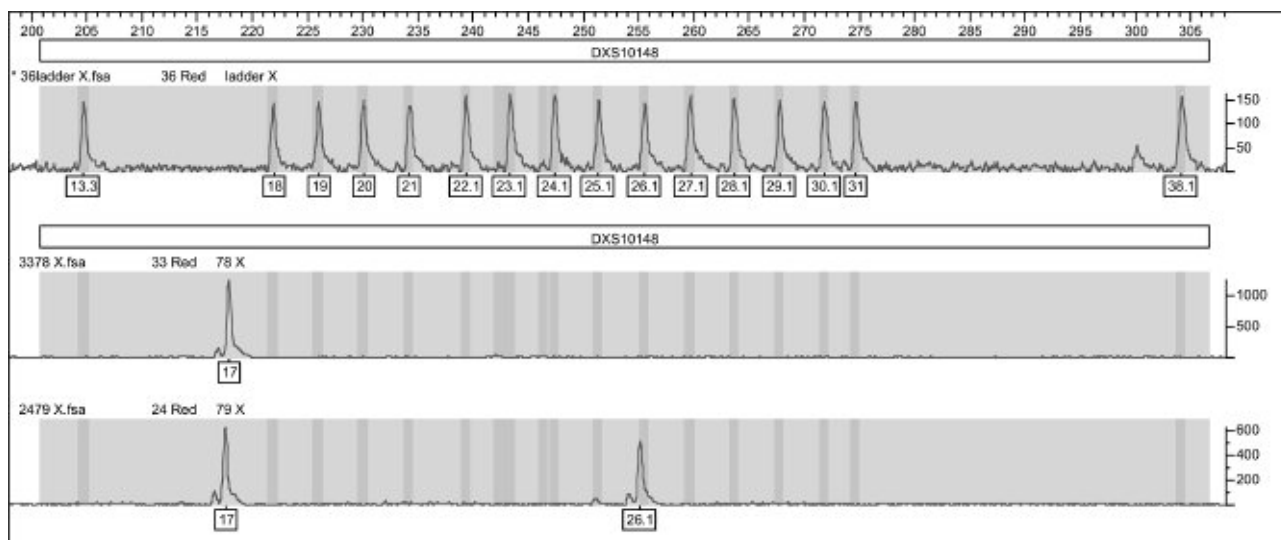
Ryc. 1. Elektroforegram prezentujący allel 24 w locus DXS10079 wraz ze wzorcem alleli w badaniu przy użyciu zestawu Investigator Argus X-12. Próbkę 58, 59 odpowiadają odpowiednio dziecku i matce.

Fig. 1. Electrophoregram presenting the allele 24 in DXS10079 locus with the allelic ladder in the analysis using Investigator Argus X-12 Kit. Samples 58, 59 correspond to the child and mother, respectively.



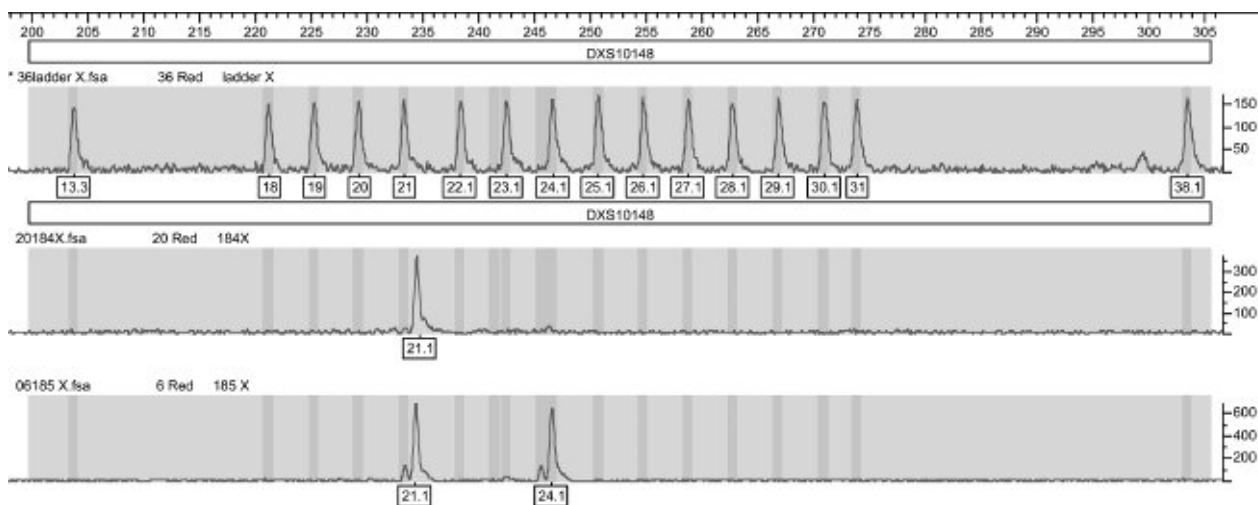
Ryc. 2. Elektroforegram prezentujący allel 38.2 w locus DXS10146 wraz ze wzorcem alleli w badaniu przy użyciu zestawu Investigator Argus X-12. Próbkki 190, 191 odpowiadają odpowiednio dziecku i matce.

Fig. 2. Electrophoregram presenting the allele 38.2 in DXS10146 locus with the allelic ladder in the analysis using Investigator Argus X-12 Kit. Samples 190, 191 correspond to the child and mother, respectively.



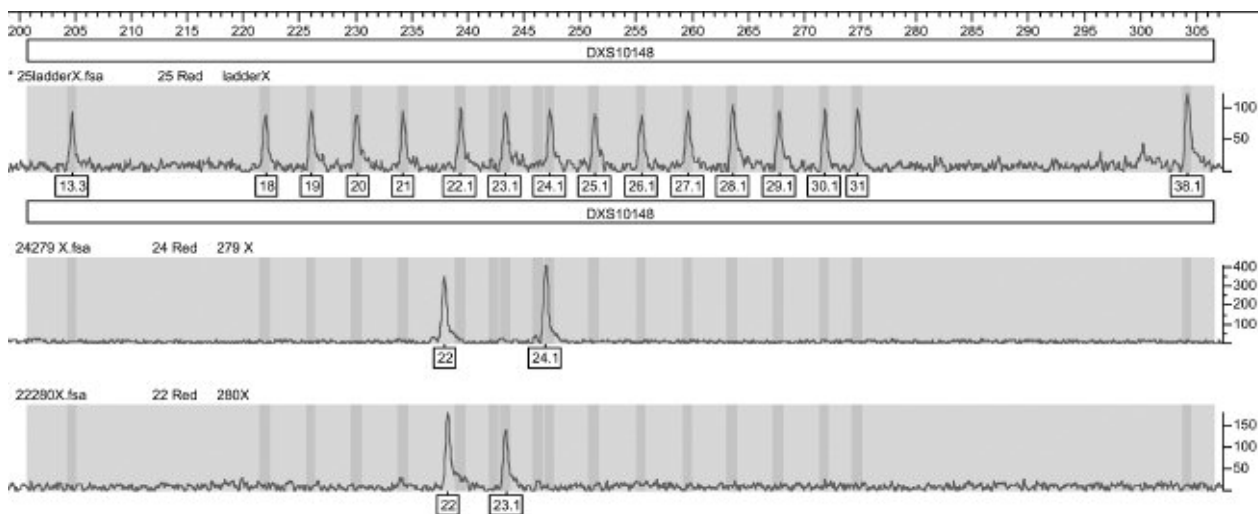
Ryc. 3. Elektroforegram prezentujący allel 17 w locus DXS10148 wraz ze wzorcem alleli w badaniu przy użyciu zestawu Investigator Argus X-12. Próbkki 78, 79 odpowiadają odpowiednio dziecku i matce.

Fig. 3. Electrophoregram presenting the allele 17 in DXS10148 locus with the allelic ladder in the analysis using Investigator Argus X-12 Kit. Samples 78, 79 correspond to the child and mother, respectively.



Ryc. 4. Elektroforegram prezentujący allel 21.1 w locus *DXS10148* wraz ze wzorcem alleli w badaniu przy użyciu zestawu Investigator Argus X-12. Próbkę 184, 185 odpowiadają odpowiednio dziecku i matce.

Fig. 4. Electrophoregram presenting the allele 21.1 in *DXS10148* locus with the allelic ladder in the analysis using Investigator Argus X-12 Kit. Samples 184, 185 correspond to the child and mother, respectively.



Ryc. 5. Elektroforegram prezentujący allel 22 w locus *DXS10148* wraz ze wzorcem alleli w badaniu przy użyciu zestawu Investigator Argus X-12. Próbkę 279, 280 odpowiadają odpowiednio dziecku i matce.

Fig. 5. Electrophoregram presenting the allele 22 in *DXS10148* locus with the allelic ladder in the analysis using Investigator Argus X-12 Kit. Samples 279, 280 correspond to the child and mother, respectively.

DYSKUSJA

Wprowadzenie nowych markerów genetycznych do rutynowej praktyki sądowej wymaga uprzedniego przeprowadzenia badań populacyjnych możliwie jak największej grupy osób. Badania takie są niezbędne w celu określenia częstości allelicznych w poszczególnych populacjach oraz do obliczenia podstawowych parametrów biostatystycznych, które pozwalają na oszacowanie wartości dowodowej ekspertyzy przeprowadzonej z użyciem tych markerów.

Loci DXS10074 oraz DXS10079 zlokalizowane są na długim ramieniu chromosomu X (Xq12), wzorzec alleli dla pierwszego układu składa się z 17 fragmentów DNA o długości od 104 do 172 par zasad (zakres alleli 4-21), zaś dla drugiego z 11 fragmentów DNA o długości od 290 do 333 par zasad (zakres alleli 14-25). Z kolei wzorzec alleliczny dla znajdującego się na ramieniu krótkim chromosomu X (Xp22.31) locus DXS10148 zawiera 16 fragmentów o długości od 207 do 305 par zasad (zakres alleli 13.3-38.1), a dla locus DXS10146 (Xq28) 23 fragmenty o długości 188 do 275 par zasad (zakres alleli 24-46.2) [5]. W wykonanej analizie polimorfizmu loci X-STR stwierdzono obecność siedmiu wariantów genetycznych, które mieszczą się w zakresie alleli wzorca dostarczonego przez producenta zestawu, aczkolwiek żaden z wymienionych wariantów nie został w nim uwzględniony. Ostateczne potwierdzenie występowania tych alleli w badanych próbkach wymagałoby jednak wykonania bezpośredniego sekwencjonowania produktów reakcji PCR. Pozwoliłoby to również na dokładne sprecyzowanie czy zmiana dotyczy motywu powtórzeniowego, czy ewentualnie regionu flankującego rdzeń sekwencji mikrosatelitarnej. Warianty genetyczne nieobecne we wzorcu alleli mogą być bowiem wynikiem insercji/delecji całej jednostki powtórzeniowej lub też występować jako tzw. „mikrowarianty” powstałe na skutek insercji/delecji pojedynczych nukleotydów. Stosunkowo rzadko zdarza się, aby takie allele znajdowały się w zakresie wielkości sąsiedniego locus, co mogłoby prowadzić do błędnej interpretacji wyników [6].

Analiza piśmiennictwa wykazała, że wariant DXS10079*24 został opisany w populacji niemieckiej z częstością 0,0007 (badaną próbę stano-

wiło 693 mężczyzn i 328 kobiet) [7]; w populacji brazylijskiej z Rio de Janeiro z częstością 0,002 (220 mężczyzn i 122 kobiety) [8] oraz w populacji koreańskiej z częstością 0,0083 (300 mężczyzn i 150 kobiet) [9]. Wariant DXS10074*15.2 występował z częstością 0,006 w populacji włoskiej (80 kobiet) [10] oraz 0,0169 w populacji Ghany (59 mężczyzn) [11]. Dla locus DXS10148 częstość populacyjna allele 17 wynosi 0,0033 dla populacji koreańskiej (300 mężczyzn i 150 kobiet) [9] oraz 0,038 dla populacji algierskiej (104 mężczyzn i 106 kobiet) [12]; częstość allele 21.1 wynosi 0,011 w populacji niemieckiej (380 przebadanych chromosomów X) [13]; 0,0233 w populacji koreańskiej (300 mężczyzn i 150 kobiet) [9] oraz 0,006 w populacji algierskiej (104 mężczyzn i 106 kobiet) [12], zaś częstość allele 22 w populacji niemieckiej 0,005 (380 przebadanych chromosomów X) [13] oraz 0,006 w populacji algierskiej (104 mężczyzn i 106 kobiet) [12]. Z kolei wariant DXS10146*38.2 występował z częstością 0,006 w populacji algierskiej (104 mężczyzn i 106 kobiet) [12] a wariant DXS10146*47.2 z częstością 0,003 w populacji algierskiej (104 mężczyzn i 106 kobiet) [12] oraz 0,006 w populacji włoskiej (80 kobiet) [10]. W populacji polskiej markery DXS10079, DXS10146 i DXS10148 nie były jak dotąd analizowane, a dla układu DXS10074 badanego przez niektóre ośrodki w Polsce, nie ujawniono wariantu 15.2 [14, 15]. Oszacowane częstości zidentyfikowanych wariantów genetycznych w populacji Polski południowej zamieszczono w tabeli I.

Stosowane w badaniach sądowo-lekarskich komercyjne zestawy multipleksowe zawierają wzorce alleliczne, które swoim zakresem obejmują najczęściej występujące warianty genetyczne ujawnione w badaniach dla poszczególnych populacji ludzkich. Objęcie takimi analizami coraz to liczniejszych grup osób zwiększa szansę zaobserwowania wariantów genetycznych nieuwzględnionych dotychczas we wzorcu. Stwarza to konieczność dokładnej analizy każdego z uzyskiwanych sygnałów fluorescencyjnych, nawet jeżeli znajdują się one poza obszarem alleli zarezerwowanych dla wzorca. W badaniach dotyczących ustalenia spornego ojcostwa, pokrewieństwa oraz badaniach identyfikacyjnych, odziedziczenie rzadkiego allele podnosi znacznie wartość dowodową ekspertyzy, przy czym

duże znaczenie ma tutaj wyznaczenie częstości populacyjnej takiego wariantu, co wymaga prze- badania odpowiednio dużej liczby niespokrewnio- nych osób.

Tabela 1. Częstości zidentyfikowanych wariantów allelicznych w populacji Polski południowej (100 kobiet i 100 mężczyzn).

Table 1. Frequencies of identified allelic variants in the South Polish population (100 females and 100 males).

Locus	Allele	Częstość / Frequency
DXS10074	15,2	0,0033
DXS10079	24	0,0033
DXS10146	38,2	0,0067
	47,2	0,0033
DXS10148	17	0,0067
	21,1	0,01
	22	0,0033

PIŚMIENICTWO

1. Krawczak M.: Kinship testing with X-chromosomal markers: Mathematical and statistical issues. *Forensic Sci Int Genet.* 2007, 1, 111-114.

2. Tillmar A. O., Mostad P., Egeland T., Lindblom B., Holmlund G., Montelius K.: Analysis of linkage and linkage disequilibrium for eight X-STR markers. *Forensic Sci Int Genet.* 2008, 3, 37-41.

3. Luo H. B., Ye Y., Wang Y. Y., Liang W. B., Yun L. B., Liao M., Yan J., Wu J., Li Y. B., Hou Y. P.: Characteristics of eight X-STR loci for forensic purposes in the Chinese population. *Int J Legal Med.* 2011, 1, 127-131.

4. Mentype Argus X-8 PCR Amplification Kit, Manual, 2010.

5. Investigator Argus X-12 Handbook, April 2010.

6. Grubwieser P., Mühlmann R., Niederstätter H., Pavlic M., Parson W.: Unusual variant alleles in commonly used short tandem repeat loci. *Int J Legal Med.* 2005, 119, 164-166.

7. Hering S., Augustin C., Edelmann J., Heidel M., Dressler J., Rodig H., Kuhlisch E., Szibor R.: DXS10079, DXS10074 and DXS10075 are STRs located within a 280-kb region of Xq12 and provide stable haplotypes useful for complex kinship cases. *Int J Legal Med.* 2006, 120, 337-345.

8. Ferreira da Silva I. H., Barbosa A. G., Azevedo D. A., Sánchez-Diz P., Gusmão L., Tavares C. C., Carvalho E. F., Ferreira da Silva L. A.: An X-chromosome pentaplex in two linkage groups: Haplotype data in Alagoas and Rio de Janeiro populations from Brazil. *Forensic Sci Int Genet.* 2010, 4, 95-100.

9. Jeong Eun Sim, Hwan Young Lee, Woo Ick Yang, Kyoung-Jin Shin: Population genetic study of four closely-linked X-STR trios in Koreans. *Mol Biol Rep* 2010, 37, 333-337.

10. Inturri S., Menegon S., Amoroso A., Torre C., Robino C.: Linkage and linkage disequilibrium analysis of X-STRs in Italian families. *Forensic Sci Int Genet.* 2010.

11. Becker D., Rodig H., Augustin C., Edelmann J., Gotz F., Hering S., Szibor R., Brabetz W.: Population genetic evaluation of eight

X-chromosomal short tandem repeat loci using Mentype Argus X-8 PCR amplification kit. *Forensic Sci Int Genet.* 2008, 69–74.

12. Bekada A., Benhamamouch S., Boudjema A., Fodil M., Menegon S., Torre C., Robino C.: Analysis of 21 X-chromosomal STRs in an Algerian population sample. *Int J Legal Med* 2010, 124, 287–294.

13. Hundertmark T., Hering S., Edelmann J., Augustin C., Plate I., Szibor R.: The STR cluster DXS10148–DXS8378–DXS10135 provides

a powerful tool for X-chromosomal haplotyping at Xp22. *Int J Legal Med* 2008, 122, 489–492.

14. Łuczak S., Rogalla U., Malyarchuk B. A., Grzybowski T.: Diversity of 15 human X chromosome microsatellite loci in Polish population. *Forensic Sci Int Genet* 2011.

15. Branicki W., Wolańska-Nowak P., Parys-Proszek A., Kupiec T.: Application of the Mentype Argus X-8 kit to forensic casework. *Problems of Forensic Sciences*, 2008, 73, 53-64.

Adres do korespondencji:
Pracownia Hemogenetyki
Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UJCM
ul. Grzegorzeczka 16
31-531 Kraków
e-mail: hemogenetyka@cm-uj.krakow.pl

Agata Kodroń, Edyta Rychlicka, Iwona Milewska, Marcin Woźniak, Tomasz Grzybowski

Analiza danych populacyjnych *loci* miniSTR: D10S1248, D14S1434 i D22S1045 w regionie kujawsko-pomorskim

Population data analysis of miniSTR *loci*: D10S1248, D14S1434 and D22S1045 in the Pomerania-Kujawy region of Poland

Z Zakładu Genetyki Molekularnej i Sądowej
Katedry Medycyny Sądowej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu,
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Kierownik Katedry: dr hab. med. T. Grzybowski, prof. UMK

Praca przedstawia częstości alleliczne i parametry statystyczne dla trzech *loci* miniSTR D10S1248, D14S1434 i D22S1045 w populacji regionu kujawsko-pomorskiego. Obserwowany rozkład częstości genotypów wykazał zgodność z regułą Hardy'ego-Weinberga. Obliczone parametry statystyczne potwierdziły, że *loci* D10S1248 i D22S1045 są wysoce informatywnymi markerami, podczas gdy D14S1434 wykazuje umiarkowaną przydatność do badań identyfikacyjnych z zakresu genetyki sądowej.

This paper presents the allele frequencies and forensic parameters of the three miniSTR loci D10S1248, D14S1434 and D22S1045 in the Pomerania-Kujawy region of Poland. Genomic DNA was extracted by a standard phenol-chloroform extraction procedure. The three miniSTR loci D10S1248, D14S1434 and D22S1045 were amplified in a triplex polymerase chain reaction with the primer sets designed by Coble and Butler in a GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems). The amplified products were separated and detected by capillary electrophoresis on an ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The genotype frequency distributions showed no deviations from Hardy-Weinberg equilibrium expectations. The values of forensic parameters confirm that D10S1248 and D22S1045 are highly informative genetic markers, whereas D14S1434 is a moderately useful for forensic genetic identification purposes.

Słowa kluczowe:

MiniNCO, dane populacyjne, kujawsko-pomorskie, miniSTR, populacja Polski

Key words:

MiniNCO, population data, Pomerania-Kujawy, miniSTR, Polish population

WSTĘP

Podstawowe cele badań genetycznych prowadzonych dla potrzeb identyfikacji osobniczej to możliwość rozróżnienia materiału biologicznego pochodzącego od poszczególnych osobników oraz określenie pokrewieństwa. Analizy te dokonywane są z użyciem markerów polimorficznych [1]. Wysoce polimorficzne sekwencje typu STR charakteryzują się zmienną liczbą powtórzeń sekwencji z jednostką repetytywną o długości od 2 pz do 6 pz, a produkty amplifikacji mieszczą się w zakresie od 100 pz do 450 pz. Są to markery powszechnie stosowane w badaniach z zakresu genetyki sądowej, ponieważ ich badanie jest skutecznym i szybkim sposobem identyfikacji próbek ludzkiego materiału biologicznego [2]. W praktyce badań śladów biologicznych zdarza się, że badany preparat zawiera wysoce zdegradowany DNA, którego fragmenty nie przekraczają 200 pz długości i który często jest zanieczyszczony inhibitorami łańcuchowej reakcji polimerazy. Zastosowanie stan-

dardowych markerów STR skutkuje w takich przypadkach niekompletnym wynikiem lub całkowitym brakiem profilu genetycznego. Poprzez przesunięcie starterów dla markerów STR bliżej sekwencji powtarzalnej długość produktu PCR zostaje zredukowana zachowując tę samą informację – powstaje marker minimikrosatelitarny (miniSTR). Markery miniSTR zapewniają krótsze produkty PCR, mieszczące się w zakresie długości 50 pz -150 pz [3]. Przed zastosowaniem jakiegokolwiek markera do badań wykonywanych dla potrzeb identyfikacji osobniczej i dochodzenia spornego ojcostwa konieczna jest dokładna charakterystyka jego polimorfizmu w badanej populacji.

Celem niniejszej pracy było ustalenie częstości alleli dla trzech *loci* miniSTR (D10S1248, D14S1434 i D22S1045) w próbce 115 niespokrewnionych mieszkańców regionu kujawsko-pomorskiego, ocena parametrów statystycznych badanych układów oraz ocena przydatności tych układów w sprawach z zakresu genetyki sądowej.

MATERIAŁ I METODY

Badana populacja

Materiał badawczy pochodził od 115 niespokrewnionych osób obu płci pochodzących z regionu kujawsko-pomorskiego. Próbki DNA pochodziły ze zanonimizowanej bazy próbek uzyskanych od osób badanych pod kątem spornego ojcostwa i zawierały profile genetyczne matek, dzieci i domniemanych ojców. Do badań wykorzystano próbki pochodzące od osób oznaczonych w bazie jako dzieci. W przypadku jednej z próbek, w której stwierdzono nietypowy wzór alleliczny, dla celów porównawczych, poddano badaniom również DNA rodziców osoby, od której pochodziła próbka.

Ekstrakcja DNA

Materiał, z którego izolowano DNA stanowiły wymazy z policzków. Genomowy DNA wyizolowano stosując standardową metodę ekstrakcji organicznej. Stężenie DNA określano w oparciu o zestaw Quanti-Blot® Human DNA Quantitation Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

PCR

Trzy *loci* miniSTR D10S1248, D14S1434 i D22S1045 amplifikowano z użyciem znakowa-

nych fluorescencyjnie par starterów zaprojektowanych i opisanych przez Coble i Butlera [3], w objętości 10 μ l, użyto 8ng matrycowego DNA, 1X Colorless GoTaq™ Reaction Buffer (zawierającego 1,5 mM MgCl₂) (Promega, Madison, WI, USA), 500 μ M każdego z nukleotydów, 0,65 μ M, 0,17 μ M i 0,24 μ M starterów odpowiednio dla *loci* D10S1248, D14S1434 i D22S1045 (Applied Biosystems), 2.5 U GoTaq™ DNA Polymerase (Promega). Do znakowania starterów wykorzystano barwniki FAM, VIC i NED, zgodnie z opublikowanymi danymi [3]. Amplifikację prowadzono w termocyklerze GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems) w następujących warunkach: wstępna denaturacja 95°C/3min, a następnie 30 cykli amplifikacyjnych składających się z denaturacji 94°C/1min, hybrydizacji starterów 55°C/1min i wydłużania 72°C/1min. Proces kończono elongacją 60°C przez 45 minut.

Elektroforeza i detekcja produktów PCR

Produkty reakcji PCR rozdzielano metodą elektroforezy kapilarnej z zastosowaniem automatycznego sekwenatora ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) i zestawu filtrów G5. Próbki do elektroforezy przygotowywano mieszając 0,3 μ l produktu PCR z 10,7 μ l formamidu (Hi-Di formamide, Applied Biosystems) oraz ze standardem wielkości GeneScan-500LIZ lub GeneScan-600LIZ (Applied Biosystems). Dane z sekwenatora analizowano z użyciem oprogramowania GeneMapper_ID v3.2 (Applied Biosystems). Allele obecne w badanych próbkach określano poprzez porównanie z próbkami kontrolnymi o znanym genotypie: 9947A i ABI 007 (Applied Biosystems).

Genotyp próbki kontrolnej 9947A w układach D10S1248, D14S1434 i D22S1045 to (wg kolejności układów): 13,15; 11,13; 11,14. Genotyp próbki kontrolnej ABI 007 w układach D10S1248, D14S1434 i D22S1045 to (wg kolejności układów): 12,15; 11,14; 11,16. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że powtarzalność pomiarów długości fragmentów DNA uzyskiwanych w amplifikacji próbek kontrolnych mieściła się dla zastosowanych warunków elektroforezy w przedziale \pm 0.6 pz.

Obliczenia statystyczne

Częstość alleli i następujące parametry statystyczne: siła dyskryminacji (PD), prawdopodobieństwo

przypadkowej zgodności (MP), zawartość informacji polimorficznej (PIC), siła wykluczenia (PE) i teoretyczna średnia szansa ojcostwa (TPI) obliczono przy użyciu arkusza kalkulacyjnego PowerStatsV12 [4]. Z obserwowanych częstości alleli obliczono oczekiwaną częstość genotypów stosując równanie Hardy'ego-Weinberga. Zgodność obserwowanych i oczekiwanych częstości alleli z równaniem Hardy'ego-Weinberga badano testem dokładnym. Parametry testu dokładnego, wartość p , heterozygotyczność obserwowaną (H_{obs}) i heterozygotyczność oczekiwaną (H_{exp}) obliczano z wykorzystaniem programu Arlequin Statistical Analysis Package wersja 3.11 [5].

WYNIKI I DYSKUSJA

Długość alleli obserwowanych w badanych układach z zastosowaniem opisanych warunków amplifikacji mieści się w zakresie od 74 pz do 119 pz. Obserwowany rozkład częstości genotypów w zakresie analizowanych *loci* wykazuje zgodność z regułą Hardy'ego-Weinberga ($p > 0,05$ w teście dokładnym). Częstości poszczególnych alleli oraz wartości pozostałych parametrów statystycznych charakteryzujących poszczególne układy miniSTR poddane badaniu przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Rozkład częstości alleli trzech loci miniSTR (D10S1248, D14S1434 i D22S1045) w populacji regionu kujawsko-pomorskiego.

Table I. Distribution of allele frequencies and forensic parameters of the three miniSTR loci (D10S1248, D14S1434 and D22S1045) in the Pomerania-Kujawy region of Poland.

Allele	D10S1248	D14S1434	D22S1045
9			0,004
10		0,122	
11		0,039	0,148
12	0,048	0,035	0,048
13	0,209	0,387	0,009
14	0,339	0,400	0,061
15	0,235	0,013	0,370
16	0,130		0,270
17	0,035	0,004	0,065
18	0,004		0,022
19			0,004
N	115	115	115
H_{obs}	0,765	0,670	0,774
H_{exp}	0,769	0,675	0,761
PD	0,903	0,834	0,893
MP	0,097	0,166	0,107
PIC	0,729	0,614	0,724
PE	0,536	0,383	0,552
TPI	2,130	1,513	2,212
p	0,531	0,782	0,530

N: wielkość próby

H_{obs}: heterozygotyczność obserwowana

H_{exp}: heterozygotyczność oczekiwana

PD: siła dyskryminacji

MP: prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności

PIC: zawartość informacji polimorficznej

PE: siła wykluczenia

TPI: teoretyczna średnia szansa ojcostwa

p: wartość p dla testu dokładnego

N: sample size

H_{obs}: observed heterozygosity

H_{exp}: expected heterozygosity

PD: power of discrimination;

MP: matching probability

PIC: polymorphism information content

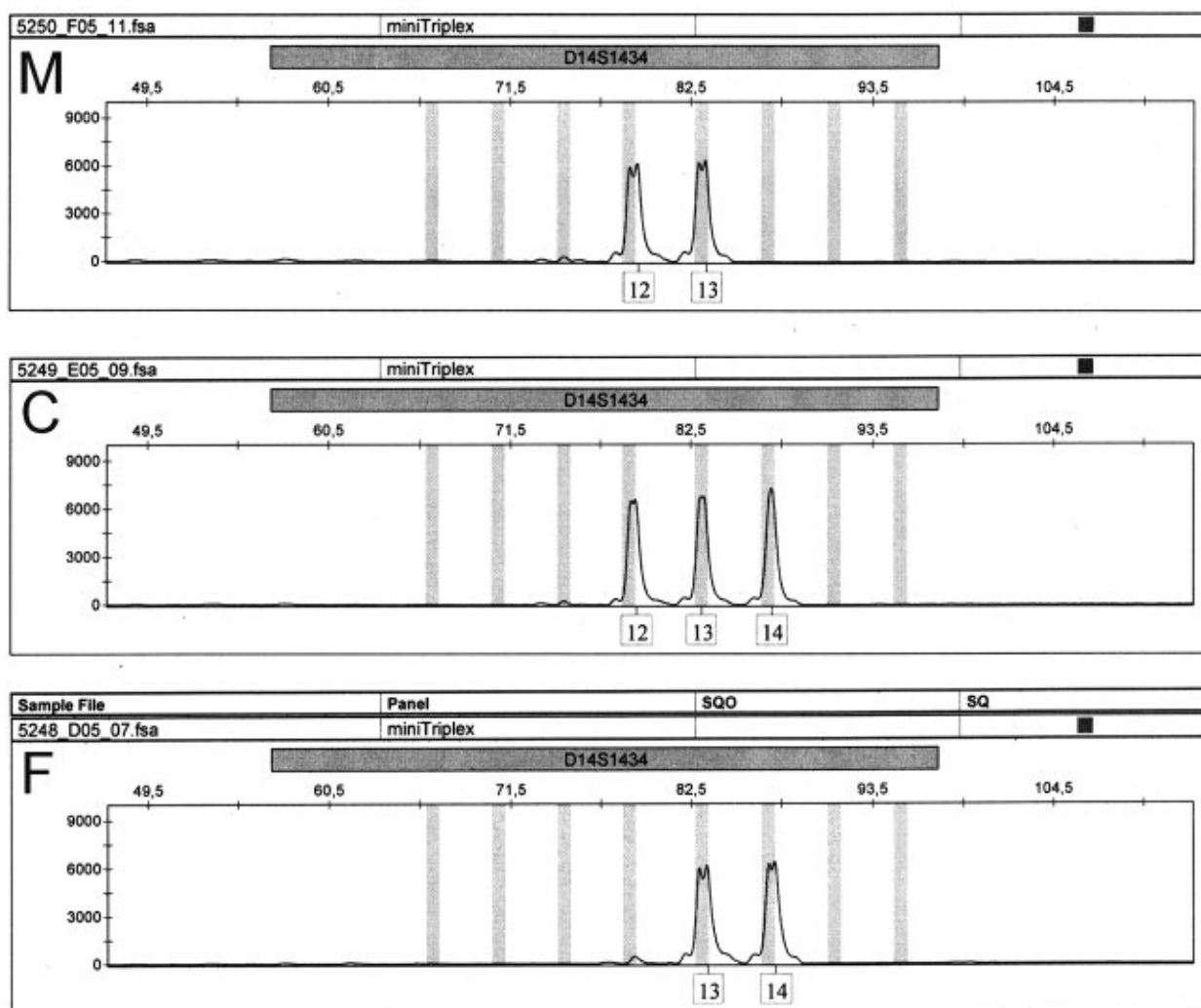
PE: power of exclusion

TPI: typical paternity index

p: p -values for Hardy–Weinberg equilibrium exact test

W trakcie analizy danych populacyjnych w badanym zestawie próbek ujawniono obecność nietypowego, rzadkiego wzoru trójallelicznego. Analizę powtórzono na dwóch niezależnych próbkach DNA w celu wykluczenia obecności ewentualnych artektów reakcji PCR lub zanieczyszczeń. Dysponowano również materiałem genetycznym rodziców

osoby, u której wystąpiła opisywana anomalia. W opisywanym przypadku genotyp dziecka w locus D14S1434 składał się z alleli 12, 13 i 14, podczas gdy ojciec i matka dziecka posiadali normalny, heterozygotyczny wzór układu alleli w tym locus (odpowiednio 13/14 i 12/13 – rycina 1).



Ryc. 1. Elektroforegramy dla locus miniSTR D14S1434 otrzymane podczas analizy testu ojcostwa. Elektroforegramy pokazują dwa allele w profilu matki (M) i ojca (F), podczas gdy u dziecka (C) występuje wzór trójalleliczny zawierający wszystkie allele obecne u rodziców.

Fig. 1. Electrophoregrams of the miniSTR D14S1434 locus obtained in a paternity testing case. Electrophoregrams show two alleles in the maternal profile (M) and in the paternal profile (F), while a three-allelic pattern containing all the parental alleles is present in the child's profile (C).

Wzór trójalleliczny jest w przypadku układów STR zjawiskiem stosunkowo rzadkim. Clayton i współpracownicy sklasyfikowali dwa typy wzorów trójallelicznych [6]. Typ I, w którym piki reprezentujące poszczególne allele charakteryzują się zróżnicowaną wysokością, spowodowany jest mutacją somatyczną w locus heterozygotycznym w wyniku, której powstaje organizm mozaikowy, posiadający w różnych komórkach ciała różną ilość powtórzeń allelu danego *locus* znajdującego się na jednym z chromosomów danej pary. Typ II wzoru trójallelicznego charakteryzuje się wyrównaną wysokością pików reprezentujących poszczególne allele. Przypuszcza się, że taki obraz spowodowany jest lokalną duplikacją fragmentu jednego z chromosomów danej pary w locus heterozygotycznym połączoną z dodaniem lub ubytkiem jednego lub większej ilości powtórzeń w układzie mikrosatelitarnym. Mutacja taka musiałaby zachodzić w jednej z gamet tworzących zarodek lub na bardzo wczesnym etapie rozwoju zarodkowego [6]. Obraz obserwowany w opisywanym przypadku dla *locus* D14S1434 klasyfikuje go do typu 2 wzorów trójallelicznych. Nie można również wykluczyć, że obserwowany wzór trójalleliczny jest wynikiem występowania u badanej osoby trisomii chromosomu 14 z jednoczesną mutacją w obrębie *locus* D14S1434 na zduplikowanym chromosomie. Ze względu na anonimowy charakter bazy, z której pozyskano analizowane próbki, nie było możliwe uzyskanie informacji czy osoba, u której stwierdzono obserwowaną anomalię wykazywała cechy

fenotypowe wskazujące na obecność trisomii chromosomu 14.

Otrzymane dla analizowanych układów parametry statystyczne wskazują, że układy D10S1248 i D22S1045 można uznać za markery wysoce informatywne w populacji Pomorza i Kujaw, podczas gdy układ D14S1434 wykazuje umiarkowaną przydatność do badań identyfikacyjnych i w dochodzeniu spornego ojcostwa w tej populacji. Uzyskane częstości alleli i parametry statystyczne są zasadniczo zgodne z parametrami analizowanych układów STR uzyskanymi przez Reichert i Pawłowskiego dla populacji polskiej [7]. Wszystkie analizowane *loci* wykazują jednak potencjalnie wysoką przydatność w przypadkach, gdy badany materiał genetyczny, ze względu na swą degradację, nie pozwala na uzyskanie ampliconów dłuższych niż 200 pz. Badane układy miniSTR mogą stanowić cenne uzupełnienie analizy z zastosowaniem markerów STR standardowej długości. Należy jednak zauważyć, że wykorzystywana dla celów niniejszej pracy reakcja multipleksowa, której parametry wyjściowe zaczerpnięto z literatury [3] i zoptymalizowano dla potrzeb analizy próbek populacyjnych, zawierających stosunkowo duże ilości DNA, nie dawała zadowalających rezultatów amplifikacji przy stężeniu DNA niższym niż 5 ng na reakcję. Aby mogła ona zostać skutecznie wdrożona do praktycznej analizy śladów biologicznych, szczególnie tych zawierających niewielkie ilości DNA, konieczne byłoby przeprowadzenie odpowiednich procedur optymalizacyjnych.

PIŚMIENNICTWO

1. Szczerkowska Z., Pawłowski R.: Podstawy genetyki sądowej. Wydawnictwo Akademii Medycznej w Gdańsku, Gdańsk, 2002.

2. Krzyżosiak W.: Genom człowieka, największe wyzwanie współczesnej biologii molekularnej i medycyny. PWN, Warszawa, 1997.

3. Coble M.D., Butler J.M.: Characterization of new miniSTR loci to aid analysis of degraded DNA, J. Forensic Sci. 2005, 50 (1), 43–53.

4. Tereba A.: Tools for Analysis of Population Statistics, Profiles in DNA, 1999, 14-16.

5. Excoffier L., Laval G., Schneider S.: Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for

population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1, 47-50.

6. Clayton T. M.: A genetics basis for anomalous band patterns encountered during DNA STR profiling, J. Forensic Sci. 2004, 49 (6), 1207-1214.

7. Reichert M., Pawłowski R.: Legal Medicine. 2009, 11, 147-148.

Adres do korespondencji:

dr n. med. Marcin Woźniak

tel. +48 52 585 3552

faks +48 52 585 3553

e-mail: marcinw@cm.umk.pl

Michał Szeremeta, Witold Pepiński, Anna Niemcunowicz-Janica, Małgorzata Skawrońska, Adam Sackiewicz, Iwona Ptaszyńska-Sarosiek, Magdalena Okłota

Ocena wizualizacji śladów biologicznych z użyciem alternatywnego źródła światła (ALS) w aspekcie ich identyfikacji genetycznej.

Część I. Analiza śladów krwi i śliny*

Evaluation of visualization of biological stains with the use of alternative light source (ALS) for the purpose of genetic identification. Part I. Blood and saliva stains analysis.

Z Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: dr hab. med. A. Niemcunowicz-Janica

Celem pracy była ocena przydatności wizualizacji śladów krwi i śliny ludzkiej przy użyciu alternatywnego źródła światła (ALS) w aspekcie ich identyfikacji genetycznej. Przeprowadzone badania wykazały, że doświadczalne zaplamienia krwi, znajdujące się na jasnym materiale, są najlepiej widoczne w świetle dziennym oraz w zakresie widma lampy łukowej do wartości rozcieńczenia krwi w stosunku 1:600. Pełne profile DNA *loci* zestawu AmpFISTR SGM Plus uzyskano z plam wykonanych z próbek krwi rozcieńczonych w proporcji 1:1500, natomiast dla rozcieńczeń 1:1750 i 1:2000 stwierdzono częściowe profile DNA. Zaplamienia śliną wykonane na jasnym materiale, są całkowicie niewidoczne w świetle dziennym, podobnie jak w pełnym widmie światła lampy łukowej. Stosując długości fali z przedziału 300-415 nm oraz filtr żółty, jak również długości fali z przedziału 300-455 nm i filtr pomarańczowy uwidoczniono plamy wykonane kroplą śliny do wartości rozcieńczenia w stosunku 1:600. Pełne profile DNA *loci* zestawu AmpFISTR SGM Plus uzyskano z plam wykonanych z próbek rozcieńczonych w proporcji 1:1750, natomiast dla rozcieńczeń 1:2000 stwierdzono częściowe profile DNA. Stosując długości fali 455 nm i filtr pomarańczowy, a także widmo światła CSS i filtr czerwony uzyskano najlepszy efekt wizualizacji zatartej plamy krwi na ciemnym niekontrastowym materiale, natomiast w przypadku zatartej plamy

śliny na jasnym niekontrastowym materiale najlepsze warunki do wizualizacji wystąpiły dla długości fali w przedziale 300-415 nm i filtra żółtego oraz długości fali w przedziale 300-455 nm i widma światła CSS przy użyciu filtrów pomarańczowego oraz czerwonego.

The objective of the investigation was evaluation of visualization of human blood and saliva stains with the use of alternative light source for the purpose of genetic identification. Experimental bloodstains on the bright base were the most clearly seen in the natural light and white light, up to blood dilution of 1:600. Complete typeability of AmpFISTR SGM Plus kit profiles was obtained from bloodstains at dilution 1:1500. Partial AmpFISTR SGM Plus kit profiles were typed from bloodstains at dilutions 1:1750 and 1:2000. Experimental saliva stains on the light-colored base were completely invisible in the natural light and white light, while they were visualized at wavelength range 300-415 nm through yellow goggles, and at wavelength range 300-455 nm through orange goggles at saliva dilution 1:600. Complete typeability of AmpFISTR SGM Plus kit *loci* was obtained from saliva stains at dilution 1:1750. Partial AmpFISTR SGM Plus kit profiles were typed from saliva stains at dilution 1:2000. The wavelength of 455 nm and orange goggles were the optimal set for visualization of

* Poszerzona wersja referatu, przedstawionego podczas XV Zjazdu Naukowego PTMSiK, Gdańsk 16-18.09.2010.

bloodstains on various, noncontrasting materials. Other useful wavelength/combinations of goggles were CSS light/red goggles. In case of saliva, the most useful general condition for visualization of stains on various, non-contrasting materials was with the wavelength set to 300-415 nm, while wearing yellow goggles. Other useful combinations of wavelength/goggles were 300-455 nm/orange or red goggles, and also CSS light/orange or red goggles.

Słowa kluczowe:

alternatywne źródło światła, ślady krwi, ślady śliny, identyfikacja genetyczna

Key words:

alternative light source, bloodstains, saliva stains, genetic identification

WSTĘP

Z doświadczenia kryminalistycznego i sądowo-lekarskiego wynika, że śladami biologicznymi, najczęściej obserwowanymi na miejscu zdarzenia przestępczego, są zaplamienia krwi i śliny [1]. Obecność krwi lub śliny ofiary na narzędziu przestępstwa, odzieży czy też na ciele napastnika lub ofiary pozwala na ustalenie związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy podejrzanym a dokonanym przestępstwem, co często stanowi jedyny dowód działania sprawcy. Podobnie ujawnienie krwi lub śliny podejrzanego w miejscu popełnienia zbrodni może wskazywać na powiązanie czasoprzestrzenne sprawcy z zabronionym czynem. Tym samym ślady krwi i śliny posiadają duży potencjał dowodowy, który wymaga specyficznych metod ujawniania, identyfikacji i dokumentowania [2]. Podczas oględzin miejsca zdarzenia, narzędzi użytych do popełnienia przestępstwa, oględzin sprawców czy też osób pokrzywdzonych, często zdarza się, że ślady biologiczne są niewidoczne „gołym okiem”. Taki stan rzeczy jest związany z małą ilością pozostawionego na miejscu zdarzenia materiału, bądź też z zacieraniem w sposób celowy lub przypadkowy pozostawionych śladów. W tego typu sytuacjach istnieje potrzeba odpowiedniego uwidocznienia śladów biologicznych oraz ukazania najbardziej odpowiednich miejsc do ich pobrania dla potrzeb późniejszej identyfikacji genetycznej. Jedną z nowo-

czesniejszych metod ujawniania śladów biologicznych jest ich wizualizacja w świetle o specyficznym zakresie długości fali z użyciem odpowiednich filtrów odcinających. Zaletami tej metody są relatywnie niskie koszty, a także możliwość przeprowadzenia nieniszczących badań na praktycznie nieskończonej powierzchni miejsca zdarzenia lub badanego dowodu, bez konieczności używania związków chemicznych jak luminol, czy Bluestar Forensic (Bluestar).

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły próbki krwi i śliny ludzkiej. Probki krwi pobierano z żyły odfokciowej do probówki z wersenianem sodu (EDTA-K2). Probki śliny pobierano po 15 minutach od higienicznego wyszczotkowania zębów, przy użyciu szczoteczki stomatologicznej i pasty „Signal” oraz po dwukrotnym (w piątej i dziesiątej minucie po szczotkowaniu) wyplukaniu jamy ustnej wodą. Z zabezpieczonego materiału biologicznego wykonano po dwie serie zaplamień eksperymentalnych na wybranych podłożach. Określoną objętość krwi oraz śliny rozcieńczono w proporcjach: 1:2, 1:5, 1:10, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:600, 1:800, 1:1000, 1:1250, 1:1500, 1:1750, 1:2000. Przygotowane rozcieńczenia naniesiono na jałową gazę chirurgiczną koloru białego, będącą podłożem kontrastowym dla materiału biologicznego. Przygotowane zaplamienia poddano suszeniu w temperaturze około 21°C. Równoległe takie same rozcieńczenia krwi i śliny naniesiono na materiały niekontrastowe, jak: skórzany pasek koloru brązowego, ciemna bawełniana koszulka, ciemny dywanik samochodowy, wzorzysta sukienka i także poddano suszeniu w temperaturze około 21°C. Po jednej z wykonanych serii zaplamień z krwi i śliny, na podłożu kontrastowym oraz na podłożach niekontrastowych, poddano je działaniu czynników zacierających: moczenie w wodzie, czyszczenie powierzchniowe (zacieranie), pranie w różnych temperaturach kąpieli piorących, przy użyciu powszechnie dostępnych środków piorąco-czyszczących. Zatarte ślady biologiczne uwidoczniono za pomocą alternatywnego źródła światła (ALS) o długościach fali: pełnego zakresu widma lampy łukowej, światła UV 300-400 nm, światła VIS – 415, 455, 515, 535, 555 nm oraz w trybie CSS, emitowanych przez urządzenie

Mini-CrimeScope 400 (SPEX Forensics), stosując zestawy filtrów optycznych dla obserwatora: żółtego, ciemno-żółtego, pomarańczowego i czerwonego [3]. Tryb CSS obejmuje jednoczasową emisję różnych długości fali świetlnej w celu wykrycia słabo widocznych lub niewidocznych śladów. Obecność materiału biologicznego pochodzenia ludzkiego, w wytypowanych metodą optyczną śladach, to jest w maksymalnym rozcieńczeniu dla krwi i śliny 1:600, potwierdzono jakościowo przy użyciu testu immunochromatograficznego HemCheck-1 (Veda-Lab) i testu RSID-Saliva (IFI) [4]. Izolację DNA z miejsc zaplamionych przeprowadzono przy użyciu zestawu PrepFiler™ oraz metodą organiczną [5, 6]. W przypadku plam śliny proces izolacji poprzedzono rozcieńczeniem śladu w 1 ml H₂O, który następnie inkubowano przez 30 min w temperaturze pokojowej. Dalsze etapy izolacji przebiegły identycznie, jak przy izolacji śladów krwawych. Ilościową ocenę poziomu DNA w śladach przeprowadzono metodą Real Time PCR przy użyciu zestawu Quantifiler® Human DNA Quantification Kit i aparatu 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems) [7]. Amplifikację DNA przeprowadzono w aparacie GeneAmp PCR System 9700 stosując zestaw AmpFISTR SGM Plus PCR Amplification Kit (Applied Biosystems). Genotypowanie przeprowadzono przy użyciu analizatora genetycznego ABI 3130 (Applied Biosystems). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej i przedstawiono w formie opisowej oraz udokumentowano na fotografiach.

WYNIKI

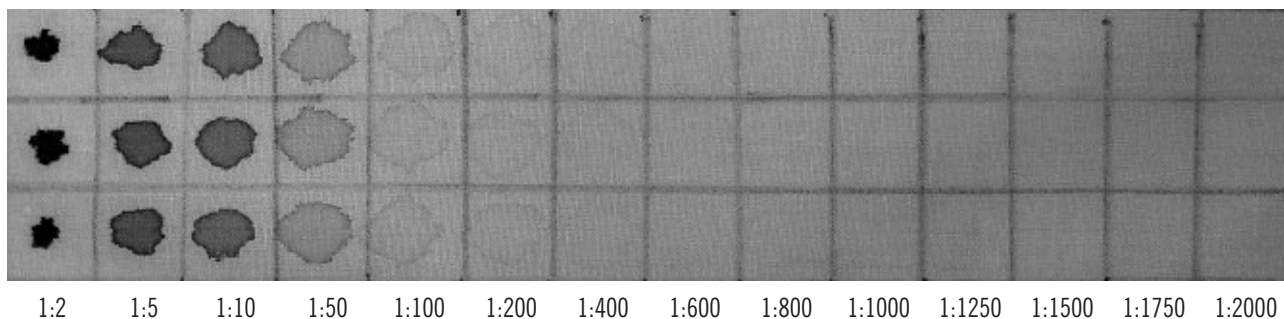
Wykonane doświadczalnie zaplamienia krwi na jasnym materiale w świetle dziennym oraz w zakresie widma lampy łukowej są widoczne przy rozcieńczeniu krwi w stosunku 1:600 (ryc. 1 i 2). Stosując długości fali 455 nm i filtr pomarańczowy, a także widmo światła CSS i filtr czerwony uwidoczniono zatartą plamę krwi na ciemnym niekontrastowym materiale (ryc. 3, 4, 5). Stężenia DNA w badanych rozcieńczeniach plam krwawych zawierały się w przedziale około 1,375-1500 ng. Pełne profile DNA *loci* zestawu AmpFISTR SGM Plus uzyskano z plam wykonanych z próbek krwi rozcieńczonych w proporcji 1:1500, natomiast dla rozcieńczeń 1:1750 i 1:2000 stwierdzono czę-

ściowe profile DNA. Plamy śliny naniesione na białe, płócienne podłoże są zupełnie niewidoczne w zwykłym świetle jarzeniowym, podobnie jak w pełnym widmie światła lampy łukowej urządzenia Mini-CrimeScope. Stosując długości fali z przedziału 300-415 nm oraz filtr żółty, jak również długości fali z przedziału 300-455 nm i filtr pomarańczowy uwidoczniono plamy wykonane kroplą śliny rozcieńczoną w stosunku 1:600 (ryc. 6 i 7). Natomiast po zastosowaniu długości fali w przedziale 300-415 nm i filtra żółtego uwidoczniono zatartą plamę śliny na jasnym niekontrastowym materiale. Podobne wyniki uzyskano stosując długość fali w przedziale 300-455 nm oraz widmo światła CSS przy użyciu filtrów pomarańczowego i czerwonego (ryc. 8, 9, 10, 11). Stężenia DNA w badanych rozcieńczeniach plam śliny zawierały się w przedziale około 1,7-1800 ng. Pełne profile DNA *loci* zestawu AmpFISTR SGM Plus uzyskano z plam wykonanych z próbek rozcieńczonych w proporcji 1:1750, natomiast dla rozcieńczenia 1:2000 stwierdzono częściowe profile DNA.

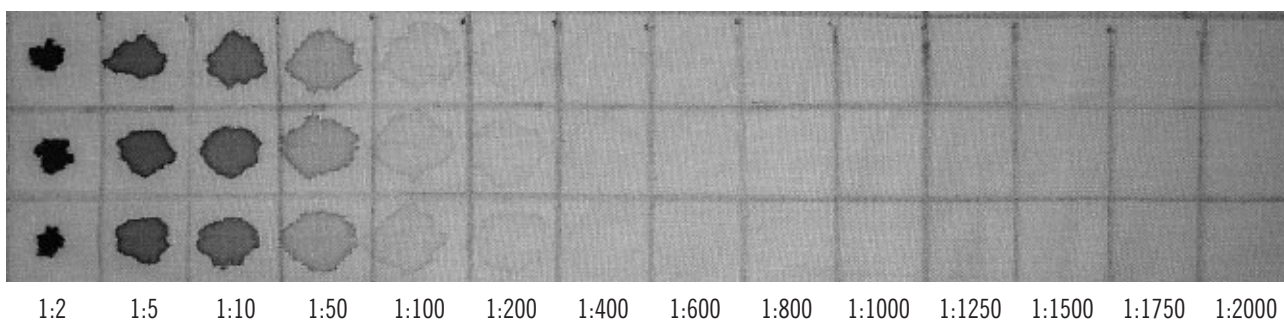
DYSKUSJA

Z wizualizacją śladów krwi lub śliny przy użyciu alternatywnego źródła światła (ALS) związane są podstawowe zjawiska fizyczne: absorpcja oraz fluorescencja. Zawarta we krwi hemoglobina pochłania energię fali elektromagnetycznej, co przy zastosowaniu światła o długości fali około 450 nm z odpowiednimi filtrami odcinającymi pozwala na uwidocznienie śladu krwi w postaci ciemnej, o nierównych obrysach, nieznacznie kontrastującej się z ciemnym otoczeniem plamy [8]. Oświetlenie śladu śliny falą o długości 300-455 nm przy zastosowaniu odpowiednich filtrów odcinających pozwala na emitowanie światła przez wzbudzone cząsteczki badanego śladu. Obserwowana w tym przypadku fluorescencja widoczna jest w postaci przybierającej różne odcienie bieli, o wyraźnie zaznaczonych konturach plamy.

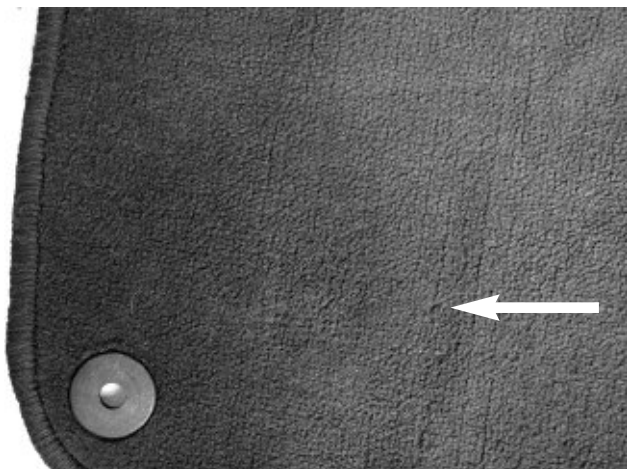
Widoczny w ostatnim dziesięcioleciu gwałtowny rozwój metod wykorzystywanych do badania profilu DNA pozwala na uzyskanie zadowalających wyników już z kilku komórek, z których każda zawiera przeciętnie około 6 pg DNA [9, 10]. Tak duży potencjał badawczy wymaga jednak odpowiedniego ujawnienia i zabezpieczenia materiału biologicznego



Ryc. 1. Wizualizacja doświadczalnych plam krwawych na jasnym materiale w świetle dziennym.
Fig. 1. Visualization of experimental bloodstains on the bright base in the natural light.

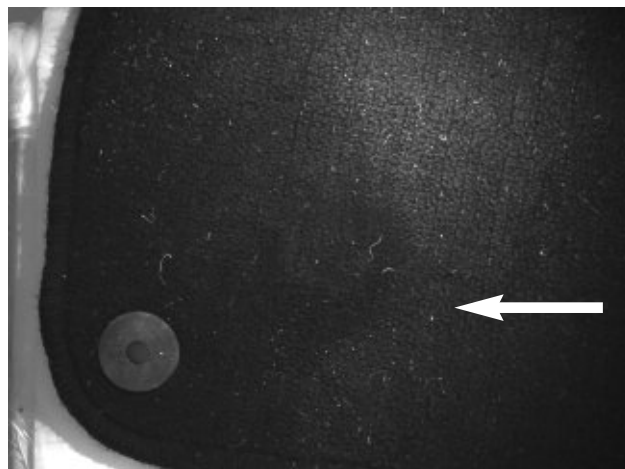


Ryc. 2. Wizualizacja doświadczalnych plam krwawych na jasnym materiale w zakresie widma lampy łukowej.
Fig. 2. Visualization of experimental bloodstains on the bright base in the white light.



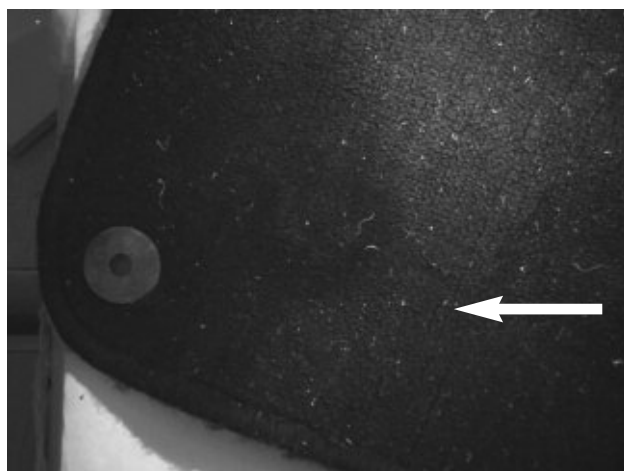
Ryc. 3. *Zatarty ślad krwi na czarnym dywaniku samochodowym w świetle dziennym.*

Fig. 3. *Effaced bloodstain situated on the black car mat in the natural light.*



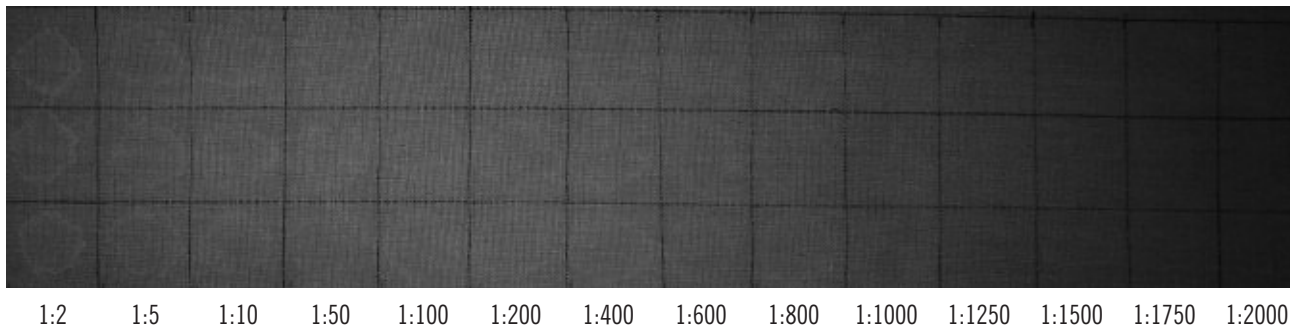
Ryc. 4. *Zatarty ślad krwi na czarnym dywaniku samochodowym w świetle o długości fali 455 nm, przy zastosowaniu filtra pomarańczowego.*

Fig. 4. *Effaced bloodstain situated on the black cars mat with the combination of wavelength/goggles: 455 nm/orange goggles.*



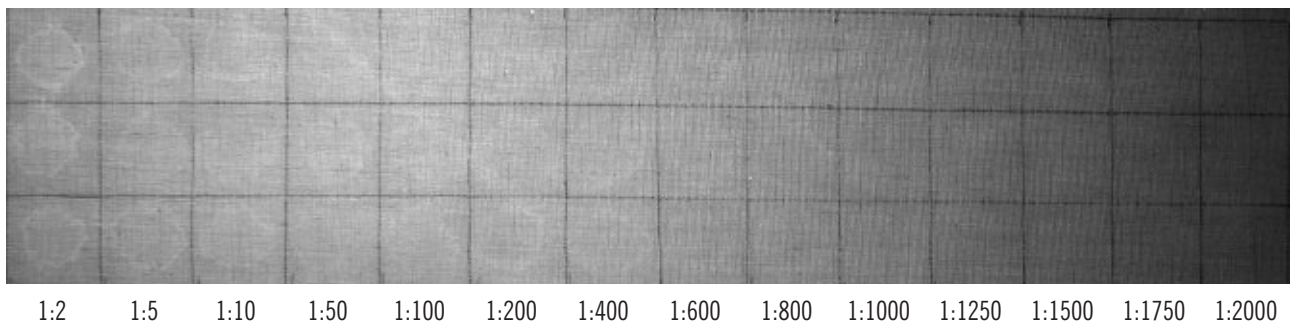
Ryc. 5. *Zatarty ślad krwi na czarnym dywaniku samochodowym w świetle CSS, przy zastosowaniu filtra czerwonego.*

Fig. 5. *Effaced bloodstain situated on the black car mat with the combination of wavelength/goggles: CSS light/red goggles.*



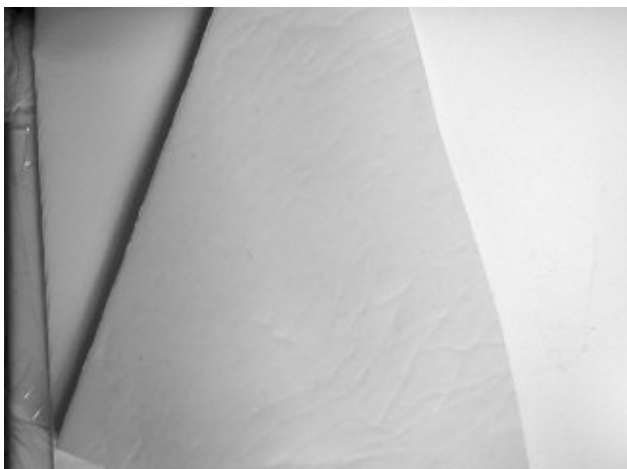
Ryc. 6. Wizualizacja śladów śliny na niekontrastowym materiale w świetle o długości fali 415 nm, przy zastosowaniu filtra żółtego.

Fig. 6. Visualization of experimental saliva stains on the bright base with the combination of wavelength/goggles: 415 nm/yellow goggles.

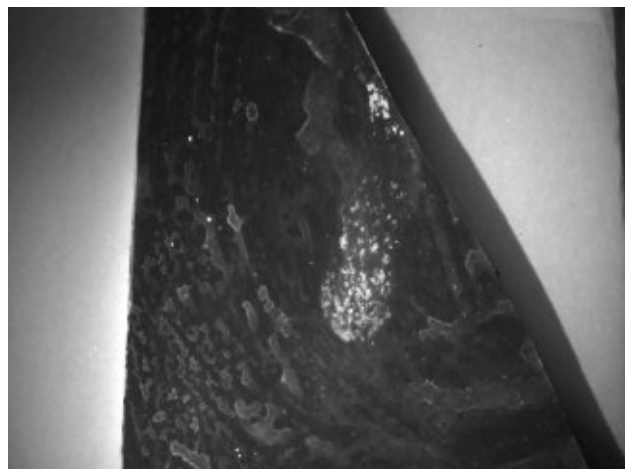


Ryc. 7. Wizualizacja śladów śliny na niekontrastowym materiale w świetle o długości fali 455 nm, przy zastosowaniu filtra pomarańczowego.

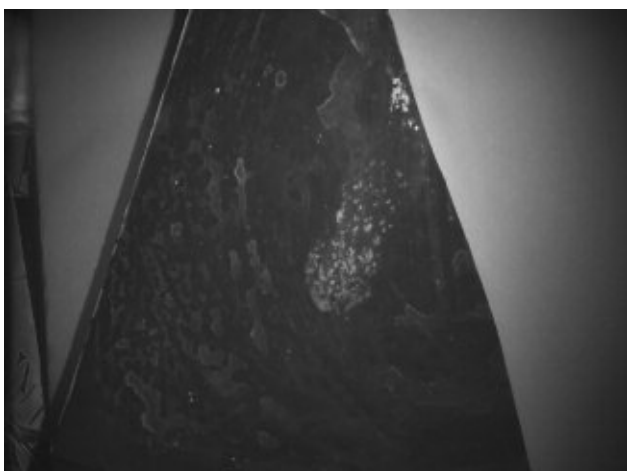
Fig. 7. Visualization of experimental saliva stains on the bright base with the combination of wavelength/goggles: 455 nm/orange goggles.



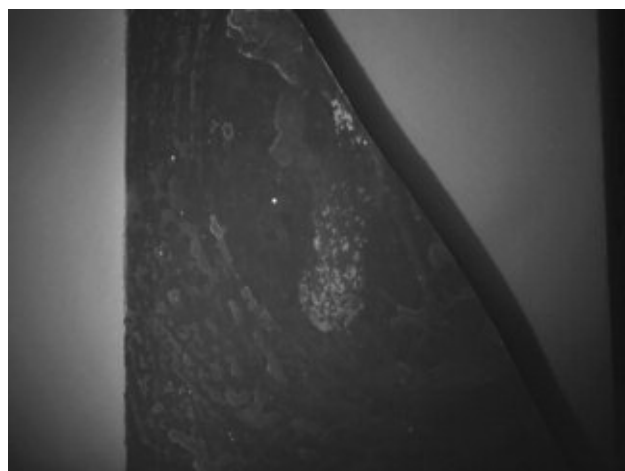
Ryc. 8. *Zatarty ślad śliny na białej płytce ceramicznej w świetle dziennym.*
Fig. 8. *Effaced saliva stain situated on the white, non-contrasting ceramic tile in the natural light.*



Ryc. 9. *Zatarty ślad śliny na białej płytce ceramicznej w świetle o długości fali 415 nm, przy zastosowaniu filtra żółtego.*
Fig. 9. *Effaced saliva stain situated on the white, non-contrasting ceramic tile with the combination of wavelength/goggles: 415 nm/yellow goggles.*



Ryc. 10. *Zatarty ślad śliny na białej płytce ceramicznej w świetle o długości fali 300-455 nm, przy zastosowaniu filtra pomarańczowego.*
Fig. 10. *Effaced saliva stain situated on the white, non-contrasting ceramic tile with the combination of wavelength/goggles: 300-455 nm/orange goggles.*



Ryc. 11. *Zatarty ślad śliny na białej płytce ceramicznej w świetle o długości fali 455 nm, przy zastosowaniu filtra czerwonego.*
Fig. 11. *Effaced saliva stain situated on the white, non-contrasting ceramic tile with the combination of wavelength/goggles: 455 nm/red goggles.*

na miejscu zdarzenia w celu przeprowadzenia dalszych badań. Ze względu na trudności w różnicowaniu istotnych dla dochodzenia śladów, od różnych substancji biologicznych stanowiących tło miejsca zdarzenia, potrzebne jest zastosowanie odpowiednio czułych i szybkich metod przesiewowych. Początkowo prowadzone próby wizualizacji śladów biologicznych przy użyciu światła białego, ultrafioletowego czy laserowego nie przynosiły spodziewanych efektów. Podobnie zastosowanie wysokospecjalistycznej aparatury, jak jonowy laser argonowy nie znalazło praktycznego zastosowania w ujawnianiu śladów [11]. Obecnie jednym z najbardziej rozpowszechnionych oraz użytecznych metod ujawniania śladów biologicznych na miejscu zdarzenia jest ich wizualizacja przy użyciu alternatywnego źródła światła (ALS). Jedne z pierwszych badań, dotyczących praktycznego wywoływania luminescencji przy użyciu ALS w procesie ujawniania śladów biologicznych, pojawiły się już na początku lat 90 XX wieku, kiedy to wydział Policji Federalnej w australijskim mieście Canberra badał możliwości wizualizacji krwi oraz nasienia [12]. W chwili obecnej stosowanie alternatywnego źródła światła stanowi istotne narzędzie pomocnicze w zabezpieczaniu śladów na miejscu zdarzenia oraz w tworzeniu interdyscyplinarnych i złożonych ekspertyz. Ujawnione i zabezpieczone ślady pozwalają, między innymi, na poszerzenie diagnostyki dotyczącej rekonstrukcji wypadków drogowych [13].

Podczas prowadzonych dotychczas badań pobudzenia oraz emisji widma plam krwawych stwierdzono, że krew nie wykazuje istotnej fluorescencji. Posiada za to silną absorpcję w zakresie długości fali świetlnej 395-435 nm, z maksimum wynoszącym 415 nm [12]. W badaniach prowadzonych przez Vandenbergę i wsp. najkorzystniejszy obraz plamy krwawej uzyskano dla długości fali świetlnej 450 nm oraz filtra pomarańczowego, a także dla

długości fali 415 nm z filtrem żółtym [8]. Podobnie dobry efekt wizualizacji zatartych plam krwawych uzyskaliśmy stosując długość fali 455 nm z filtrem pomarańczowym, a także widmo światła CSS przy zastosowaniu filtra czerwonego. W przypadku śliny, najlepsze wyniki fluorescencji zatartych plam na jasnym niekontrastowym materiale uzyskaliśmy po zastosowaniu długości fali w przedziale 300-415 nm i filtra żółtego, a także dla długości fali w przedziale 300-455 nm oraz widma światła CSS przy użyciu filtrów pomarańczowego i czerwonego. Przeprowadzone dotychczas w innych niezależnych ośrodkach badania wskazują, że podobnie dobry efekt wizualizacji jest możliwy do zaobserwowania w świetle ultrafioletowym, o długości fali w zakresie 200-320 nm [14], a także w świetle o długości fali 450 nm z filtrem pomarańczowym [8]. Stosowane w ostatnich latach nowoczesne metody emitujące wiązkę światła laserowego, czy też łukowa lampa rtęciowa, pozwoliły na zaobserwowanie fluorescencji śladowej ilości śliny w zakresie długości fali 320-400 nm bez zastosowania filtrów odcinających [15].

WNIOSKI

1. Ocena materiału przy pomocy wizualizacji z wykorzystaniem alternatywnego źródła światła stanowi szybki i czuły sposób na wstępne rozpoznanie oraz wytypowanie do dalszych badań identyfikacyjnych niewidocznych śladów biologicznych pochodzenia ludzkiego.
2. Barwa i struktura podłoża, na którym występują ślady wpływają na ich wygląd w świetle dziennym, w świetle alternatywnym oraz na intensywność fluorescencji i absorpcji.
3. Zatarcia śladów krwi i śliny nie stanowią przeszkody w ich wizualizacji i zabezpieczeniu pełnowartościowego materiału genetycznego.

Tabela I. Ilościowa ocena DNA wyizolowanego z poszczególnych zaplamień krwi przy użyciu zestawu Quantifiler.

Table I. DNA yields from serially diluted blood samples extracted using Quantifiler kit.

Rozcieńczenia krwi Blood dilutions	Uzyskane DNA (ng) Prepfilier DNA yields (ng) Prepfilier	Uzyskane DNA (ng) metoda organiczna DNA yields (ng) organic method
1:2	1375,00	1500,00
1:5	550,00	600,00
1:10	275,00	300,00
1:50	55,00	60,00
1:100	27,50	30,00
1:200	13,75	15,00
1:400	6,88	7,50
1:600	4,58	5,00
1:800	3,43	3,75
1:1000	2,75	3,00
1:1250	2,20	2,40
1:1500	1,83	2,00
1:1750	1,57	1,75
1:2000	1,38	1,50

Tabela II. Ilościowa ocena DNA wyizolowanego z poszczególnych zaplamień śliny przy użyciu zestawu Quantifiler.

Table II. DNA yields from serially diluted saliva samples extracted using Quantifiler kit.

Rozcieńczenia śliny Saliva dilutions	Uzyskane DNA (ng) Prepfilier DNA yields (ng) Prepfilier	Uzyskane DNA (ng) metoda organiczna DNA yields (ng) organic method
1:2	1700,00	1800,00
1:5	680,00	720,00
1:10	340,00	360,00
1:50	68,00	72,00
1:100	34,00	36,00
1:200	17,00	18,00
1:400	8,50	9,00
1:600	5,60	6,00
1:800	4,25	4,50
1:1000	3,40	3,60
1:1250	2,70	2,88
1:1500	2,30	2,40
1:1750	1,90	2,00
1:2000	1,70	1,80

PIŚMIENNICTWO

1. Branicki W., Kupiec T., Wolańska-Nowak P.: Badania DNA dla celów sądowych. Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych im. Prof. Dra Jana Shena w Krakowie. Kraków 2008.

2. Goc M., Moszczyński J.: Ślady kryminalistyczne. Ujawnianie, zabezpieczanie, wykorzystanie. Centrum Doradztwa i Informacji sp. z o.o. Warszawa 2007.

3. Schulz M. M., Wehner F., Wehner H. D.: The

use of a tunable light source (Mini-Crimescope MCS-400, SPEX Forensics) in dissecting microscopic detection of cryptic epithelial particles. *J Forensic Sci* 2007; 52: 879-883.

4. Old J. B., Schweers B. A., Boonlayangoor P. W., Reich K. A.: Developmental validation of RSID-saliva: a lateral flow immunochromatographic strip test for the forensic detection of saliva. *J Forensic Sci* 2009; 54: 866-873.

5. Montpetit S. A., Fitch I. T., O'Donnell P. T.: A simple automated instrument for DNA extraction in

forensic casework. *J Forensic Sci* 2005; 50: 555-563.

6. Donovan J., Brown P., Reeves J. P., Reeves P. A.: Introduction to basic mouse handling techniques. *Curr Protoc Hum Genet*. 2003 May; Appendix 3: Appendix 3L.

7. Kitchen R. R., Kubista M., Tichopad A.: Statistical aspects of quantitative real-time PCR experiment design. *Methods* 2010; 50: 231-236.

8. Vandenberg N., van Oorschot R.: The use of Polilight® in the detection of seminal fluid, saliva, and bloodstains and comparison with conventional chemical-based screening tests. *J Forensic Sci* 2006; 51: 361-370.

9. Thorogate R., Moreira J. C. S., Jickells S., Miele M. M. P., Daniel B.: A novel fluorescence-based method in forensic science for the detection of blood in situ. *Forensic Sci Int: Genetics* 2008; 2: 363-371.

10. Bär W.: DNA profiling: evaluation of the evidentiary value. *Leg. Med.* 2003; 5: 41-44.

11. Auvdel M. J.: Comparison of laser and ultraviolet techniques used in the detection of body secretions. *J Forensic Sci* 1987; 32: 326-345.

12. Stoilovic M.: Detection of semen and blood stains using the Polilight as a light source. *Forensic Sci Int* 1991; 51: 289-296.

13. Grubwieser P., Pavlic M., Günther M., Rabl W.: Airbag contact in traffic accidents: DNA detection to determine the driver identity. *Int J Legal Med* 2004; 118: 9-13.

14. Soukos N. S., Crowley K., Bamberg M. P., Gillies R., Doukas A. G., Evans R., Kollias N.: A rapid method to detect dried saliva stains swabbed from human skin using fluorescence spectroscopy. *Forensic Sci Int* 2000; 114: 133-138.

15. Seidl S., Hausmann R., Betz P.: Comparison of laser and mercury-arc lamp for the detection of body fluids on different substrates. *Int J Legal Med* 2008; 122: 241-244.

Adres do korespondencji:

Michał Szeremeta

Zakład Medycyny Sądowej

Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

ul. Kilińskiego 1

15-089 Białystok

Adam Sackiewicz, Anna Niemcunowicz-Janica, Witold Pepiński, Małgorzata Skawrońska, Michał Szeremeta, Iwona Ptaszyńska-Sarosiek, Magdalena Okłota

Ocena wizualizacji śladów biologicznych z użyciem alternatywnego źródła światła (ALS) w aspekcie identyfikacji genetycznej.

Część II. Analiza śladów nasienia*

Evaluation of visualization of biological stains with the use of alternative light source (ALS) for the purpose of genetic identification. Part II. Semen samples analysis

Z Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: dr hab. n. med. A. Niemcunowicz-Janica

Ujawnienie śladów nasienia na przedmiotach pochodzących z miejsca zdarzenia (np. odzież i pościel) stanowi ważny element dochodzenia w przypadku przestępstw seksualnych. Użycie alternatywnego źródła światła może być pomocne w ich wykrywaniu. Celem niniejszej pracy była ocena przydatności wizualizacji śladów nasienia ludzkiego, przy użyciu alternatywnego źródła światła (ALS), w aspekcie identyfikacji genetycznej. Badania wykazały, że doświadczalne plamy nasienia, znajdujące się na jasnym materiale, są najlepiej widoczne w świetle dziennym oraz w zakresie widma lampy łukowej do wartości rozcieńczenia nasienia wodą w stosunku 1:10. Pełne profile DNA *loci* zestawu AmpFISTR SGM Plus uzyskano z plam wykonanych z próbek nasienia rozcieńczonych w proporcji 1:1750, natomiast dla rozcieńczeń 1:2000 stwierdzono niepełne profile DNA. W przypadku zatarcia śladów nasienia najlepszy efekt wizualizacji uzyskano przy zastosowaniu ALS o długości fali 455 nm i filtra pomarańczowego.

Detection of seminal stains on items such as clothing and bedding is a significant element of investigation in sexual assault cases. The use of alternative light source may assist in their identification. The objective of the investigation was the evaluation of human semen visualization with the use of alternative light source for the purpose of genetic identification. The tests demonstrated that

experimentally prepared semen stains on the bright base could be best seen in the natural light and white light when the semen was diluted at a ratio 1:10. The complete typeability of AmpFISTR SGM Plus kit loci was evaluated in semen which was diluted at a ratio 1:1750 and typeability of AmpFISTR SGM Plus kit loci was incomplete in semen diluted at a ratio 1:2000. After washing with laundry detergents, semen stains were still recognizable under ALS wavelength 455 nm, while wearing orange goggles.

Słowa kluczowe:

alternatywne źródło światła, nasienie, fluorescencja

Key words:

alternative light source, semen, fluorescence

WPROWADZENIE

Praca stanowi kontynuację badań nad identyfikacją śladów biologicznych. W tej części przedstawiono ocenę wizualizacji śladów nasienia przy użyciu alternatywnego źródła światła w aspekcie identyfikacji genetycznej.

Z praktyki sądowo-lekarskiej wynika, że przestępstwa na tle seksualnym budzą wiele wątpliwości przed sądem i dlatego niezwykle istotne jest dokładne i prawidłowe ujawnienie oraz zabezpiecze-

* Poszerzona wersja plakatu, przedstawionego podczas XV Zjazdu Naukowego PTMSiK, Gdańsk 16-18.09.2010.

nie śladów w trakcie oględzin miejsca zdarzenia, osób pokrzywdzonych i podejrzanych oraz odzieży. W przypadku przestępstw seksualnych dochodzenie opiera się najczęściej na wykryciu i identyfikacji śladów nasienia sprawcy. Ujawnienie materiału biologicznego sprawcy czynu nierzadko jednak bywa utrudnione z uwagi na jego śladową ilość, przypadkowe bądź celowe zacieranie. W takich sytuacjach niezwykle pomocne okazuje się urządzenie emitujące alternatywne źródło światła, pod wpływem którego plamy nasienia wykazują charakterystyczną fluorescencję [1].

MATERIAŁ I METODY

W przeprowadzonych badaniach oceniano przydatność wizualizacji śladów nasienia przy użyciu alternatywnego źródła światła (ALS) w aspekcie identyfikacji genetycznej. Materiał do badań stanowiło świeże nasienie ludzkie. Określoną objętość nasienia rozcieńczono wodą w proporcjach: 1:2, 1:5, 1:10, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:600, 1:800, 1:1000, 1:1250, 1:1500, 1:1750, 1:2000. Tak przygotowane rozcieńczenia naniesiono na jałową gazę chirurgiczną koloru białego, która jest podłożem niekontrastowym w stosunku do materiału biologicznego. Następnie przygotowane próby poddano suszeniu w temperaturze pokojowej, około 21°C. Z zabezpieczonego materiału biologicznego wykonano serie zaplamień eksperymentalnych na wybranych podłożach: skórzanym pasku koloru brązowego, ciemnej bawełnianej koszulce, łazienkowej płytce ceramicznej, ciemnym dywaniku samochodowym, wzorzystej sukience. Zaplamienia te poddano suszeniu w temperaturze pokojowej oraz działaniu czynników zacierających, takich jak: moczenie w wodzie, czyszczenie powierzchniowe (zapieranie) przy zastosowaniu ciepłej wody i powszechnie dostępnych środków piorących. Obie serie zaplamień poddano oględzinom przy użyciu alternatywnego źródła światła (ALS) o długościach fali: pełnego zakresu widma lampy fluoro-owej, światło UV 300-400 nm, światło VIS 415-555 nm oraz w trybie CSS emitowanego przez urządzenie Mini Crime Scope 400 -Spex Forensics, z wykorzystaniem zestawu filtrów optycznych dla obserwatora: żółtego, ciemno żółtego, pomarańczowego i czerwonego. Tryb CSS to opcjonalny tryb pracy oświetlacza umożliwiający jednoczesną emi-

sję światła o kilku długościach fali, co w założeniu producenta ma znacznie ułatwić wykrywanie niewidocznych i słabo widocznych śladów [2]. Obecność materiału biologicznego pochodzenia ludzkiego w wytypowanych metodą optyczną śladach, oznaczano jakościowo przy użyciu testu immunochromatograficznego PSA – Semiquant Cassette Test (Seratec). Izolację DNA z miejsc zaplamionych przeprowadzono metodą cząstek magnetycznych przy użyciu zestawu PrepFiler™ oraz metodą organiczną. Ilościową ocenę poziomu DNA w śladach przeprowadzono metodą Real Time PCR przy użyciu

Tabela 1. Ilościowa ocena DNA wyizolowanego z poszczególnych zaplamień przy użyciu zestawu Quantifiler® Human DNA Quantification Kit.

Table 1. DNA yields from serially diluted semen samples extracted using Quantifiler® Human DNA Quantification Kit.

Rozcieńczenia nasienia Semen dilutions	Uzyskane DNA (ng) Prepfilier DNA yields (ng) Prepfilier	Uzyskane DNA (ng) metoda organiczna DNA yields (ng) organic method
1:2	1480,24	1540,64
1:5	684,12	744,97
1:10	380,26	420,41
1:50	82,35	90,84
1:100	36,75	40,46
1:200	20,47	24,85
1:400	11,34	13,56
1:600	7,45	8,64
1:800	4,21	5,24
1:1000	3,89	4,17
1:1250	2,46	2,79
1:1500	1,53	1,85
1:1750	1,16	1,29
1:2000	0,61	0,86

zestawu Quantifiler® Human DNA Quantification Kit i aparatu 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems). Objętość pojedynczego preparatu po izolacji wynosiła 50µl. Amplifikację markerów zestawu AmpFISTR SGM Plus przeprowadzono w termocyklerze GeneAmp PCR System 9700. Genotypowanie wykonano przy użyciu analizatora ABI 3130 (Applied Biosystems). Uzyskane wyniki przedstawiono w formie opisowej oraz udokumentowano na fotografiach.

WYNIKI

Doświadczalne zaplamienia na jałowej gazie chirurgicznej, w świetle dziennym, wykryto okiem nieuzbrojonym przy rozcieńczeniu nasienia wodą w stosunku 1:10. Emisja światła o długości fali 455 nm, przy zastosowaniu przez obserwatora filtra pomarańczowego, umożliwiła zaobserwowanie śladowej fluorescencji plamy nasienia rozcieńczonego wodą w stosunku 1:1000. Badanie poszczególnych zaplamień zawierających rozcieńczone nasienie w kierunku obecności PSA dało wynik pozytywny w przypadku rozcieńczenia nasienia wodą w stosunku 1:1000. Wyniki ilościowej oceny DNA wyizolowanego z poszczególnych zaplamień przy użyciu zestawu Quantifiler® Human DNA Quantification Kit przedstawiono w tabeli I. Pełne profile DNA stwierdzono dla plam wykonanych z próbek rozcieńczonych w proporcji 1:1750, natomiast dla rozcieńczeń 1:2000 uzyskano niepełne profile DNA. Zaplamienia zawierające nierozcieńczone nasienie, naniesione na ciemny dywanik samochodowy i wzorzystą bawełnianą sukienkę, uznano za niemożliwe do zaobserwowania w świetle dziennym okiem nieuzbrojonym. Zlokalizowanie materiału biologicznego na tych podłożach umożliwiła fluorescencja wzbudzona urządzeniem Mini Crime Scope, nawet po zadziałaniu czynników zacierających w postaci zapierania z użyciem powszechnie dostępnych środków piorących.

DYSKUSJA

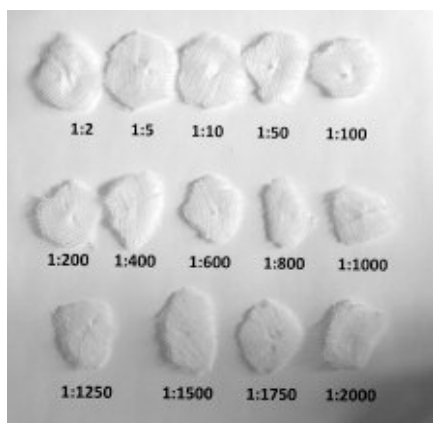
Wprowadzenie w latach osiemdziesiątych do badań sądowych techniki PCR stanowiło szybką oraz czułą metodę identyfikacji osobniczej ze skąpego lub zdegradowanego materiału biologicznego. Poszerzenie tej metody o tak zwany multipleks PCR

pozwoлиło na zbadanie kilkunastu systemów polimorficznych w jednej mieszaninie reakcyjnej [1]. Obecnie używane zestawy komercyjne charakteryzują się wysoką czułością i umożliwiają analizę DNA w znacznym stopniu zdegradowanego. Już ilość wyjściowego DNA, zawierająca się w granicach 1,0-2,5 ng, pozwala na uzyskanie pełnego profilu w zakresie badanych układów danego systemu [3]. Ślady biologiczne, takie jak: krew ślina, nasienie, stanowią dowody wykorzystywane przy rekonstrukcji zdarzeń kryminalnych [4]. Do ich ujawnienia od blisko 40 lat stosuje się różne źródła światła alternatywnego [5].

Wyschnięte nasienie jest substancją silnie fluorescującą [6], najlepiej widoczną przy długości fali około 450 nm z użyciem pomarańczowego filtra odcinającego [7, 8, 9]. Dzięki swoim właściwościom fizykochemicznym ślady nasienia uwidaczniają się jako żółto zielonkawe plamy również pod wpływem lasera typu FLS emitującego wiązkę światła o długości fali 532 nm [10]. Badania prowadzone przez Vandenbergę i wsp. wykazały, że alternatywne źródło światła (Polilight) o długości fali 450 nm z równoczesnym użyciem przez obserwatora filtra pomarańczowego umożliwia detekcję plam nasienia rozcieńczonego wodą w stosunku 1:100 i naniesionego na biały poliestrowy materiał [7]. W naszych badaniach, na podłożu wykonanym z jałowej gazy chirurgicznej, przy analogicznych parametrach obserwacji z wykorzystaniem urządzenia Mini Crime Scope, za możliwe do ujawnienia uznano ślady nasienia rozcieńczonego wodą w stosunku nawet 1:1000. Kobus i wsp. wykazali, że stopień fluorescencji zależy od koloru, faktury i zdolności absorpcji materiału z jakiego wykonane jest podłoże [11]. Efekt fluorescencji zaobserwować można również w czasie użycia ALS w stosunku do plam moczu, smarów, kosmetyków i atramentu, co w przypadku typowania materiału biologicznego do dalszych badań identyfikacyjnych może wymagać zastosowania dodatkowych testów swoistych potwierdzających obecność nasienia w badanym śladzie [2]. Sensabaugh i wsp. wskazali na możliwość wykorzystania antygenu specyficznego dla gruczolę krokowego (PSA) jako markera do identyfikacji nasienia na dowodach rzeczowych pochodzących z miejsc przestępstw na tle seksualnym [12]. W ostatnich latach potwierdziły to badania Gorzkiewicz i wsp. [13].

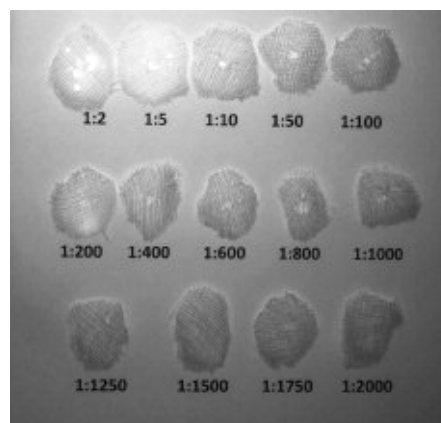
Przedstawiona w pracy metoda wizualizacji optycznej śladów nasienia charakteryzuje się wysoką czułością, stanowi również szybki i stosunkowo tani sposób na wstępne rozpoznanie niewidocznych nieuzbrojonym okiem zaplamień oraz wytypowanie materiału biologicznego do dalszych badań identyfikacyjnych. Badania wykazały, że barwa i struk-

tura podłoża, na którym występują zaplamienia w różnym stopniu wpływają na ich wygląd w świetle dziennym i intensywność fluorescencji. Pomimo zatarcia śladów nasienia, użycie ALS pozwala na zidentyfikowanie zaplamień i zabezpieczenie wartościowego materiału biologicznego.



Ryc. 1. Wizualizacja plam rozcieńzonego nasienia w świetle dziennym.

Fig. 1. Visualization of diluted seminal fluid in the natural light.



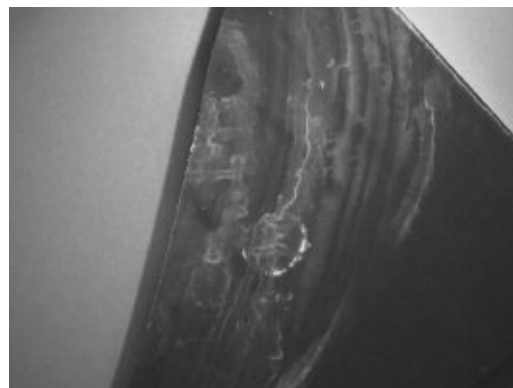
Ryc. 2. Wizualizacja plam rozcieńzonego nasienia na białej chuście chirurgicznej przy wzbudzeniu falą 455 nm i użyciu pomarańczowych gogli.

Fig. 2 Visualization of diluted seminal fluid on white bandage at 455 nm excitation, viewed through orange goggles.



Ryc. 3. Próbkę nasienia naniesiona na jasną płytkę ceramiczną po zmyciu ciepłą wodą (światło dzienne).

Fig. 3. A sample of semen on the white tile following washing in warm water (natural light).



Ryc. 4. Próbkę nasienia naniesiona na jasną płytkę ceramiczną po zmyciu ciepłą wodą przy wzbudzeniu falą 455 nm i użyciu pomarańczowych gogli.

Fig. 4. A sample of semen on the white tile following washing in warm water at 455 nm excitation, viewed through orange goggles.



Ryc. 5. *Próbka nasienia naniesiona na kolorową bawełnianą sukienkę po zapieraniu ciepłą wodą z detergentem (światło dzienne).*

Fig. 5. *A sample of semen on a colorful cotton dress following washing in warm water with detergent (natural light).*



Ryc. 6. *Próbka nasienia naniesiona na kolorową bawełnianą sukienkę po zapieraniu ciepłą wodą z detergentem po wzbudzeniu falą 455 nm i użyciu pomarańczowych gogli.*

Fig. 6. *A sample of semen on a colorful cotton dress following washing in warm water with detergent at 455 nm excitation, viewed through orange goggles*

PIŚMIENICTWO

1. Pawłowski R.: Medyczo-sądowe badanie śladów biologicznych. Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych w Krakowie 1997.

2. Mini Crime Scope 400 -Spex Forensics instruction manual. www.crimescope.com.

3. AmpFI STR SGM Plus PCR Amplification Kit User's Manual, Applied Biosystems.

4. Virkler K., Lednev I. K.: Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Sci. Int.* 2009. 188: 1-17.

5. Alternative Light Sources Analysis. *World of Forensic Science*. www.enotes.com.

6. Stoilovic M.: Detection of semen and bloodstains using the Polilight as a light source. *Forensic Sci. Int.* 1991. 51: 289-296.

7. Vandenberg N., van Oorschot R.: The use of Polilight® in the detection of seminal fluid, saliva, and bloodstains and comparison with conventional chemical-based screening tests. *J. Forensic Sci.* 2006. 51: 361-370.

8. Ray B.: Use of alternate light sources for detection of body fluids. *SWAFS J.* 1992.14: 30-33.

9. Nelson D. G., Santucci K .A.: An alternate light source to detect semen. *Academic Emergency Medicine* 2002. 9: 1045-1048.

10. Seidl S., Hausmann R., Betz P: Comparison of laser and mercury-arc lamp for the detection of body fluids on different substrates. *Int. J. Legal Med.* 2008. 122: 241-244.

11. Kobus H. J., Silenięs E., Scharnberg J.: Improving the effectiveness of fluorescence for the detection of seminal stains on fabrics. *J. Forensic Sci.* 2002. 47: 819-823.

12. Sensabaugh G.: Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J. Forensic Sci.* 1978. 23: 106-115.

13. Gorzkiewicz M., Woźniak M., Grzybowski T.: Identyfikacja nasienia w zaplamieniach krwawych z użyciem alternatywnego źródła światła i przesiewowych testów biochemicznych. *Arch. Med. Sąd. Kryminol.* 2008. LVIII: 182-187.

Patrycja Daca, Marta Mielnik-Sikorska, Jarosław Bednarek, Tomasz Grzybowski

Ocena stopnia wysycenia bazy danych mitochondrialnego DNA dla populacji Polski*

Saturation of the Polish mitochondrial DNA database

Z Zakładu Genetyki Molekularnej i Sądowej
Katedry Medycyny Sądowej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu,
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Kierownik Katedry: dr hab. med. T. Grzybowski, prof. UMK

Celem niniejszej pracy była statystyczna ocena stopnia wysycenia polskiej populacyjnej bazy danych, liczącej 1253 osoby niespokrewnione w linii matczynej, z siedmiu subpopulacji Polski. W ramach oceny przeprowadzono analizę czterech parametrów: zróżnicowania nukleotydowego, haplotypowego oraz liczby miejsc polimorficznych i liczby różnych haplotypów obserwowanych w populacji. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, iż polska populacyjna baza danych mtDNA osiągnęła poziom wysycenia w przypadku tylko dwóch z analizowanych parametrów (zróżnicowania haplotypowego oraz nukleotydowego), natomiast poziom wysycenia dla dwóch pozostałych zmiennych – liczby różnych haplotypów oraz miejsc polimorficznych, podobnie jak w przypadku innych baz profili mtDNA w różnych krajach, nie został osiągnięty. Wskazuje to na potrzebę dalszego poszerzania zasobów omawianej bazy.

The main objective of the study was a statistical evaluation of Polish mitochondrial DNA database, consisting of 1253 maternally unrelated individuals from seven different regions of Poland. Four relevant parameters were examined: haplotype diversity, nucleotide diversity, number of polymorphic positions and number of haplotypes, including HVS I and HVS II mtDNA regions. The results show that while haplotype and nucleotide diversities have already reached saturation level, the number of haplotypes and polymorphic positions rises continuously inside the database. These results indicate a need for a substantial increase in the number of haplotypes in Polish mitochondrial DNA database.

Słowa kluczowe:

mitochondrialny DNA, filogenetyka, zróżnicowanie haplotypowe i nukleotydowe, liczba miejsc polimorficznych, liczba haplotypów, wysycenie bazy danych

Key words:

mitochondrial DNA, phylogenetics, haplotype diversity, nucleotide diversity, number of polymorphic positions, number of haplotypes, database saturation

WSTĘP

Za sprawą dużej liczby cząsteczek w komórce oraz wysokiej odporności na degradację, mitochondrialny DNA (mtDNA) stał się szczególnie użytecznym markerem stosowanym w badaniach śladów biologicznych zawierających zdegradowany materiał genetyczny, a także w identyfikacji ofiar przestępstw lub katastrof [1, 2]. Z punktu widzenia zastosowań polimorfizmu mtDNA dla potrzeb wymiaru sprawiedliwości i organów ścigania, bardzo ważna jest wiarygodna kwalifikacja statystyczna wyników oparta na wykorzystaniu referencyjnych baz haplotypów mtDNA. Niezwykle istotnym czynnikiem jest tutaj wielkość bazy danych – a więc liczba zgromadzonych w niej próbek, ale także reprezentatywność, będąca pochodną wysycenia bazy haplotypami mtDNA obserwowanymi w populacjach [3, 4, 5]. Obserwowana w cząsteczce mtDNA wysoka zmienność sekwencji, spowodowana przede wszystkim wysokim tempem mutacji regionu kontrolnego, ale także działaniem dryfu genetycznego,

* Poszerzona wersja referatu, przedstawionego podczas XV Zjazdu Naukowego PTMSiK, Gdańsk 16-18.09.2010.

prowadzi do powstania bardzo dużej ilości kombinacji haplotypów obserwowanych w obrębie danej populacji, która przekłada się na wysoką heterozygotyczność wewnątrz populacji. W przypadku, gdy baza danych nie reprezentuje pełnego zestawu profili pochodzących z różnych obszarów geograficznych, może dojść do mylnej interpretacji statystycznej wyników. Taka sytuacja ma miejsce np. w przypadku podejrzanego, którego haplotyp jest częsty na obszarze jego zamieszkania, a nie ma odpowiedniej reprezentatywności w bazie profili DNA [5, 6, 7]. Przeprowadzone na przestrzeni kilku lat przez różne zespoły analizy parametrów opisujących stopień wysycenia światowych baz danych, takich jak: liczba haplotypów i ich zróżnicowanie, a także ilość pozycji polimorficznych oraz zróżnicowanie nukleotydowe, jednoznacznie wskazały na brak pełnego zakresu haplotypów mtDNA obserwowanych w bazach danych [6, 7, 8, 9]. W celu oszacowania stopnia wysycenia polskiej populacyjnej bazy profili mitochondrialnego DNA, w ramach niniejszego opracowania przeprowadzono statystyczną analizę wyżej wymienionych parametrów.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły profile regionu kontrolnego mtDNA pochodzące od 1253 osób niespokrewnionych ze sobą w linii żeńskiej, z siedmiu subpopulacji Polski (Kaszub, Podhala, Pomorza i Kujaw, Pomorza Gdańskiego, Suwalszczyzny, Górnego Śląska oraz Kościerzyny) [10, 11, 12]. Statystyczną ocenę stopnia wysycenia polskiej bazy profili mitochondrialnego DNA przeprowadzono na poziomie zmienności sekwencji regionu kontrolnego (HVS I w zakresie sekwencjonowania 15999-16400 p.z. oraz HVS II 30-407 p.z.) w oparciu o serię losowań ze zwracaniem o nominatach: 200, 400, 600, 800, 1000 oraz 1253 z puli całej populacji, zgodnie z metodyką przedstawioną przez Pereira i wsp. [6]. Zastosowanie niezależnych losowań ze zwracaniem nie zmieniało struktury genetycznej analizowanej bazy danych, a tym samym było gwarancją zachowania w pełni losowego charakteru każdej próbki. W celu ekstrapolowania poziomu wysycenia bazy, każdą grupę danych generowano oddzielnie dla regionu HVS I, HVS II oraz łącznie HVS I i HVS II, a następnie badano pod kątem zróżnicowania szeregu parametrów: liczby haplotypów i zróżnicowania

haplotypowego, ilości pozycji polimorficznych oraz zróżnicowania nukleotydowego. Wartości wymienionych parametrów wyznaczano dla każdej próbki z wykorzystaniem programu *Arlequin v.3.1* [13], a uzyskane dane zobrazowano za pomocą wykresów opracowanych w pakiecie Excel (Microsoft).

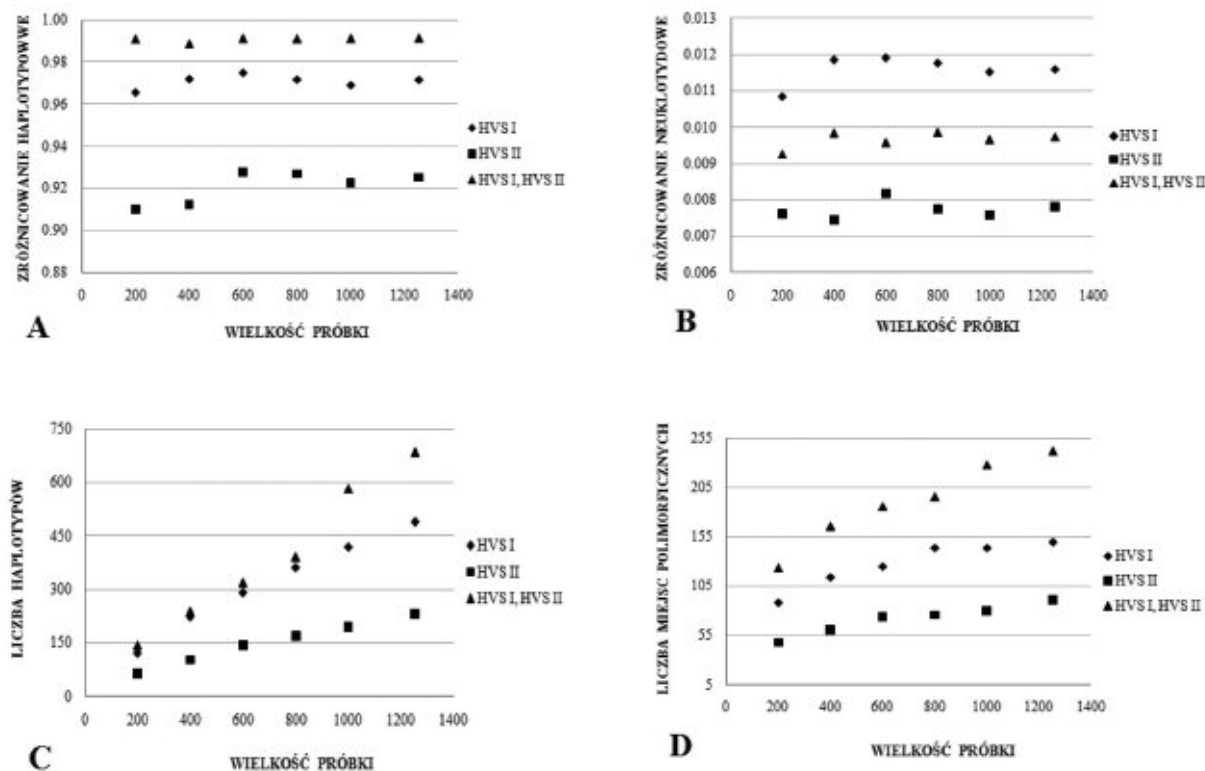
WYNIKI I DYSKUSJA

Rycina 1 przedstawia wykresy obrazujące zależność pomiędzy wielkością polskiej populacyjnej bazy danych (uzyskaną w wyniku serii losowań ze zwracaniem), a wartościami poszczególnych analizowanych parametrów (liczby haplotypów i zróżnicowania haplotypowego, ilości pozycji polimorficznych oraz zróżnicowania nukleotydowego) wyznaczonych dla regionów HVS I i HVS II oddzielnie oraz łącznie.

W przypadku zróżnicowania haplotypowego (ryc.1A) oraz nukleotydowego (ryc.1B) na poziomie zmienności regionu HVS I oraz HVS II mtDNA rozpatrywanych oddzielnie widoczne jest, że wraz ze wzrostem wielkości populacyjnej bazy danych rośnie również wartość obu parametrów, by przy liczności równej 600 osiągnąć poziom wysycenia (*plateau*).

Z kolei gdy rozważany jest parametr zróżnicowania haplotypowego (ryc. 1A) na poziomie obu fragmentów regionu kontrolnego (HVS I oraz HVS II łącznie), widoczne jest niewielkie wahanie omawianego parametru w granicach 0.989-0.993, bez wyraźnego maksimum. Podobną tendencję zanotowano również w przypadku zróżnicowania nukleotydowego (ryc. 1B), z tą różnicą, że niezależnie od tzw. liczności próbkowania, parametr ten osiąga bardzo niewielkie i zbliżone do siebie wartości z przedziału pomiędzy 0.0093 a 0.0099. Nie przekracza tym samym wartości wyznaczonych dla regionu HVS I, zajmując na wykresie obszar pomiędzy regionem HVS I oraz HVS II.

Wykresy ilustrujące liczbę różnych haplotypów obserwowanych w polskiej populacyjnej bazie danych (ryc. 1C) oraz miejsc polimorficznych (ryc. 1D) odnotowanych w obrębie poszczególnych grup losowych (200, 400, 600, 800, 1000 oraz całej bazy) mają bardzo podobny przebieg i wyraźnie wskazują na jednostajny wzrost omawianych parametrów wraz z licznością bazy. W przypadku obu



Ryc. 1. Wykresy zależności pomiędzy wielkością polskiej populacyjnej bazy danych, a wartościami analizowanych parametrów: A- zróżnicowania haplotypowego, B- zróżnicowania nukleotydowego, C- liczbą haplotypów, D- ilością pozycji polimorficznych wyznaczonych dla regionu HVS I oraz HVS II oddzielnie oraz łącznie.

Fig. 1. Correlations between sample size and A: - haplotype diversity, B- nucleotide diversity, C- number of haplotypes, D- number of polymorphic positions, for mtDNA HVS I and HVS II separately and for both regions (HVS I and HVS II).

parametrów nie obserwuje się fazy *plateau*, a ilość różnych haplotypów oraz obserwowanych w populacji miejsc polimorficznych osiąga najwyższe wartości, gdy brany jest pod uwagę cały region kontrolny mtDNA (HVS I oraz HVS II łącznie).

Z przedstawionych powyżej wykresów wynika, że o ile dwa z analizowanych parametrów, a więc zróżnicowanie haplotypowe oraz nukleotydowe, osiągają poziom wysycenia już przy liczebności próbki równej 600 (wartość ta odnosi się do wszystkich analizowanych fragmentów mitochondrialnego DNA), to w przypadku dwóch pozostałych zmiennych, a więc liczby różnych haplotypów obserwowanych w populacji oraz miejsc polimorficznych, poziom *plateau* nie zostaje osiągnięty w żadnej z grup losowych.

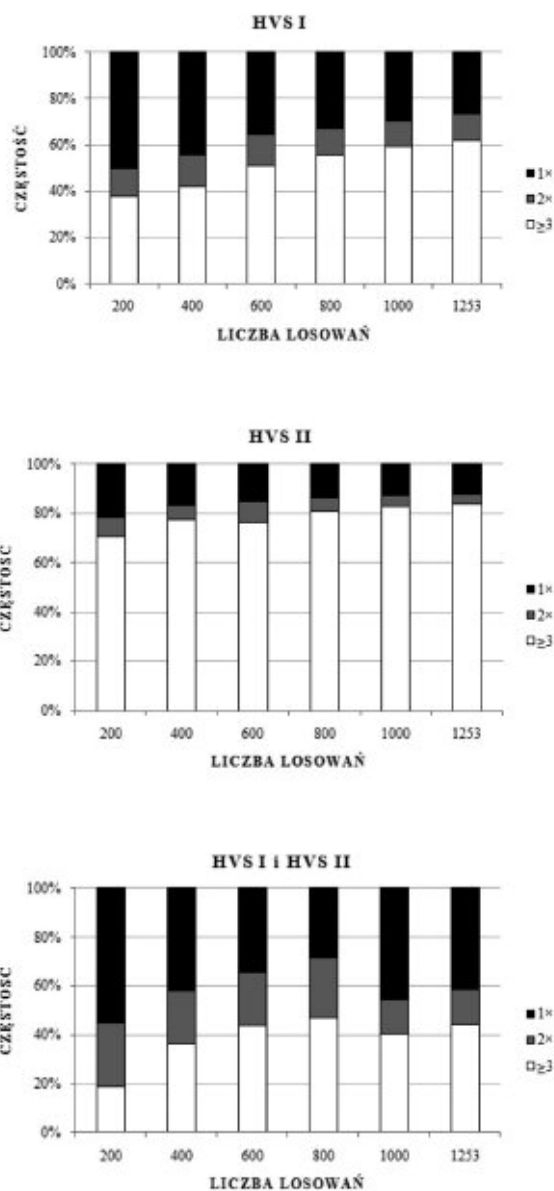
Podobne analizy stopnia wysycenia populacyjnych baz danych przeprowadzone wcześniej dla portugalskiej bazy danych liczącej 549 osób oraz dla społeczności niemieckiej ($n = 1200$ osób) wskazały na podobną tendencję [6, 9]. Analizując na poziomie HVS I zróżnicowanie nukleotydowe oraz liczbę różnych haplotypów pojawiających się w bazie, Pfeiffer i wsp. (2001) odnotowali, iż podobnie jak to miało miejsce w polskiej bazie danych, liczba haplotypów rosta w sposób liniowy wraz ze wzrostem liczby próbek nie osiągając poziomu *plateau* [9]. Natomiast wysycenie parametru zróżnicowania nukleotydowego (do poziomu 0.981) nastąpiło nieco wcześniej, bo przy liczebności próbki równej 400. Z kolei w portugalskiej

bazie danych poziom wysycenia omawianego parametru został osiągnięty już przy wartości 300 osób [6]. Odnotowane rozbieżności pomiędzy poszczególnymi bazami danych mtDNA wynikają prawdopodobnie z różnego zakresu sekwencjonowania regionu HVS I, który w przypadku portugalskiej oraz niemieckiej bazy danych był identyczny (16024-16365 p.z.), a jednocześnie nieco węższy niż ten, na podstawie którego analizowano polską bazę danych (w polskiej bazie wynosił on 15999-16400 p.z.). Warto zwrócić uwagę, że we fragmencie sekwencji HVS I analizowanym w niniejszej bazie danych, a nie objętym badaniami cytowanych autorów [6, 9] znajdują się pozycje o bardzo szybkim i szybkim tempie ewolucji (16390, 16399, 16368, 16366, 16391). Ponieważ mutacje w tych „gorących miejscach” obserwuje się w haplotypach należących do różnych haplogrup mtDNA [14], ich obecność wpływa na ogólne podwyższenie wartości parametru zróżnicowania nukleotydowego w próbkę polskiej na tle baz danych z populacji niemieckiej i portugalskiej [6, 9]. Szybsze wysycenie portugalskiej bazy danych może być także wynikiem zaobserwowanego przez zespół Pereiry i wsp. [6] niższego poziomu różnorodności mtDNA populacji portugalskiej w stosunku do Europejczyków z centralnej części kontynentu.

Z kolei odnotowane różnice w stopniu wysycenia parametru zróżnicowania haplotypowego oraz brak wysycenia w odniesieniu do liczby różnych haplotypów obserwowanych w populacji, są ściśle związane z reprezentatywnością w bazie danych tzw. haplotypów unikalnych, tj. takich, które pojawiają się w jej zasobach z niską częstością, równą 1 bądź 2.

W celu określenia rozkładu częstości haplotypów obserwowanych w polskiej populacyjnej bazie danych, w tych samych grupach losowych (tj. 200, 400, 600, 800, 1000 oraz 1253), co omówione wcześniej parametry, wyznaczono procentowy udział haplotypów unikalnych oraz takich, które pojawiają się w populacji ze stosunkowo wysoką częstością (ryc.2). Podczas analiz, podobnie jak to miało miejsce wcześniej, rozpatrywano oddzielnie region HVS I, HVS II oraz oba regiony mitochondrialnego DNA łącznie. Uzyskane dane przedstawione zostały na ryc. 2

W omawianej bazie, w regionie HVS I początkowa przewaga rzadkich haplotypów, których częstość sięgała 50% systematycznie spadała, by



Ryc. 2. Procentowy udział haplotypów obserwowanych w polskiej bazie populacyjnej dla regionu HVS I; HVS II oraz HVS I i HVS II: jednokrotnie (1X); dwukrotnie (2X) oraz trzykrotnie i więcej (3).

Fig. 2. Percentage of haplotypes found once (1X), twice (2X) and equal to or more than three times (3) for mtDNA regions HVS I, HVS II and entire control region (HVS I and HVS II) in samples of different sizes.

w całej populacji liczącej 1253 osoby osiągnąć wartość 27%. W regionie HVS II udział haplotypów częstych i unikalnych jest przeciwstawny do tego, jaki odnotowano dla regionu HVS I. Najwyższy udział w polskiej bazie danych osiągają haplotypy notowane z częstością równą lub wyższą niż 3 (71-84%), najniższy zaś sekwencje rzadkie (22-12%). Należy przy tym zauważyć, iż proporcje haplotypów odnotowywanych w populacji z wysoką częstością, jak i tych rzadkich, pozostają praktycznie na stałym poziomie, niezależnie od ilości analizowanych danych. Z kolei biorąc pod uwagę oba fragmenty regionu kontrolnego (HVS I i HVS II), zauważalny był początkowy niewielki spadek ilości rzadkich haplotypów (przy licznosci 600 oraz 800), który zapewne przypisać można specyfice losowań, natomiast w kolejnych dwóch grupach losowych podnosił się on do poziomu przeszło 40%, przez co w całej bazie populacyjnej obserwuje się równy udział haplotypów unikalnych i tych notowanych ze stosunkowo wysoką częstością.

Praktycznie identyczny rozkład sekwencji notowanych z wysoką częstością (równą bądź większą niż 3) i unikalnych odnotowany został w portugalskiej bazie danych [6]. Także i w tym przypadku znakomitą większość spośród sekwencji regionu kontrolnego stanowią haplotypy rzadkie, których poziom w przypadku całej bazy liczącej 549 próbek wynosił aż 50%. Utrzymywanie w populacji tak wysokiego poziomu unikalnych haplotypów, i co się z tym wiąże, również dużego zróżnicowania nukleotydowego, zostało zauważone wcześniej, m.in. przez Pfeiffer i wsp. (1999) [15]. Podczas analizy zróżnicowania haplotypowego mtDNA lokalnej społeczności niemieckiej liczba różnych haplotypów, obserwowanych w populacji liczącej 700 osób, utrzymywała się na wysokim poziomie [15]. Taki stan miał miejsce pomimo istnienia wysokiego prawdopodobieństwa natrafienia na spokrewnione ze sobą linie mitochondrialnego DNA. Zjawisko niedoszacowania rzeczywistej różnorodności genetycznej istniejącej na poziomie populacji przypisywane jest niekiedy błędowi tzw. próbkowania (ang. *sampling bias*), a więc zgromadzenia w bazie danych niedostatecznej liczby haplotypów mtDNA lub ich niedostatecznej reprezentatywności, np. na skutek istnienia wyraźnej struktury (rozwarstwienia) w populacji.

Dotychczas przeprowadzone analizy europejskich baz danych, m.in. portugalskiej czy niemiec-

kiej, oparte na równaniu Michaelisa-Mentena, dają przybliżone wyobrażenie co do poziomu wysycenia bazy wszystkimi możliwymi haplotypami mtDNA. Symulacje zespołu Pereiry i wsp. (2004) wskazują, iż poziom wysycenia portugalskiej bazy profili mtDNA dla regionu HVS I z wysokim prawdopodobieństwem zostanie osiągnięty przy wielkości bazy równej 1000 próbek (przy liczbie różnych haplotypów $n=370$) [6]. Dla regionu HVS II zostanie osiągnięty nieco wcześniej, bo przy licznosci równej 900 ($n=169$ haplotypów), a dla całego regionu kontrolnego przy wielkości populacji równej 1300 próbek reprezentowanych przez 638 różnych haplotypów [6]. Z kolei analizy niemieckiej bazy danych, przeprowadzone przez Helgasona i wsp. (2000), wskazują, że poziom wysycenia nastąpi dopiero przy liczebności 1700 osób [8]. Wydaje się, że odnotowane różnice między bazami są pochodną wspomnianego wcześniej nieznacznego rozwarstwienia (struktury) populacji europejskiej, tj. niewielkimi różnicami w poziomie różnorodności mtDNA pomiędzy południową oraz centralną i północną częścią kontynentu, obserwowanymi w niezależnych badaniach sekwencji regionu kontrolnego [11, 16].

Wyniki badań, uzyskane przez zespół naukowców skupionych w Projekcie Genograficznym, wydają się przeczyć przedstawionym powyżej optymistycznym przewidywaniom na temat osiągnięcia poziomu wysycenia baz danych [7]. W ramach wspomnianego projektu przebadano bowiem 78 590 próbek, pochodzących ze światowych populacji zamieszkujących m.in. kontynent euroazjatycki i afrykański, m.in. pod względem zróżnicowania regionu HVS I mtDNA (zakres sekwencjonowania wynosił 16024-16569 p.z.). O ile na poziomie liczby miejsc polimorficznych baza jest bliska poziomowi wysycenia, to liczba haplotypów, na którą bezpośredni wpływ mają m.in. mutacje zachodzące w mitochondrialnym DNA, jak i zjawisko homoplazji, nie osiągnęła fazy *plateau* [7]. Wydaje się jednak, że rozpatrywana całościowo baza mtDNA Projektu Genograficznego w obecnym kształcie nie może być wiarygodnym punktem odniesienia dla analiz wysycenia światowych baz danych. W swojej publicznie dostępnej części baza ta nie zawiera bowiem informacji na temat pochodzenia etnicznego badanych osób. Nie ulega zatem żadnej wątpliwości, że analiza wysycenia

bazy danych Projektu Genograficznego nie będzie uwzględniała rozwarstwienia populacji, istniejącego ponad wszelką wątpliwość zarówno w skali międzykontynentalnej, jak i w różnym stopniu w obrębie danego kontynentu.

PODSUMOWANIE

Z przedstawionych powyżej analiz wynika, iż polska populacyjna baza profili mitochondrialnego DNA, podobnie jak inne omawiane bazy o zasięgu europejskim lub światowym, nie osiągnęła jeszcze poziomu wysycenia wszystkimi możliwymi haplotypami mtDNA. Baza ta w obecnym kształcie może być wykorzystywana dla celów genetyczno-sądowych, jednakże przy zachowaniu ostrożności w szacowaniu częstości rzadkich i unikalnych haplotypów. Zgodnie z wytycznymi obowiązującymi w międzynarodowym środowisku genetyków sądowych, dla oceny częstości rzadkich haplotypów w populacji należałoby tutaj stosować przedział ufności 95%, z wykorzystaniem logarytmu naturalnego częstości, przybliżenia normalnego do rozkładu dwumianowego oraz antylogarytmu [3, 17]. W ocenie częstości haplotypów można również stosować połączone bazy danych dla różnych grup etnicznych Europy środkowej, wykazano bowiem, że populacja tej części Starego Kontynentu nie nosi widocznych cech rozwarstwienia na poziomie regionu kontrolnego mtDNA [11].

Z rozważań na ten temat wyłania się zatem cel i kierunek działań laboratoriów o profilu genetyczno-sądowym. Poza głównym celem, jakim jest ciągłe wzbogacanie baz danych nowymi zestawami haplotypów pochodzącymi z mało poznanych (lub w ogóle nie poznanych) populacji, istnieje konieczność ustawicznego podnoszenia jakości danych. Jednym z ważnych narzędzi realizacji tego zamierzenia jest weryfikacja wprowadzanych informacji pod względem ich spójności z wiedzą filogenetyczną. Wykorzystanie bazy haplotypów mtDNA

w procedurach sądowych to tylko jeden z obszarów aplikacji. Bazy danych wykorzystywane są również w badaniach populacyjnych, demograficznych, antropologicznych, medycznych itd. Bez względu na charakter badań polimorfizmu mtDNA, właściwa filogenetyczna interpretacja uzyskiwanych wyników w dużej mierze zależy od szeroko pojętej jakości oraz zasobności baz, która stosunkowo szybko rośnie. Niestety nadal zauważalnym problemem pozostaje jakość informacji publikowanych w bazach danych. Ma to związek nie tylko ze stosowanym warsztatem analitycznym, ale także ze stopniem wykorzystania wiedzy filogenetycznej. Nie wszystkie zespoły badawcze dysponują jednakowo efektywnymi technologiami analiz polimorfizmu DNA, a możliwości prowadzenia badań filogenetycznych na najwyższym poziomie rozdzielczości (tj. poprzez sekwencjonowanie pełnych genomów mitochondrialnych) ujawniły się dopiero w ostatnich latach. W środowisku genetyków sądowych zaangażowanych w prowadzenie, rozbudowę oraz weryfikowanie prawidłowości danych kierowanych do bazy mtDNA, podejmowane są wysiłki zmierzające do podniesienia jakości informacji, chociażby poprzez weryfikację ich rzetelności przez zastosowanie odpowiednich narzędzi filogenetycznych [2]. Wydaje się, że najbardziej zaawansowaną pod tym względem pozostaje populacyjna baza danych regionu kontrolnego mtDNA EMPOP [18]. Perspektywnym kierunkiem rozwoju bazy EMPOP byłoby także zrealizowanie zamierzenia włączenia do jej zasobów danych dotyczących polimorfizmów jednonukleotydowych regionu kodującego (SNP). Z przeglądu najnowszego światowego piśmiennictwa wynika, że informacje z tego zakresu mogą znacząco podnieść poziom rozdzielczości filogenezy mitochondrialnego DNA. Ma to duże znaczenie zwłaszcza w przypadku badań zróżnicowania sekwencji mtDNA stosunkowo słabo rozpoznanych populacji zachodniej i wschodniej Eurazji.

PIŚMIENNICTWO

1. Parson W., Brandstätter A., Alonso A., Brandt N., Brinkmann B., Carracedo A., Corach D., Froment O., Furac I., Grzybowski T., Hedberg K., Keyser-Tracqui C., Kupiec T., Lutz-Bonengel S., Mevag B., Płoski

R., Schmitter H., Schneider P., Syndercombe-Court D., Sorensen E., Thew: The EDNAP mitochondrial DNA population database (EMPOP) collaborative exercises: organisation, results and perspectives. *Forensic Sci Int*, 2004: 139(2-3): 215-226.

2. Parson W. i Bandelt H. J.: Extended guidelines for mtDNA typing of population data in forensic science. *Forensic Sci Int Genet*, 2007: 1(1): 13-19.
3. Holland M. M. i Parsons T. J.: Mitochondrial DNA sequence analysis – validation and use for forensic casework. *Forensic Sci Rev*, 1999: 11,21.
4. Grzybowski T., Malyarchuk B. A., Bednarek J., Woźniak M., Papuga M., Stopińska K., Łuczak S.: Phylogeographic approach in the interpretation of mitochondrial DNA sequencing results in forensics. *Arch Med Sądowej Kryminol*, 2006: 56(3): 191-197.
5. Salas A., Bandelt H. J., Macaulay V., Richards M. B.: Phylogeographic investigations: the role of trees in forensic genetics. *Forensic Sci Int*, 2007: 168(1): 1-13.
6. Pereira L., Cunha C., Amorim A.: Predicting sampling saturation of mtDNA haplotypes: an application to an enlarged Portuguese database. *Int J Legal Med*, 2004: 118(3): 132-136.
7. Behar D. M., Rosset S., Blue-Smith J., Balanovsky O., Tzur S., Comas D., Mitchell R. J., Quintana-Murci L., Tyler-Smith C., Wells R. S.: The Genographic Project public participation mitochondrial DNA database. *PLoS Genet*, 2007: 3(6): e104.
8. Helgason A., Sigurðardóttir S., Gulcher J. R., Stefansson K., Ward R. (2000) Sampling saturation and the European mtDNA pool: implications for detecting genetic relationships among populations. W: Renfrew C., Boyle K. (ed.) *Archeogenetics: DNA and the population prehistory of Europe*. McDonald Institute for Archeological Research, University of Cambridge, Cambridge, 285-294.
9. Pfeiffer H., Forster P., Ortmann C., Brinkmann B.: The results of an mtDNA study of 1200 inhabitants of a German village in comparison to other Caucasian databases and its relevance for forensic casework. *Int J Legal Med*, 2001: 114: 169–172.
10. Malyarchuk B. A., Grzybowski T., Derenko M. V., Czarny J., Woźniak M., Miścicka-Śliwka D.: Mitochondrial DNA variability in Poles and Russians. *Ann Hum Genet*, 2002: 66(Pt 4): 261-283.
11. Grzybowski T., Malyarchuk B. A., Derenko M. V., Perkova M. A., Bednarek J., Woźniak M.: Complex interactions of the Eastern and Western Slavic populations with other European groups as revealed by mitochondrial DNA analysis. *Forensic Sci Int Genet*, 2007: 1(2): 141-147.
12. Dąca P.: Filogeneza mitochondrialnego DNA w subpopulacjach Polski: aspekty etnogenetyczne i identyfikacyjne. Rozprawa doktorska. Bydgoszcz 2010.
13. Excoffier L., Laval G., Schneider S.. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online*, 2005: 1: 47-50.
14. Soares P., Ermini L., Thomson N., Mormina M., Rito T., Röhl A., Salas A., Oppenheimer S., Macaulay V., Richards M. B.: Correcting for purifying selection: an improved human mitochondrial molecular clock. *Am J Hum Genet* 2009: 84(6): 740-759.
15. Pfeiffer H., Brinkmann B., Hühne J., Rolf B., Morris A. A., Steighner R., Holland M. M., Forster P.: Expanding the forensic German mitochondrial DNA control region database: genetic diversity as a function of sample size and microgeography. *Int J Legal Med*, 1999: 112.
16. McEvoy B., Richards M., Forster P., Bradley D. G.: The Longue Duree of genetic ancestry: multiple genetic marker systems and Celtic origins on the Atlantic facade of Europe. *Am J Hum Genet* 2004: 75(4): 693-702.
17. National Research Council: *The Evaluation of Forensic DNA Evidence*. National Academy Press, Washington D.C. 1996.
18. www.empop.org

Adres do korespondencji:

Dr hab. Tomasz Grzybowski, prof. UMK
Katedra Medycyny Sądowej, Zakład Genetyki Molekularnej i Sądowej
Collegium Medicum UMK
ul. M. Curie-Skłodowskiej 9
85-094 Bydgoszcz
Tel: +48 52 585 3556
e-mail: tgrzyb@cm.umk.pl

Anna Bury, Ewa Meissner, Agnieszka P. Jurczyk, Stefan Szram¹, Jarosław Berent

Przypadki zapalenia mięśnia sercowego i ich wpływ na mechanizm zgonu

Cases of myocarditis and their effect on the mechanism of death

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UM w Łodzi
kierownik: prof. dr hab. n. med. J. Berent

¹ Z Zakładu Orzecznictwa Sądowo-Lekarskiego i Ubezpieczeniowego
Katedry Medycyny Sądowej UM w Łodzi
kierownik: prof. dr hab. n. med. S. Szram

W niniejszej pracy przedstawiono dwa przypadki osób zmarłych, u których w badaniach pośmiertnych stwierdzono śródmiąższowe zapalenie mięśnia serca. Pokazują one, że uzupełnienie badania sekcyjnego badaniem histopatologicznym nawet przy, wydawałoby się, oczywistej i jasnej przyczynie zgonu jest niezwykle ważne i może wnieść istotne informacje do sprawy, w tym i co do okoliczności zgonu. Jako pierwszy przypadek omówiliśmy wypadek tramwajowy, w którym zginął motorniczy. Rodzina zmarłego podawała, że od pewnego czasu cierpiał z powodu zaburzeń przytomności, a w radiologicznych badaniach dodatkowych stwierdzono nieprawidłowości szyjnych naczyń krwionośnych. W drugim przypadku kobieta ciężarna została przyjęta do szpitala po zatrzymaniu krążenia i oddechu. Wykonano cięcie cesarskie, ale wydobyty płód był martwy. Zgon kobiety stwierdzono krótko po tym zabiegu operacyjnym.

In this study, we describe two cases with autopsy findings of interstitial myocarditis. They show that supplementing the autopsy with histopathological examination, even when the cause of death is thought to be clear and obvious, is extremely important as it can contribute valuable information to the case, including the circumstances of death. In the first case, we discussed a tram accident in which its driver was killed. The family of the deceased reported that he had been suffering from consciousness disturbances for some time, and additional radiological examinations demonstrated abnormalities in his neck blood vessels. In the second case, a pregnant woman was admitted to

hospital after a cardiac and respiratory arrest. A cesarean section was carried out but the fetus was already dead. The woman was declared dead shortly after the operation.

Słowa kluczowe:

zapalenie mięśnia serca

Key words:

myocarditis

WSTĘP

Termin zapalenie mięśnia serca to przede wszystkim rozpoznanie morfologiczne – jest to naciek zapalny w mięśniu sercowym z towarzyszącą martwicą komórek mięśnia sercowego (miocytolizą). Definicja ta pozwala na odróżnienie rzeczywistego procesu zapalnego od odczynowej reakcji immunologicznej (zapalnej), przebiegającej zwykle bez morfologicznych wykładników uszkodzenia komórek roboczych mięśnia sercowego. Sama obecność nacieku zapalnego w mięśniu sercowym nie wystarcza do rozpoznania zapalenia mięśnia serca, gdyż komórki zapalne mogą pojawiać się w mięśniu sercowym wskutek wielu jego chorób, np. ostrego lub przewlekłego niedokrwienia [1, 2, 3]. Czynniki odpowiedzialne za powstanie reakcji zapalnej w mięśniu sercowym dzieli się na dwie grupy: infekcyjne i nieinfekcyjne. Według danych patomorfologicznych postać infekcyjna zapalenia występuje z częstością 1-9%, przy czym około 10% przechodzi w postać utajoną lub przewlekłą, prowadząc po latach do powstania kardiomiopatii rozstrzeniowej. Do najczęstszych przyczyn infekcyjnych należą: wirusy

(Coxsackie A i B, grypy typu A i B, CMV, HIV-1, HAV i HCV, ECHO, EBV, adenowirusy) [4, 5], bakterie (paciorkowce beta-hemolizujące, maczugowce błonicy, meningokoki, *Borrelia burgdorferi*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, krętki) [6], grzyby (*Candida*, *Actinomyces*) oraz pierwotniaki (*Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii*), pasożyty (glista ludzka, włośnie, bąblowiec) [7]. Wśród przyczyn nieinfekcyjnych wymienić należy: choroby z autoagresji (wole Hashimoto, RZS, miastenia, choroba Takayasu, autoimmunologiczne zapalenie wątroby, choroby zapalne jelit, sarkoidoza, zespół Churg-Straussa, choroba Kawasaki, kolagenozy-SLE, twardzina, zapalenie wielomięśniowe), polekowe (antracykliny, amitryptylina, aminy katecholowe, anatoksyna tężcowa, penicylina, tetracykliny, chloramfenikol, streptomycyna), diuretyki, niektóre leki przeciwdrgawkowe, niektóre NLPZ, sulfonamidy, sole litu, pochodne sulfonilomocznika), a także tlenek węgla, etanol, kokaina, Cu, Pb, Fe, porażenie prądem, jad węży, pajaków i skorpionów, promieniowanie oraz mocznica. Obserwowano także pojedyncze przypadki poszczepienne zapalenia mięśnia sercowego [8].

Przebieg kliniczny schorzenia jest w większości przypadków skąpoobjawowy, z tego powodu jego rzeczywista częstość jest trudna do określenia. Ze względu na objawy kliniczne zapalenia mięśnia serca możemy wyróżnić postać bezobjawową lub skąpoobjawową (ograniczenie wydolności fizycznej, tachykardia), postać arytmiczną, stenokardialną (objawy ostrego zespołu wieńcowego) [9], rozstrzeniową (duszność wysiłkowa, tachykardia, zastój obwodowy), zastoinową (objawy niewydolności serca). W zależności od charakterystyki komórkowego nacieku zapalnego wyróżnia się zapalenie limfocytarne, eozynofilowe, olbrzymiokomórkowe, ziarniniakowe. Występuje również klasyfikacja zapalenia na podstawie histochemicznej oceny wycinków mięśnia sercowego podczas dwóch biopsji serca (Dallas) oraz immunohistologiczna (Zabrze).

OPIS PRZYPADKÓW

Przypadek 1.

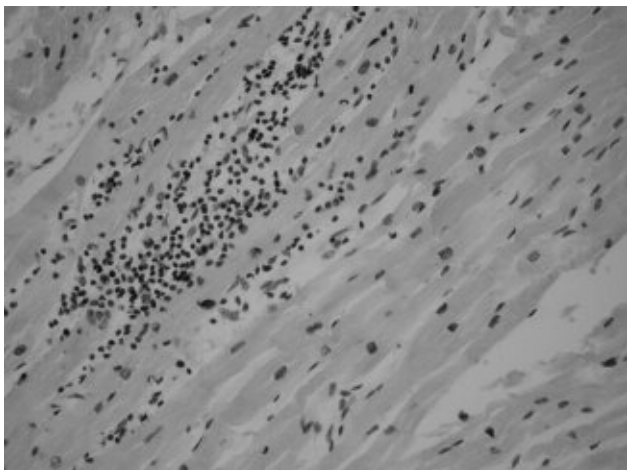
W godzinach porannych, przy dobrych warunkach atmosferycznych, doszło do wypadku komunikacyjnego. Motorniczy tramwaju mającego jechać

prosto nie dokonał zmiany zwrotnicy torów z kierunku skrętu w prawo na kierunek jazdy prosto, wskutek czego tramwaj wypadł z szyn i kontynuując jazdę lewym bokiem pierwszego wagonu uderzył w tył naczepy zespołu pojazdów ciągnika siodłowego marki Man z naczepą, następnie zjechał na południowo-wschodni narożnik skrzyżowania, pierwszym wagonem wjechał na chodnik i przodem uderzył w metalowy stęp trakcyjny MPK znajdujący się na południowo-wschodnim narożniku skrzyżowania. W wyniku tego uderzenia drugi wagon tramwaju uderzył w tył pierwszego wagonu. Śmierć na miejscu poniósł motorniczy, mężczyzna około 20-letni. Wykonane pośmiertnie badania w kierunku zawartości alkoholu oraz środków odurzających, działających podobnie do alkoholu we krwi zmarłego, dały wynik negatywny. Jak podawali niektórzy świadkowie zdarzenia – pasażerowie tramwaju – motorniczy jakiś czas przed wypadkiem miał opuszczoną głowę tak, jakby nie reagował na otoczenie. Natomiast według rodziny zmarłego, od pewnego czasu był on diagnozowany z powodu omdleń o niewyjaśnionej przyczynie i w trakcie badań stwierdzono zwężenie któregoś z naczyń krwionośnych szyjnych (dane bez potwierdzenia stosowną dokumentacją medyczną). Było również wiadomo, że mężczyzna ów od niedługo czasu wykonuje zawód motorniczego.

Sądowo-lekarska sekcja zwłok została wykonana dwa dni po zgonie. W jej trakcie stwierdzono: złamanie kości sklepienia i podstawy czaszki, z rozrwaniami opony twardej i zmiażdżeniem podstawnej powierzchni mózgowia – a w szczególności struktur pnia mózgu, krew w prawej komorze mózgu, wylewy krwawe jąder podstawy mózgu po stronie prawej i prawej półkuli mózdzku, obrzęk mózgu, wybroczyny krwawe podopłucnowe, obrzęk, pylicę węglową oraz masywne stłuczenia płuc, wybroczyny krwawe podwiesiowe, otwarte złamanie pierwszej kości prawego śródstopia ze zwichnięciem w pierwszym stawie śródstopno-paliczkowym prawym, złamanie trzonów paliczek palucha prawego, zwichnięcie stawu śródstopno-paliczkowego lewego, liczne rany cięte i cięto-tłuczone powłok głowy i kończyn, liczne otarcia naskórka powłok twarzy i kończyn oraz tułowia, pojedyncze sińce powłok głowy, prawej kończyny górnej i kończyn dolnych. Sekcyjnie poszerzono preparatykę o naczynia krwionośne szyjne nie stwierdzając zwężeń,

a jedynie niewielkie zmiany miażdżycowe. Również w zakresie serca, jak i dużych naczyń odsercowych oraz tętnic odchodzących od łuku aorty nie ujawniono wad anatomicznych czy zwężeń. Makroskopowo w mięśniu serca nie stwierdzono zmian patologicznych. Wszystkie opisane wyżej obrażenia zewnętrzne i wewnętrzne wykazywały obecność podbiegnięć krwawych w otaczających je tkankach miękkich, co przemawiało za stwierdzeniem, że powstały one zażyciowo. Stwierdziliśmy zatem, że przyczyną zgonu motorniczego były obrażenia wielonarządowe, a w szczególności czaszkowo-mózgowe, które mogły powstać w czasie i okolicznościach wypadku w ruchu lądowym, jaki opisano w postanowieniu prokuratury.

W badaniach mikroskopowych, wykonanych do sekcji zwłok, stwierdzono zmiany chorobowe serca. W preparatach barwionych metodą Nielsena-Sely'ego ujawniono rozproszoną fuksynochłonność włókien mięśniowych. W preparatach barwionych metodami klasycznymi obserwowano rozproszony w podścielisku naciek zapalny zbudowany głównie z komórek jednojądrowych typu limfocyta oraz otłuszczenie serca z wnikaniami (ryc. 1). Być może zmiany ujawnione badaniem mikroskopowym przyczyniły się do zaistnienia przedmiotowego wypadku komunikacyjnego poprzez doprowadzenie do zaburzeń świadomości lub utraty przytomności motorniczego wskutek nieprawidłowej pracy serca.



Ryc. 1. Zapalenie mięśnia serca. Powiększenie 150 x.

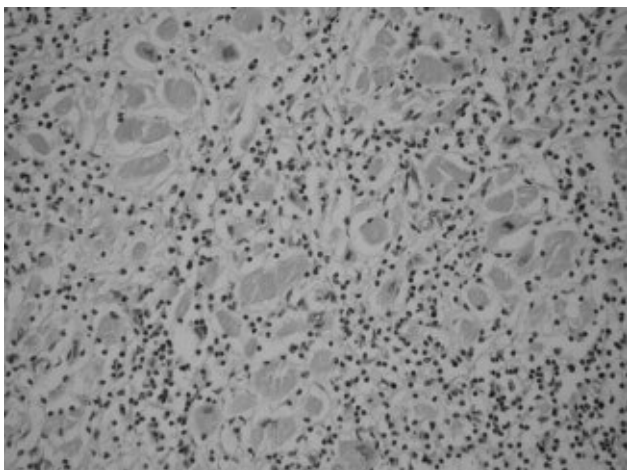
Fig. 1. Myocarditis. Magnification 150 x.

Przypadek 2.

27-letnia ciężarna została przywieziona do oddziału ratunkowego w trakcie prowadzenia czynności resuscytacyjnych przez zespół pogotowia ratunkowego. Według relacji lekarza pogotowia ratunkowego pacjentka została znaleziona przez narzeczonego w mieszkaniu, nie oddychała. Mężczyzna prowadził czynności resuscytacyjne przez około 15 minut do momentu przyjazdu zespołu R. Zespół pogotowia ratunkowego stwierdził nagłe zatrzymanie krążenia, aparaturowo obserwowano asystolię. Chorą zaintubowano, podłączono do respiratora transportowego, prowadzono masaż pośredni serca, podawano leki. Zespół pogotowia ratunkowego przekazał do szpitala informację, że pacjentka jest w ósmym miesiącu ciąży; wcześniej kobieta nie chorowała, ciąża przebiegała bez powikłań. W oddziale szpitalnym, po informacji od dyspozytora pogotowia, na pacjentkę oczekiwał zespół złożony z lekarzy ratunkowych, anesteziologów, ginekologów, pediatry neonatologa, pielęgniarki i instrumentariuszki. Kontynuowano czynności resuscytacyjne. Zastosowano wentylację zastępczą z respiratora. Dosercowo podawano leki. Pacjentkę przetransportowano na salę zabiegową, gdzie w trakcie resuscytacji zespół ginekologiczny wykonał zabieg cięcia cesarskiego. Wydobyto martwy płód płci męskiej, który został uznany przez neonatologa i anesteziologa dziecięcego za niezdolny do życia – ocena wieku płodu według ginekologa – 20-25 tydzień ciąży (masa płodu 550 g). Przez cały czas resuscytacji u kobiety utrzymywała się asystolia bez jakiegokolwiek reakcji na zastosowane leczenie. Po zakończeniu zabiegu cięcia cesarskiego, pomimo kontynuowania czynności ratowniczych, wobec utrzymującej się asystolii, sztywnych źrenic i sinicy obwodowej i centralnej oraz wyczerpania możliwości terapeutycznych, uznano pacjentkę za zmarłą.

Sekcji zwłok poddano jedynie zmarłą kobietę; stwierdzono: stan po wykonanym cięciu cesarskim i wydobyciu martwego płodu płci męskiej, makroskopowe zmiany mięśnia sercowego – mięsień serca spoisty, na przekrojach niejednolicie zabarwiony, barwy szaro-różowej, z licznymi rozszanymi jaśniejszymi ogniskami, płyn przesiąkowy w jamach opłucnowych, obrzęk płuc, dużą ilość treści wymiotnej w drogach oddechowych, nieliczne wybroczyny krwawe w obrębie spojówek powiekowych

i gałkowych, drobne podbiegnięcie krwawe w powłokach głowy w okolicy skroniowej lewej. Oznaczono we krwi 0,10 promille, a w szklisce 0,02 promille alkoholu etylowego, zatem zmarła była trzeźwa. W badaniu histopatologicznym preparatów mikroskopowych stwierdzono w mięśniu serca zlewające się ogniska aktywnego zapalenia mięśnia z formowaniem pól bliznowacenia i zmniejszeniem masy mięśniowej (ryc. 2). Pozostałe włókna mięśniowe wykazywały oznaki przerostu kompensacyjnego, a w nacieku zapalnym widoczne były głównie komórki jednojądrzaste typu limfocyta. W preparatach mikroskopowych z płuc poza masywnym obrzękiem hemodynamicznym widoczne były cechy rozpoczynającej się autolizy. W oparciu o wynik sekcji zwłok, konsultacji histopatologicznej oraz dane z dokumentacji lekarskiej za wyjściową przyczynę zgonu ciężarnej przyjęto aktywne zapalenie mięśnia sercowego.



Ryc. 2. Zapalenie mięśnia serca i włóknienie.
Powiększenie 150 x.

Fig. 2. Myocarditis and fibrosis.
Magnification 150 x.

DYSKUSJA

W literaturze fachowej przypadki zapalenia mięśnia serca zazwyczaj opisywane są pod kątem nieprawidłowości stwierdzanych badaniami dodatkowymi za życia chorych (badanie ultrasonograficzne serca, badania laboratoryjne). Ujawniają one coraz to nowe czynniki mogące wywoływać ww. schorzenie, jak również mają na celu ułatwie-

nie diagnostyki i postawienie właściwego rozpoznania innym lekarzom leczącym w podobnych sytuacjach klinicznych. Z kolei zgony z powodu zapalenia mięśnia serca budzą zainteresowanie patomorfologów pod kątem zmian mikroskopowych i makroskopowych stwierdzanych w sercu. Rzadko natomiast przedstawiane są przypadki zapalenia mięśnia serca u osób podejrzewanych o zgon gwałtowny. Jedynie czasem medycy sądowi spotykają się z tego typu rozpoznaniem w sytuacji podejrzenia popełnienia błędu medycznego wobec pacjenta zmarłego w szpitalu. Tymczasem zapalenie mięśnia serca jest obserwowane coraz częściej, zwłaszcza na tle wirusowym i u osób młodych, następując po objawach infekcji ze strony górnych dróg oddechowych. Ponadto, jak to ujawniły wyżej opisane przez nas przypadki, rozpoznanie sekcyjne tej jednostki chorobowej może w znaczący sposób wpłynąć na dalszy bieg postępowania karnego. W pierwszym przedstawionym przypadku ujawnione w badaniu histopatologicznym zapalenie mięśnia serca było istotną informacją, gdyż obecność tego procesu mogła przyczynić się do spowodowania wypadku komunikacyjnego przez motorniczego. W drugiej sprawie już makroskopowe badanie serca ujawniało nieprawidłowości, które zostały potwierdzone i scharakteryzowane badaniem histopatologicznym. Prawdopodobnie zapalenie mięśnia serca doprowadziło do zaburzeń przytomności, wymiotów oraz zachłyśnięcia się ciężarnej wymiocinami i zgonu zarówno kobiety, jak i płodu.

WNIOSKI

Wykonujący sądowo-lekarską sekcję zwłok swoją uwagę skupiają zazwyczaj i przede wszystkim na zmianach urazowych, gdyż to ich obecność, charakter i mechanizm powstania są zwykle przedmiotem zainteresowania prokuratury. Jednak, jak to pokazują dwa wyżej opisane przypadki, zmiany chorobowe – nawet dość rzadko spotykane – również są istotne, a niekiedy wręcz kluczowe, dla dalszego postępowania organów wymiaru sprawiedliwości, a niekiedy również innych instytucji. Dlatego konieczne jest uzupełnienie badania sekcyjnego badaniem histopatologicznym licznych wycinków tkankowych pobranych z różnych narządów. Badania te mogą wnieść istotne informacje i wpłynąć na zmianę oceny okoliczności zgonu.

PIŚMIENNICTWO

1. Hryniewiecki T., Drożdż J., Pruszczyk P.: Wielka Interna Kardiologia Tom 3, Medical Tribune Polska, 538-549.
2. Rubin R., Strayer D.: Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine, 5th edition, 2008, Wolters & Kluwer, Lippincott, Williams & Wilkins, 465-467.
3. DiMaio V., DiMaio D.: Forensic pathology, CRC Press Boca Raton London New York Washington, D.C., 2001 rok, 69-70.
4. Bigalke B., Klingel K., May A., Kandolf R., Gawaz M.: Human herpesvirus 6 subtype A-associated myocarditis with 'apical ballooning', Can J Cardiol Vol 23 No 5 April 2007, 393-395.
5. Beschoner W., Baughman K., Turnicky R., Hutchins G., Rowe S., Kavanaugh-McHugh A., Suresch D., Herskowitzll A.: HIV-associated Myocarditis, American Journal of Pathology, Vol. 137, No. 6, December 1990, 1365-1371.
6. Salkade H., Divate S., Deshpande J., Kawishwar V., Chaturvedi R., Kandalkar B., Vaideeswa P.: A study of autopsy findings in 62 cases of leptospirosis in a metropolitan city in India, J. Postgrad Med. 2005 Jul-Sep; 51(3):169-173.
7. Enko K., Tada T., Ohgo K., Nagase S., Nakamura K., Ohta K., Ichiba Sh., Ujike Y., Nawa Y., Maruyama H., Ohe T., Kusano K.: Fulminant Eosinophilic Myocarditis Associated With Visceral Larva Migrans Caused by Toxocara Canis Infection, Circ J 2009; 73: 1344-1348.
8. Boccara F., Benhaiem-Sigaux N., Cohen A.: Acute Myopericarditis After Diphtheria, Tetanus, and Polio Vaccination, Chest 2001 Aug; 120(2): 671-672.
9. Hiramitsu Sh., Morimoto Sh., Kato Sh., Uemura A., Ohtsuki M., Kato Y., Miyagishima K., Mori N., Yoda R., Mori K., Kimura H., Yamamoto N., Hishida H.: Clinical Course of Myocarditis Through the Acute, Fulminant and Fatal Chronic Stages An Autopsy Case, Circ J 2006; 70: 1086-1090.
10. Antoszczyk Ł., Jurczyk A., Markuszewski L., Szram S., Berent J.: Zapalenie mięśnia sercowego w dwóch przypadkach zakażenia wirusem HIV, Arch. Med. Sąd. Krym., 1/2006, 64-66.

Adres do korespondencji:

lek. Anna Bury

ul. Sędziowska 18a

91-304 Łódź

tel. 42 654 45 36

e-mail: anna.bury@umed.lodz.pl

**Magdalena Okłota, Anna Niemcunowicz-Janica, Adam Sackiewicz,
Iwona Ptaszyńska-Sarosiek, Michał Szeremeta**

Zgony w przebiegu asfiksji wywołanej w celu eskalacji doznań seksualnych. Opisy przypadków*

Deaths during asphyxia induced to escalate sexual experience. Case reports

Z Zakładu Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Białymstoku
Kierownik: dr hab. med. A. Niemcunowicz-Janica

Autorzy przedstawiają dwa przypadki zgonów będących wynikiem wprowadzania w stan niedotlenienia jednego z partnerów, celem spotęgowania doznań seksualnych. Pierwszy przypadek dotyczy współżycia heteroseksualnego, gdzie w stan hipoksji 30-letnia kobieta wprowadzana była poprzez dławienie ręką i zamykanie otworów oddechowych. Drugi przypadek dotyczył współżycia homoseksualnego pomiędzy mężczyznami, gdzie ofierze skrupowano ręce i nogi, na szyję założono otwartą pętlę, której końce partner seksualny przytrzymywał i kontrolując stan asfiksji odbywał stosunek analny. Obie ofiary praktykowały zachowania parafilne w przeszłości. Fakt obcowania płciowego w obu przypadkach potwierdzono badaniami genetycznymi, w których uzyskano z odbytu mężczyzny oraz z jamy ustnej i pochwy kobiety materiał genetyczny partnera. Potęgowanie doznań seksualnych poprzez wprowadzanie w stan niedotlenienia układu nerwowego jest niezwykle niebezpieczne i może skutkować zgonem jednego z partnerów, czego dowodem pozostaje powyższe doniesienie.

The authors present two cases of deaths resulting from asphyxia of one of the partners in the act of intercourse to escalate their experience. The first case involved a heterosexual intercourse, in which a 30-year old woman was led to state of hypoxia through choking and closing respiratory orifices. The other case represented a homosexual intercourse between two men, in which the victim's hands and legs were tied. Moreover, the partner put an open knot around the victim's neck and was holding it

controlling the state of asphyxia, while performing an anal intercourse. Both presented victims practiced such paraphilia-associated behaviors in the past. The fact of sexual intercourse was confirmed in both cases by genetic analysis of the man's anus and the woman's oral cavity and vagina. This resulted in finding the genetic material of their partners. Escalating of sexual experience through inducing asphyxia of the nervous system is extremely dangerous and may result in death of one of the sexual partners, what has been proven by the present investigation.

Słowa kluczowe:

asfiksja, zgon, zachowania perwersyjne

Key words:

asphyxia, death, perverse behaviors

WSTĘP

Świadome kontrolowane wprowadzanie w stan asfiksji jednego z partnerów seksualnych w trakcie stosunku płciowego, określane jest asfiksjofilią bądź hipoksyfilią. Niedotlenienie ma na celu stymulowanie i eskalację doznań seksualnych. Jest to jedna z najbardziej niebezpiecznych parafilii z uwagi na duże ryzyko uszkodzenia mózgu w przebiegu hipoksji. Asfiksjofilia cechuje się dużą śmiertelnością na świecie. W Stanach Zjednoczonych na skutek praktyk seksualnych o podłożu asfiktycznym umiera kilkaset osób rocznie [1]. Parafilie z psychiatrycznego punktu widzenia są zaburzeniami psychicznymi o charakterze perwersji. Stanowią one stan erotoseksualnej reaktywności lub zależności od nie-

* Poszerzona wersja plakatu, przedstawionego podczas XV Zjazdu Naukowego PTMSiK, Gdańsk 16-18.09.2010.

akceptowanego, niezwyklego bodźca zmysłowego niezbędnego do uzyskania podniecenia seksualnego i/lub orgazmu. W przypadku asfiksjofilii bodźcem tym jest duszenie partnera bądź samego siebie. Efektem finalnym jest niedotlenienie mózgu i stan określany jako halucynogenopodobny [2, 3]. Hipoksyfilia jest jedną z parafilii niespecyficznych, z uwagi na interesujący charakter pozostaje ona w kręgu zainteresowań medycyny sądowej, psychiatrii, psychologii, seksuologii [4]. Autorzy przedstawiają opisy dwóch przypadków wprowadzania partnera homo- i heteroseksualnego w stan asfiksji celem spotęgowania podniecenia płciowego.

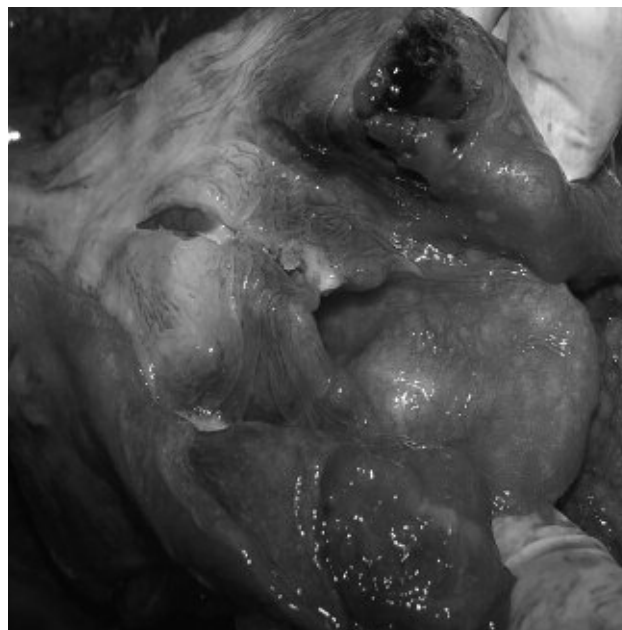
MATERIAŁY I METODY

W pracy wykorzystano materiały dowodowe zgromadzone przez organy ścigania i wymiar sprawiedliwości w aktach sprawy. Ponadto przeprowadzono analizę okoliczności ujawnienia ciał w miejscach zdarzeń. W oględzinach zwłok w miejscu ujawnienia uczestniczyli autorzy pracy. Zwłoki poddano medyczno-sądowej sekcji w Zakładzie Medycyny Sądowej w Białymstoku. W obu przypadkach klasyczne badanie pośmiertne wykonano po anemizacji trzewi szyi, celem uniknięcia artefaktów. Płyny ustrojowe zmarłych poddano analizie toksykologicznej pod kątem oceny stanu alkoholemii i zawartości narkotyków. Z dróg rodnych, odbytu, jamy ustnej, rowka zażołodnego, spod płytek paznokciowych ofiar pobrano wymazy do badań genetycznych.

Przypadek 1.

Zwłoki 30-letniej kobiety, na początku bieżącego roku, ujawniono w wynajętym mieszkaniu nagie. W miejscu zdarzenia znajdował się również młody mężczyzna, z którym spotykała się od kilku miesięcy. Para miała odbywać stosunek płciowy, kiedy kobieta zwróciła się do partnera z prośbą o chwycenie za szyję i zamknięcie ust. Zachowania o takim charakterze partnerzy mieli często praktykować podczas zbliżeń. Stosownie do prośby kobiety, jej partner zaczął dławić ją ręką a następnie zamykać jej otwory oddechowe. W pewnym momencie mężczyzna zauważył, iż jego partnerka zsiniąła i przestała się ruszać. Zaniepokojony rozpoczął masaż serca i sztuczne oddychanie metodą usta-usta. Jednocześnie powiadomił policję i pogotowie. Przybyłe na miejsce służby ratownicze, mimo postępowania

resuscytacyjnego nie przywróciły do życia kobiety. Na miejscu zdarzenia przeprowadzono oględziny ciała kobiety, a następnie zwłoki zostały przewiezione do Zakładu Medycyny Sądowej, celem wykonania pełnego badania pośmiertnego. Podczas oględzin zewnętrznych stwierdzono wybroczyny krwawe w skórze twarzy, klatki piersiowej, skórze owłosionej głowy, w spojówkach gałkowych i powiekowych, gdzie współistniały z wylewami krwawymi. Na wysokości trzonu żuchwy po stronie prawej i w prawej okolicy podżuchwowej zlokalizowane były plackowate podbiegnięcia krwawe, które wskazywały na ucisk opuszek palców napastnika. Na przedniej powierzchni szyi po stronie lewej występowały dwa równoległe do siebie i prostopadłe do osi długiej ciała pasma wybroczyn krwawych, oddalone od siebie o 0,9 cm, które mogły być wynikiem ucisku palców na narządy szyi. Po anemizacji tkanek miękkich szyi, w trakcie warstwowej preparatyki mięśni, stwierdzono wylewy krwawe w mięśniach nadgnykowych i podgnykowych oraz w okolicy przyczepu mostkowego lewego mięśnia mostkowo-obojczykowo-sutkowego. Stwierdzono także uszkodzenie kości gnykowej z wylewem krwawym w okolicznych tkankach miękkich.



Ryc. 1. Złamanie rogu większego kości gnykowej.

Fig. 1. A fracture of the horn of the hyoid bone.

W błonie śluzowej wargi dolnej i przedsionka jamy ustnej na wysokości zębów 33, 43 ujawniono podbiegnięcia krwawe, które komunikowały się z podbiegnięciami w czerwieni wargi dolnej na tej wysokości. Obrażenia powyższe mogły powstać w chwili zamykania otworów oddechowych. Ponadto stwierdzono cechy ostrego rozdęcia płuc z odciskami żeber na powierzchniach bocznych, które potwierdzono badaniami histopatologicznymi. Obraz sekcyjny oraz okoliczności śmierci pokrzywdzonej wskazywały, iż do jej śmierci doprowadziło uduszenie w przebiegu dławienia i zamykania otworów oddechowych. Ofiara pozostawała w stanie po użyciu alkoholu, natomiast sprawca był w stanie nietrzeźwości. W obrębie narządu rodnej kobiety nie stwierdzono zmian urazowych. Przeprowadzone analizy genetyczne wykazały obecność materiału biologicznego napastnika, zarówno w wymazach pobranych z dróg rodnych, jak i z jamy ustnej zmarłej.

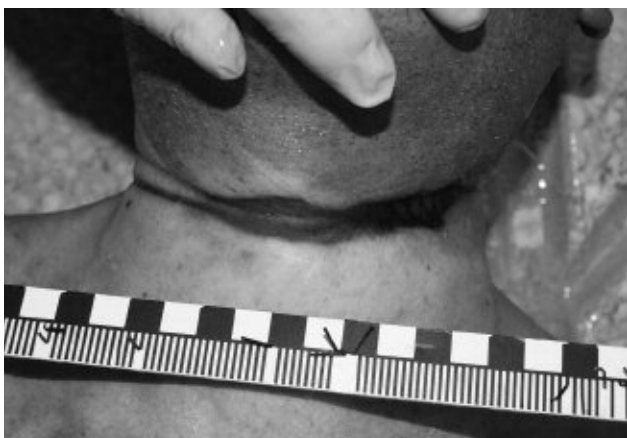
Zabezpieczony podczas śledztwa komputer należący do zmarłej zawierał obszerną korespondencję elektroniczną z mieszkającą w innym kraju przyjaciółką. W listach zawarte były opisy praktykowanych przez pokrzywdzoną zachowań asfiksjo-filnych z ostatnim oraz wcześniejszymi partnerami. W listach wielokrotnie pojawiały się informacje o śladach jakie pozostawały na szyi po chwytaniu dłonią przez partnerów w trakcie stosunków płciowych. Pokrzywdzona dwukrotnie opisała przyjaciółce epizod utraty przytomności podczas dławienia, który zmusił jej partnerów do działań mających na celu przywrócenie świadomości kobiety. Zmarła podnosiła problem terminacji związków z uwagi na jej upodobania asfiksjo-filne, nie do końca akceptowane przez partnerów. Przesłuchana w charakterze świadka adresatka listów zeznała, iż zachowania mające na celu wprowadzanie w stan asfiksji zmarła przejawiała od wielu lat i miała świadomość zagrożenia jakie za sobą niosą. Jednakże zawsze podkreślała, iż bez ich zastosowania nie jest w stanie osiągnąć jakiegokolwiek satysfakcji seksualnej podczas zbliżeń. Mimo licznych próśb przyjaciółki zmarła nigdy nie zgłosiła się po specjalistyczną pomoc seksuologiczną. W zabezpieczonym komputerze ujawniono filmy o treści erotycznej z zachowaniami asfiksjo-filnymi homo- i heteroseksualnymi, a także autoerotycznymi. W komputerze znajdowały się również filmy instruktażowe oraz opisy resuscytacji krążeniowo-oddechowej. W toku

śledztwa przesłuchano w charakterze świadków trzech mężczyzn, którzy byli w przeszłości partnerami seksualnymi zmarłej. Jednoznacznie wskazywali oni na asfiksjo-filne zachowania seksualne pokrzywdzonej, które były powodem rozstań. Jak wynikało z zeznań mężczyzn podczas zbliżeń kobieta wymagała od partnerów dławienia dłońmi, co wywoływało u nich ogromny stres i zniechęcało do kontaktów seksualnych. Przed rozpoczęciem tego typu zachowań wdrażała partnerów pokazując im filmy w internecie i komputerze, jednocześnie pouczała o konieczności zastosowania zabiegów reanimacyjnych w przypadku niepowodzenia. Przesłuchani w trakcie śledztwa członkowie rodziny zmarłej zeznali, iż na szyi pokrzywdzonej kilkakrotnie widzieli zmiany urazowe o charakterze otarć i podbiegnięć krwawych, których pochodzenia nie potrafiła wytłumaczyć w logiczny sposób. Ponadto dość często nosiła bluzki z golfami i apaszki nawet w okresie letnim, co budziło zdziwienie rodziców.

Przypadek 2.

W listopadzie ubiegłego roku, zwłoki 41-letniego mężczyzny ujawnił członek jego rodziny w mieszkaniu. Zmarły zamieszkiwał samotnie, często odwiedzali go młodzi mężczyźni. W dniu poprzedzającym zdarzenie około 21.00 miał być widziany w towarzystwie mężczyzny, w drodze do miejsca zamieszkania. Podczas oględzin w miejscu zdarzenia denat leżał na łóżku, przednią powierzchnią ciała zwrócony w kierunku materaca, był nagi. W sąsiedztwie łóżka znajdowały się dwa sznury koloru białego długości około 2,2 i 2,3 metra oraz żel intymny nawilżający. W oparciu o znamiona śmierci ustalono orientacyjny czas zgonu na 8-10 godzin wstecz. Z materiałów śledztwa wynikało, iż zmarły był homoseksualistą. Miał liczne kontakty płciowe z młodymi mężczyznami i lubił zachowania perwersyjne. Zwłoki zostały przewiezione do Zakładu Medycyny Sądowej w Białymstoku, celem przeprowadzenia badania pośmiertnego. Podczas oględzin zewnętrznych stwierdzono na szyi obecność bruzdy w postaci miodowego, przyschniętego otarcia naskórka o przebiegu poprzecznym nieco poniżej chrząstki tarczowatej. Po stronie prawej na powierzchni przedniej oraz pośrodkowo bruzda miała charakter dwupasmowy. Oba ramiona bruzdy położone były niemalże prostopadle do osi długości ciała i przecho-

dziły na powierzchnię tylną gdzie gubiły się w okolicy potylicznej.



Ryc. 2. *Poprzeczna bruzda na szyi.*
Fig. 2. *A transverse double-strand ligature furrow on the neck of the victim.*

Skóra twarzy i szyi powyżej bruzdy była sino-fioletowa, silnie przekrwiona. Na szyi powyżej bruzdy obecne były liczne wybroczyny krwawe. W skórze powiek, okolicy zausznej lewej, w spojówkach gałkowych i powiekowych obu oczu obecne były mnogie, odcinkowo zlewające się wybroczyny krwawe.



Ryc. 3. *Przekrwienie i wybroczyny krwawe w skórze twarzy i szyi.*
Fig. 3. *Facial and cervical skin above the ligature furrow showing marked congestion and multiple petechiae*

Stwierdzono również zmiany wskazujące na krępowanie kończyn górnych i dolnych w postaci podbiegnięć krwawych i otarć naskórka na nadgarstkach oraz na wysokości stawów skokowych o charakterze okalającym.



Ryc. 4. *Okalające odbiegnięcie krwawe w obrębie przedramienia lewego.*
Fig. 4. *Hemorrhagic effusion around the left forearm.*

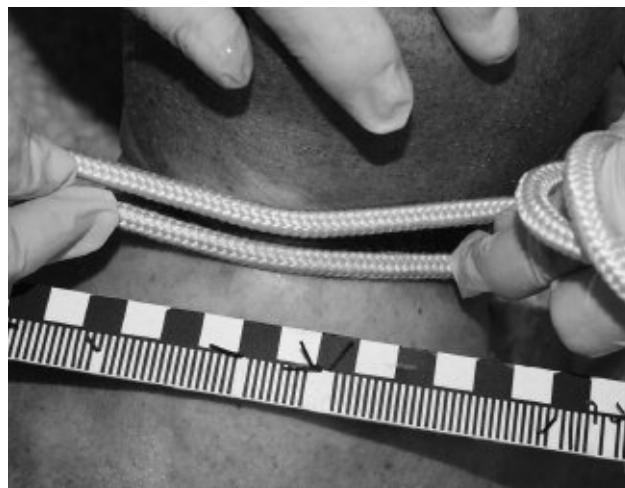
Podczas preparatyki mięśni szyi ujawniono wylewy krwawe w przyczepach mostkowych mięśni mostkowo-obończykowo-sutkowych (mos), w przyczepie obończykowym lewego mos i mięśniach nadgnykowych. Ujawniono ponadto wylew krwawy w przydancie tętnicy szyjnej wspólnej lewej, podbiegnięcia krwawe w mięśniach języka oraz wylewy i wybroczyny krwawe w błonie śluzowej krtani powyżej chrząstki pierścieniowatej.



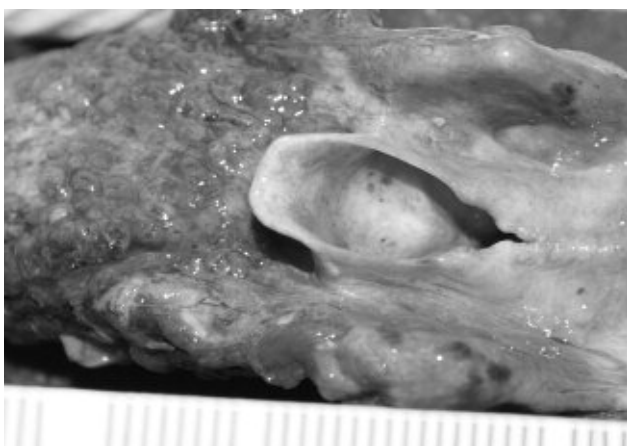
Ryc. 5. *Wylew krwawy w mięśniach języka.*
Fig. 5. *Hemorrhagic effusion in the tongue muscles.*



Ryc. 6. Wylew krwawy w korzeniu języka.
Fig. 6. Hemorrhagic effusion in the root of the tongue.



Ryc. 8. Sznur ujawniony przy zwłokach.
Fig. 8. A rope found near the corpse.



Ryc. 7. Wylewy krwawe w błonie śluzowej języka i krtani.
Fig. 7. Hemorrhagic effusions in the mucosal membrane of the tongue and larynx.

Ofiara nie posiadała zmian urazowych w obrębie pośladków i odbytu. Nie stwierdzono w płynach ustrojowych zmarłego narkotyków ani alkoholu. Badania genetyczne wymazów z odbytu wykazały obecność obcego materiału biologicznego, którego profil był zgodny z DNA sprawcy.

Oględzinom poddano sznury dostarczone wraz ze zmarłym do Zakładu Medycyny Sądowej w Białymstoku. Stwierdzono, iż mogły one służyć do zadzierzgnięcia zmarłego i krępowania jego kończyn.

Badanie pośmiertne wykazało, iż przyczyną śmierci było uduszenie w przebiegu zadzierzgnięcia.

Analiza materiałów śledztwa wykazała, iż ofierze skrupowano ręce i nogi poprzez przywiązanie ich do elementów konstrukcji łóżka. Na szyję założono otwartą pętlę z białego sznura, którego końce partner seksualny przytrzymywał i kontrolował stan asfiksji odbywając jednocześnie stosunek analny.

PODSUMOWANIE

Zachowania parafilne o typie asfiksjofilii (hipoksyfilii) są praktykowane na całym świecie, zarówno przez partnerów homo- jak i heteroseksualnych. Podczas wprowadzania w stan niedotlenienia w obrębie mózgowia uwalniane są liczne związki, m.in: β -endorfina, 5-hydroktryptamina, dopamina, które to powodują spotęgowanie doznań seksualnych w tym orgazmu oraz nasilają uczucie seksualnego spełnienia i stan zbliżony do halucyjancji [5, 6]. Z uwagi na sferę jakiej dotyczy problem wiedza o dewiacjach tego typu pozostaje mało poznana i stanowi pole do dalszych badań i obserwacji [7]. W obu omawianych przypadkach ofiary zginęły w przebiegu uduszenia podczas stosunku płciowego. Oprócz obrażeń wskazujących na zagardlenie i zamykanie otworów oddechowych, nie ujawniono w trakcie badania pośmiertnego innych zmian urazowych wskazujących na walkę bądź obronę. Nie stwierdzono ponadto narkotyków w płynach ustrojowych ani

stężenia alkoholu wskazującego na stan nietrzeźwości zmarłych. W obu omawianych przypadkach ofiary praktykowały zachowania asfiksjoofilne z innymi partnerami. Potęgowanie doznań seksualnych po-

przez wprowadzanie w stan niedotlenienia układu nerwowego jest niezwykle niebezpieczne czego dowodem pozostaje powyższa praca.

PIŚMIENNICTWO

1. Money J. Lehne G. K.: Biomedical and criminal-justice concepts of paraphilia: developing convergence. *Med. Law*.1983, 2, 257-161.

2. Kafka M. P.: The DSM diagnostic criteria for paraphilia not otherwise specified. *Arch Sex Behav*. 2010 39 (2): 373-376

3. Malin M,H, F M. Sale. M,F, Paraphilias: Clinical and Forensic Considerations, 2007, *Psychiatric Times* 2007,24-25

4. Moser C., Kleinplatz P. J. DSM-IV-TR and the

Paraphilias: An argument for removal. *Journal of Psychology and Human Sexuality*, 2005, 17(3/4), 91-109.

5. Lloyd E. L. Points: Hallucinations, hypoxia, and neurotransmitters. *British Medical Journal* 1996, 292. 903-904.

6. Aggrawal A.: *Forensic and Medico-legal Aspects of Sexual Crimes and Unusual Sexual Practices*. Boca Raton: 2009, CRC Press., 369-382.

7. Weiderman M.: Paraphilia and Fetishism. *The Family Journal*. 2003, 11, 3, 315-321

Adres do korespondencji:

Magdalena Okłota

Zakład Medycyny Sądowej

ul. Waszyngtona 13

15-950 Białystok

e-mail: magdalenaokl@o2.pl

Erazm Baran¹

Udział polskich medyków sądowych w badaniach zbrodni katyńskiej*

Contribution of Polish forensic medicine specialists to the studies of war crimes committed in Katyn.

Publikacja stanowi podsumowanie pracy polskich medyków sądowych w badaniach zbrodni katyńskiej

The following report is the summary of the activities of Polish forensic medicine specialists during the exhumation of corpses in Katyn in 1943 and 1995, and also in Kharkiv and Mednoye in 1991. The results of studies conducted based on materials preserved during the exhumation are presented below.

Słowa kluczowe:

historia zbrodni katyńskiej,
ekshumacje masowe,
badania identyfikacyjne

Key words:

history of Katyn war crimes,
mass exhumation, identification studies

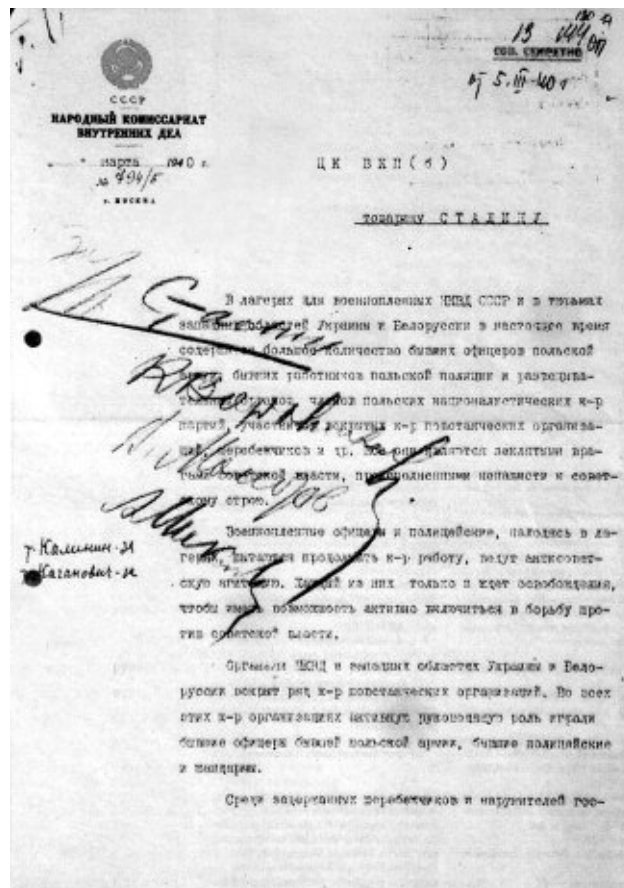
DECYZJA O MORDZIE

5 III 1940 – Notatka Ł. Berii do J. Stalina z propozycją wymordowania:

- 14 700 osób znajdujących się w obozach dla jeńców wojennych, byłych polskich oficerów, urzędników, obszarników, policjantów, oficerów wywiadu, żandarmów, osadników, służby więziennej.

- 11 000 osób członków różnorodnych kontrrewolucyjnych organizacji, byłych obszarników, fabrykantów, byłych polskich oficerów, urzędników, uciekinierów, aresztowanych i znajdujących się w więzieniach w zachodnich obszarach Białorusi i Ukrainy.

Wszyscy oni są zatwardziałymi, nie rokującymi poprawy, wrogami władzy radzieckiej.



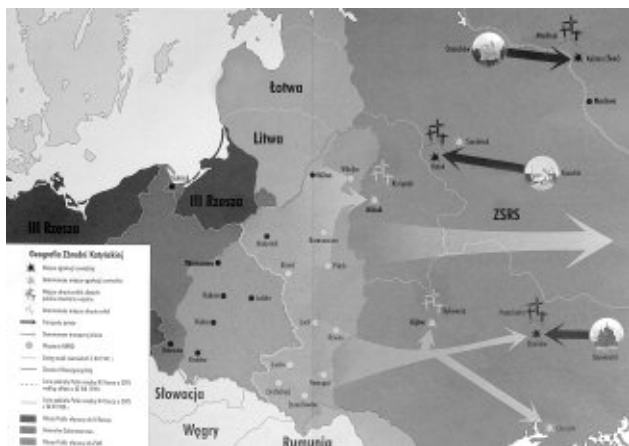
Ryc. 1. Dokument zatwierdzający mord 25 700 Polaków z podpisami członków Biura Politycznego WKP(b) m.in. Józefa Stalina.

Fig. 1. Official document confirming the murder of 25.700 Poles with signatures of members of the Soviet Politburo (WKP b), including Joseph Stalin.

¹ Emerytowany pracownik naukowo-dydaktyczny Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UJ CM w Krakowie.

* Według plakatu przedstawionego podczas XV Zjazdu Naukowego PTMSiK, Gdańsk 16-18.09.2010.

GEOGRAFIA MORDU



Ryc. 2. Rozmieszczenie obozów i miejsc, w których ujawniono zwłoki pomordowanych jeńców. Teczka edukacyjna IPN.

Fig. 2. Location of camps and places where the corpses of murdered prisoners were revealed.

CZAS MORDU – 1940 ROK

Paweł Kukiz – 17 września (za zgodą Autora)

- 3 IV środa - Kurica – nieptica
- 4 IV czwartek - Polska – nie zagranica
- 5 IV piątek - Więc polej wódki, Grisza
- 6 IV sobota - Bo zaraz oddasz strzał
- 7 IV niedziela
- 8 IV poniedziałek - W tył głowy
- 9 IV wtorek - Potem do dołu
- 10 IV środa - Ciało na ciało się zrzuci
- 11 IV czwartek - Sasza ugnieść je musi
- 12 IV piątek - A spychacz zepsuł się nam
- 13 IV sobota - Więc polej Grisza tak z duszy
- 14 IV niedziela
- 15 IV poniedziałek - Dla Saszy, bo spychacz nie ruszy
- 16 IV wtorek - Ilu ich jeszcze zostało
- 17 IV środa - A naszym chce się już spać
- 18 IV czwartek - Roboty oczeń mnoga
- 19 IV piątek - Starszyna chodzi zły

- 20 IV sobota - Psuje się pogoda
- 21 IV niedziela
- 22 IV poniedziałek - A jeszcze tylu ich
- 23 IV wtorek - Tylu ich jeszcze zostało
- 24 IV środa - A spychacz zepsuł się nam
- 25 IV czwartek - Tam w dole się jacyś ruszają
- 26 IV piątek - Wypijmy, Grisza, do dna
- 27 IV sobota - Kończy się podły kwiecień
- 28 IV niedziela
- 29 IV poniedziałek - Zaczyna zielony maj
- 30 IV wtorek - A nam wciąż nowych dowożą
- 1 V środa - Nie dają wytchnienia nam
- 2 V czwartek - Eee, Grisza co jest z tobą
- 3 V piątek - Czyżby ci było ich żal?
- 4 V sobota - Kurica – nieptica
- 5 V niedziela
- 6 V poniedziałek - To tylko polski pan
- 7 V wtorek - Niech Wasia wapnem sypnie
- 8 V środa - Na ten ostatni stos
- 9 V czwartek - A wapno pamięć rozpuści
- 10 V piątek - Sumienie prześpi się w nas
- 11 V sobota - A potem by nie bolało
- 12 V niedziela
- 13 V poniedziałek - Posadzi się tu las
- 14 V wtorek - I prawda nie wyjdzie na jaw
- 15 V środa - A Stalin odznaczy nas
- 16 V czwartek - Tylu ich jeszcze zostało
- 17 V piątek - A spychacz zepsuł się nam
- 18 V sobota - Tam na dole się jacyś ruszają
- 19 V niedziela - Wypijmy, Grisza, do dna

W ciągu 40 dni powszednich i 7 niedziel zamordowano:
 w Charkowie - 3812 oficerów Wojska Polskiego
 w Katyniu - 4406 oficerów Wojska Polskiego
 w Twerze - 6288 policjantów i innych pracowników /Kalinin/ służb państwowych

PIERWSZY MEDYK SĄDOWY W KATYNIU

Dr med. Tadeusz Pragłowski starszy asystent Zakładu Medycyny Sądowej UJ, przebywał w dniu 16 kwietnia 1943 roku na terenie Katynia wraz z Komisją Techniczną PCK. Swoje spostrzeżenia z pobytu w Katyniu przekazał w ustnej relacji dr. Marianowi Wodzińskiemu.

Zbrodnia katyńska. Wyd. Krzyża Nowohuckiego, Kraków, 1981, 158.



Ryc. 3. *Ksiądz Jasiński i dr med. T. Pragłowski – polski medyk sądowy w Katyniu w 1943. Dokumentacja niemiecka.*

Fig. 3. *Father Jasiński and Dr. T. Pragłowski, a Polish forensic medicine specialist, in Katyn in 1943. German documentation.*



Ryc. 4. *Ekshumacja Katyń 1943 – odświeżenie miejsc zamordowanych oficerów. Dokumentacja niemiecka.*

Fig. 4. *Exhumation, Katyn, 1943 – Uncovering of the sites of slaughtered officers. German documentation.*

EKSHUMACJE

KATYŃ – 1943 rok

Wodziński M.: Relacja dra medycyny Mariana Wodzińskiego, lekarza sądowego Komisji Technicznej PCK w Katyniu /w:/ Zbrodnia Katyńska w świetle dokumentów. Wyd. Krzyża Nowohuckiego, Kraków 1991, 157-188.

CHARKÓW, MIEDNOJE – 1991 rok

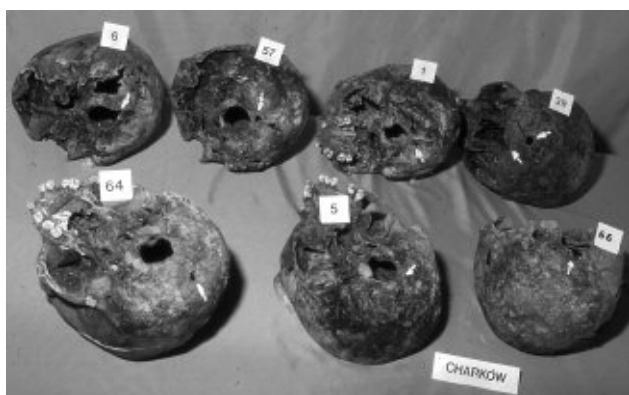
Opinie:

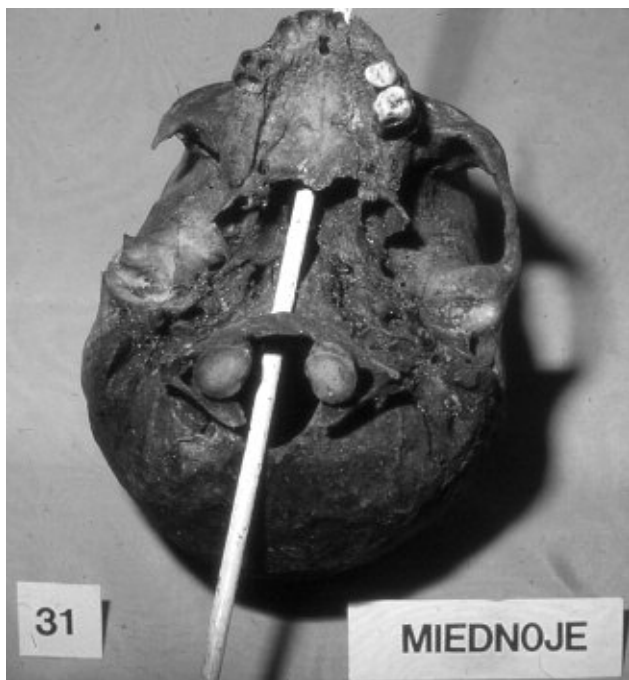
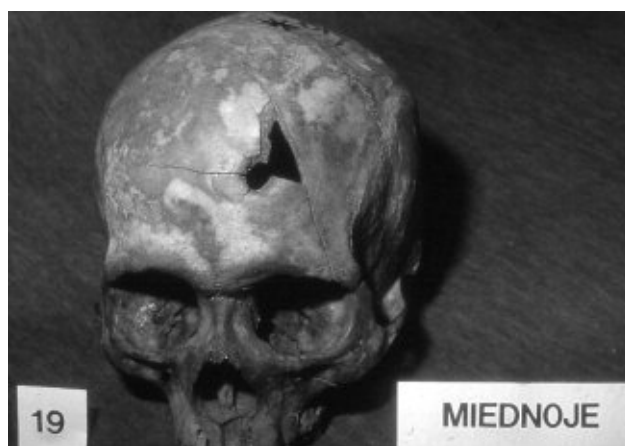
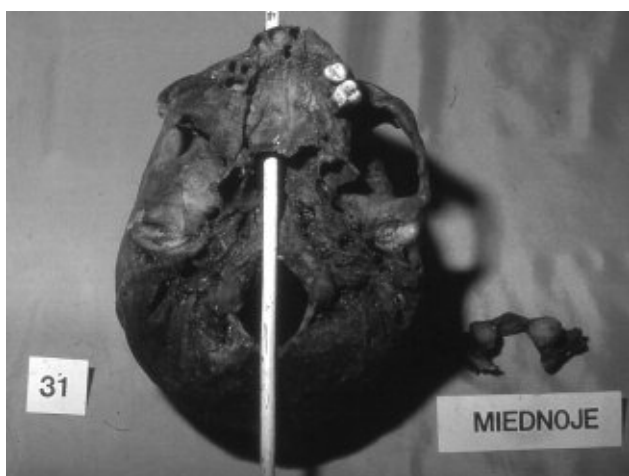
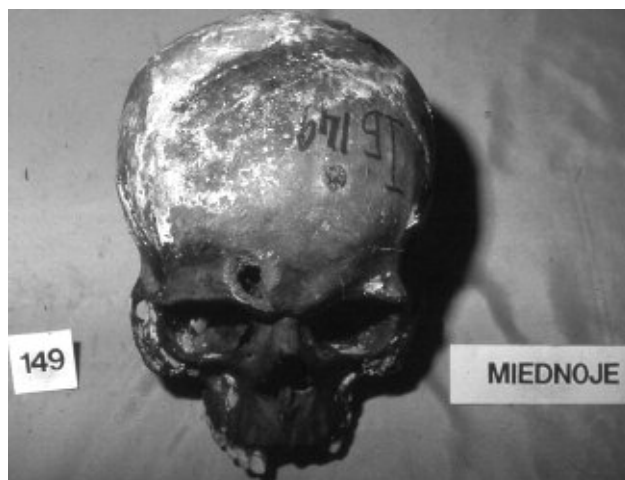
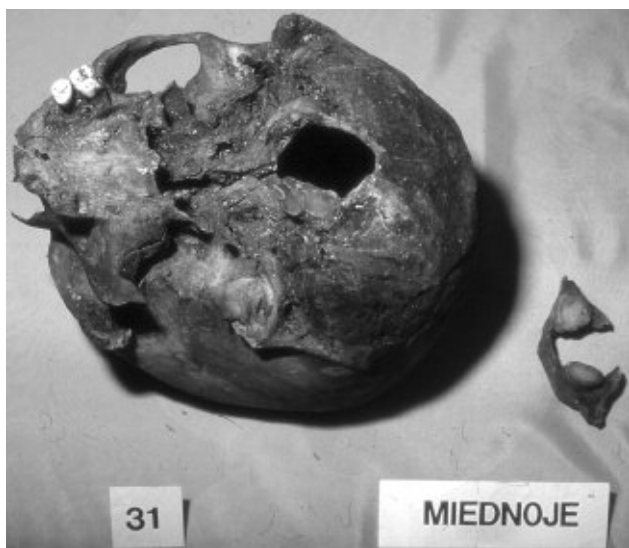
- dla Naczelnej Prokuratury Wojskowej Związku Radzieckiego z daty 9 VIII i 31 VIII 1991 Opinie dotyczyły m.in. liczby zwłok ujawnionych w czasie ekshumacji, rodzaju stwierdzanych uszkodzeń, przyczyny śmierci. Dokumenty ze strony radzieckiej podpisali: dr L. Bielajew i dr S. W. Derij (medycy sądowi) a ze strony polskiej: prof. dr hab. B. Młodziejowski (antropolog), dr hab. R. Mądro, dr E. Baran (medycy sądowi).

- dla Prokuratury Generalnej RP z daty 6 II 1992, w której zawarto sprawozdanie z czynności ekshu-

macyjnych z końcową opinią. Dokument podpisali prof. dr hab. B. Młodziejowski (antropolog), dr hab. R. Mądro, dr E. Baran.

- dla Prokuratury Generalnej RP w odpowiedzi na pismo z dnia 6 IV 1992. Pismo zawierało 12 pytań nawiązujących do opinii z dnia 6 II 1992 i jej uszczegółowienia, m.in. przez wyjaśnienie różnic w procesach pośmiertnych w Charkowie i w Miednoje, czasu przebywania zwłok w dołach śmierci, zróżnicowania obrażeń pod kątem czasu ich powstania (za życia, po śmierci, w czasie ekshumacji), wpływu środków chemicznych na rozkład zwłok. Dokument podpisał: dr E. Baran.





Ryc. 5. Ekshumacja Charków i Miednoje 1991 – blok 9 rycin – czaszki z kanałami postrzałowymi. Fot. J. Tatar.

Fig. 5. Exhumation, Kharkiv and Mednoje, 1991 – 9 gunshot wounds of the skulls. Photo by J. Tatar.

PUBLIKACJE

Baran E., Mądro R., Młodziejowski B.: Badania sądowo-lekarskie przeprowadzone w ramach ekshumacji w Charkowie i Miednoje /w:/ Zbrodnia Katyńska. Droga do prawdy. Zeszyty Katyńskie nr 2, Warszawa 1992, 264-276.

Baran E., Mądro R., Młodziejowski B.: Badania masowych grobów oficerów polskich więźniów Starobielska. Sprawozdanie sądowo-lekarskie z ekshumacji w Charkowie. Arch. Med. Sąd. Krym. 1993, 43, 1, 3-25.

Mądro R., Baran E., Młodziejowski B.: Sprawozdanie z ekshumacji zwłok polskich jeńców wojennych więzionych w Ostaszkwie na terytorium ZSRR, przeprowadzonej w Miednoje k/Tweru w dniach 15-30 VIII 1991. Arch. Med. Sąd. Krym. 1993, 43, 1, 26-46.

Baran E., Mądro R., Młodziejowski B.: Untersuchungen von Massengraben polnischer Gefangener – Opfer des Mordes /1940/ des NKWD. Plakat /wyróżniony nagrodą/ - 71 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin. Berlin 15-19 IX 1992.

KATYŃ – 1991 rok

Wykopy sondażowe w Lesie Katyńskim w dniach 20-21 XI 1991 przeprowadzone przez biegłych Prokuratury Związku Radzieckiego.

STAROBIELSK – 1994 rok

Mądro R., Głosek M., Herzog A., Przewoźnik A.: Przebieg i wyniki ekshumacji przeprowadzonej w obrębie tak zwanej kwatery polskiej na Starym Cmentarzu Miejskim w Starobielsku. Arch. Med. Sąd. Krym. 1994, 44, 3, 294-304.

KATYŃ – 1994 rok

Mądro R.: Katyń 1940-1994. Publikacja wydana staraniem Akademii Medycznej w Lublinie, brak roku wydania, str. 136, dokumentacja fotograficzna. Publikacja zawiera sprawozdanie autora z badań przeprowadzonych w Katyniu we wrześniu 1994.

MIEDNOJE – 1995 rok

dr M. Brzozowska

dr R. Gwiazdecki

Wyniki badań z przeprowadzonej ekshumacji nie były publikowane.

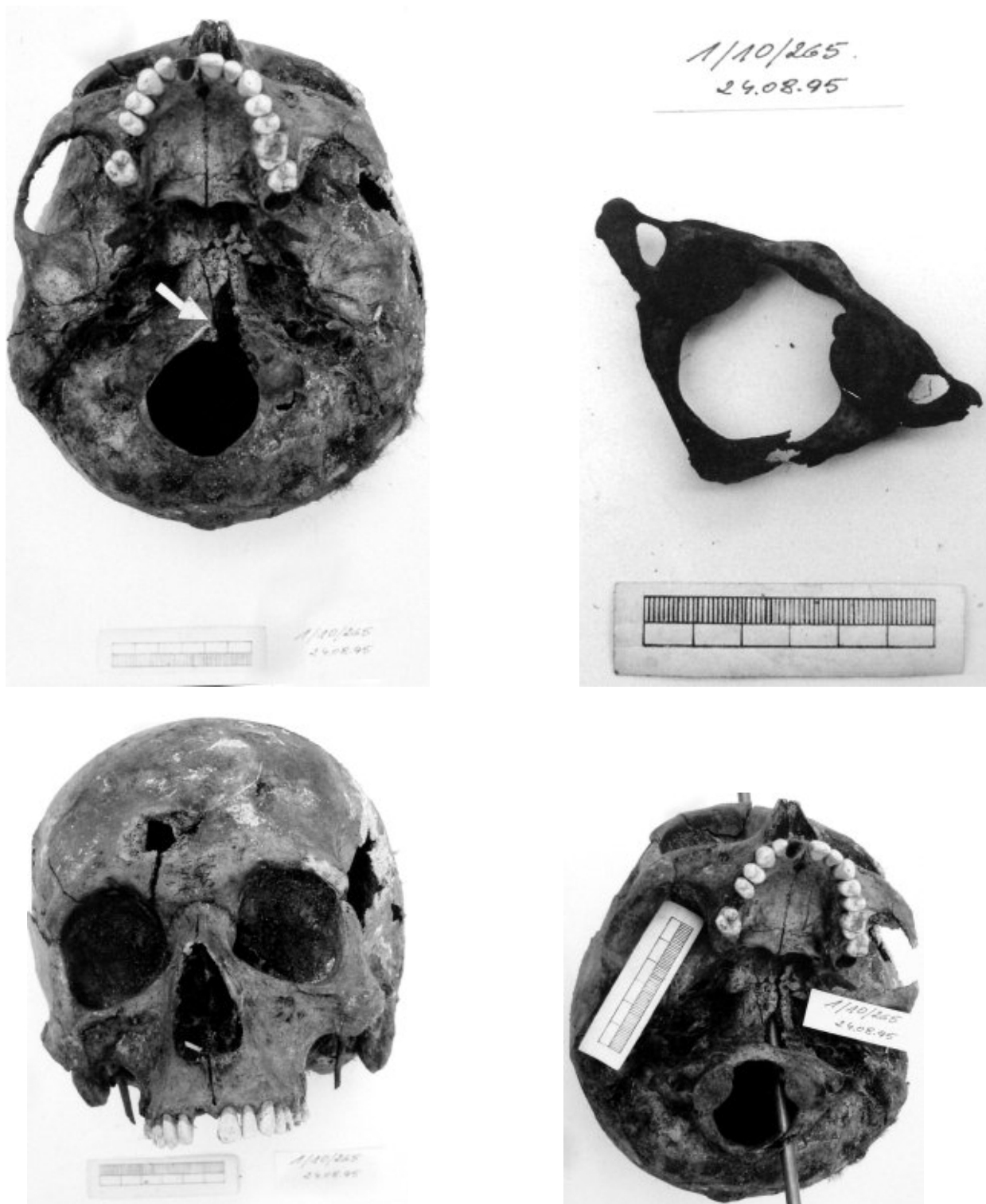
KATYŃ – 1995 rok

Baran E.: Opinia medyka sądowego o ekshumowanych szczątkach generałów Bronisława Bohaterewicza i Mieczysława Smorawińskiego /w:/ Zbrodnia nie ukarana. Katyń-Twer-Charków. Zeszyty Katyńskie nr 6, Warszawa, 1996, 46-59.

Baran E.: Raport medyka sądowego z badań ekshumacyjnych przeprowadzonych w Katyniu w 1995 roku. Arch. Med. Sąd. Krym. 1998, 48, 2, 83-96.

Baran E.: Podsumowanie raportów medyka sądowego z badań mogił cmentarza PCK założonego w 1943 w tym mogił generałów oraz dotów śmierci /w:/ Katyń w świetle badań terenowych 1994-1995. Praca zbiorowa pod redakcją Mariana Głoska. Toruń 2004, 50-66; 51-96; 124-134; 293-296; 310-314.





Ryc. 6. Ekshumacja Katyń 1995 – blok 6 rycin – wielokrotny postrzał czaszki, kanał postrzałowy z uszkodzeniem kręgu. Fot. mgr G. Rycel.

Fig. 6. Exhumation, Katyn, 1995 – 6 figures showing multiple gunshot wounds through the skull; bullet paths show damage to the cervical spine. Photo by G. Rycel.



CHARKÓW – 1996 rok

dr E. Baran

Wyniki badań z przeprowadzonej ekshumacji nie były publikowane.

OPINIE PO BADANIACH PRZEPROWADZONYCH W ZAKŁADACH MEDYCYNY SĄDOWEJ Z MATERIAŁÓW ZABEZPIECZONYCH PODCZAS EKSHUMACJI

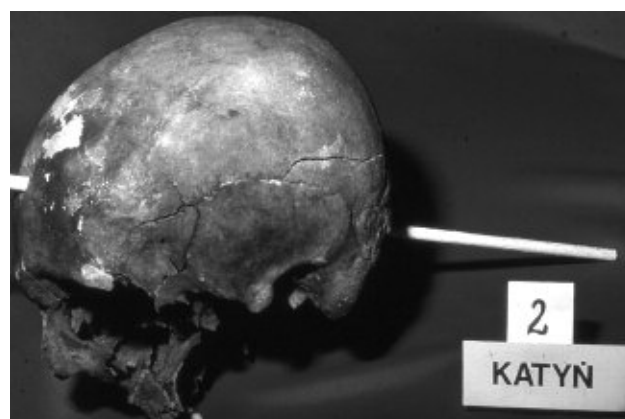
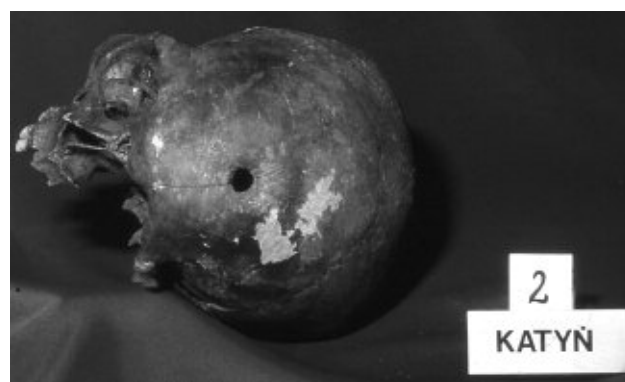
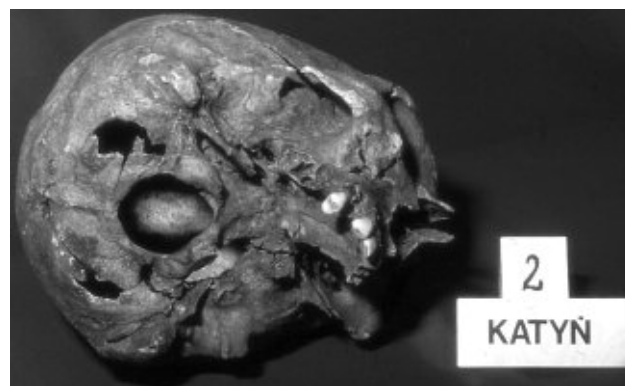
KRAKÓW

Podczas badań ekshumacyjnych w Charkowie (1991) zabezpieczono kilka sztuk żeber i fragment kości ramiennej. Celem badania było rozstrzygnięcie czy charakter stwierdzanych uszkodzeń mógł być następstwem postrzału. Opinia dla Prokuratury Generalnej RP z dnia 10 II 1992 – podpisana przez dr. med. Erazma Barana i mgr praw Zbigniewa Lisowskiego (kryminalistyk).

Podczas wykopów sondażowych w Lesie Katyńskim w dniach 20-21 listopada 1991 zabezpieczono dwie czaszki i żuchwę. Celem badania było ustalenie charakteru uszkodzeń i ich mechanizmu, wieku, płci, przyczyny zgonu. Opinia wydana dla Prokuratury Generalnej RP z dnia 6 XII 1991. Opinię podpisał dr med. Erazm Baran.

Ryc. 7. Ekshumacja Katyń 1995 – odstawianie mogiły PCK z 1943 przez archeologów. Fot. mgr G. Rycel.

Fig. 7. Exhumation, Katyn, 1995 – 3 figures illustrating archeologists uncovering the Polish Red Cross graves from 1943. Photo by G. Rycel



Ryc. 8. Ekshumacja Katyń 1991 – blok 7 rycin – uszkodzenia postrzałowe czaszek, żeber, fragmentu kości ramiennej. Fot. J. Tatara.

Fig. 8. Exhumation, Katyn, 1991 – 7 figures showing multiple gunshot wounds with damage to the skulls, ribs, and humerus. Photo by J. Tatara.

WROCŁAW

W 1943 roku niemiecki profesor medycyny sądowej Gerhard Buhtz wywiózł z Katynia kilka czaszek, które przez wiele lat były przechowywane w Zakładzie Medycyny Sądowej AM we Wrocławiu. Spośród tych czaszek dokonano identyfikacji czaszki Janiny Antoniny Lewandowskiej (śpiewaczki, pilota szybowcowego i samolotowego) zamordowanej w 1940 roku w Katyniu. Identyfikacji dokonał zespół medyków sądowych i antropologów: prof. Tadeusz Krupiński, prof. Zbigniew Reichel, dr Barbara Kwiatkowska, dr Jerzy Kawecki, lek. Hubert Szatny.

SZCZECIN

W 1943 roku dr Tramsen, asystent z Instytutu Medycyny Sądowej w Kopenhadze, wywiózł z Katynia czaszkę ze zwłok oficera, u którego przeprowadzał sekcję zwłok. Oficerem tym był kap. posp. rusz. lekarz Ludwik Szymański. Po wielu latach w szafie Instytutu Medycyny Sądowej Uniwersytetu w Kopenhadze znaleziono „przestrzeloną czaszkę”. Badania identyfikacyjne na zlecenie Rady Ochrony pamięci Walk i Męczeństwa przeprowadzono w Zakładzie Medycyny Sądowej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Materiał porównawczy do badań polimorfizmu DNA pobrano od syna zamordowanego – Jerzego Szymańskiego. Wynik badania: wykazano zgodność typu rodzic – dziecko między profilem DNA pochodzącym z czaszki i profilem DNA Jerzego Szymańskiego. Badana czaszka pochodzi od osoby blisko spokrewnionej z J. Szymańskim. Ten typ pokrewieństwa występuje w przypadku pokrewieństwa rodzic i jego dziecko. Opinię podpisali: dr Andrzej Ossowski – Zakład Medycyny Sądowej PAM Pracownia Hemogenetyki, dr n. med. Jarosław Piątek – Zakład Medycyny Sądowej PAM Pracownia Hemogenetyki.

OCENY – OPINIE NA PODSTAWIE MATERIAŁÓW AKTOWYCH I PUBLIKACJI

Opinia sądowo-lekarska wydana na zlecenie Prokuratora Specjalnego Sądu Karnego w Krakowie z dnia 12 listopada 1945, Nr Ds. Spec. 314/45. Biegłym postawiono następujące pytanie: „czy tezy zawarte w wydawnictwie urzędowym „Amtliches Material zum Massenmord von Katyn” wytrzymują krytykę ze stanowiska nauki a w szczególności medycyny sądowej”. Opinia z daty 12 grudnia 1945

podpisana przez : prof. dr. J. S. Olbrychta i prof. dr. S. Siengalewicza.

Olbrycht J.: Observations critiques médico-légales sur la publication „Amtliches Material zum Massenmord von Katyn”. Acta Medicinae Legalis et Socialis 1953, 1/2, 24-50.

Baran E.: Opinie sądowo-lekarskie w sprawie katyńskiej wydane przez polskich medyków sądowych. Część I – Orzeczenie dra Mariana Wodzińskiego. Arch. Med. Sąd. Krym. 1992, 42, 2, 129-135.

Baran E.: Opinie sądowo-lekarskie w sprawie katyńskiej wydane przez polskich medyków sądowych. Część II – Opinia sądowo-lekarska profesorów Jana Olbrychta i Sergiusza Schilling-Siengalewicza.

Arch. Med. Sąd. Krym. 1992, 42, 3, 183-193.

Baran E.: Uwagi do niemieckiego sprawozdania sądowo-lekarskiego opublikowanego w 1943 /w:/ Zbrodni Katyńskiej. Droga do prawdy. Zeszyty Katyńskie nr 2, Warszawa 1992, 127-140.

Baran E.: Sądowo-lekarskie dokumenty dotyczące Zbrodni Katyńskiej w archiwach rosyjskich. Arch. Med. Sąd. Krym. 2000, 50, 3, 215-226.

„ZBRODNIA KATYŃSKA“ W PUBLIKACJACH O RÓŻNYM CHARAKTERZE

Chróścielewski E.: Sądowo-lekarska, kryminalistyczna i prawna rekonstrukcja Zbrodni Katyńskiej. Arch. Hist. i Fil. Med. 1990, 53, 1/2, 11-27.

Chróścielewski E.: A. Sródka: Lista poległych oficerów jeńców wojennych z Kozielska rozpoznanych wśród zwłok w grobach katyńskich (pracownicy służby zdrowia). Arch. Hist. i Fil. Med. 1990, 53, 1/2, 39-58.

Baran E.: Udział polskich medyków sądowych w sprawie katyńskiej. Arch. Med. Sąd. Krym. 1991, 41, 3, 193-200.

Popielski B.: Katyń – Ekshumacja zwłok polskich oficerów w świetle sprawozdania sądowo-lekarskiego profesora medycyny sądowej w niemieckim Wrocławiu – prof. G. Buhtza. Sprawozdanie Wrocławskiego Towarzystwa Naukowego. Wrocław 1992, 25-27.

Baran E.: Musiałem godzić obiektywizm z gniewem. Biuletyn Katyński, Kraków 1992, 1/35, 51-57.

Raszeja S.: Sprawa katyńska w ocenie niemieck-

kiego profesora medycyny sądowej. Arch. Med. Sąd. Krym. 1992, 42, 2, 126-128.

Raszeja S., Chróścielewski E.: Medicolegal reconstruction of the Katyń forest massacre. Foren. Sc. Int. 1994, 68, 1-6.

Nasiłowski W.: List do Redakcji. Arch. Med. Sąd. Krym. 1996, 46, 2, 163-164. List do Redakcji jest reakcją prof. W. Nasiłowskiego na krytyczną recenzję – prof. M. Głoska archeologa – publikacji R. Mądro „Katyń 1940-1994” wyd. AM w Lublinie. Recenzja opublikowana: Arch. Med. Sąd. Krym. 1995, 45, 3/4, 317-320.

Popielski B.: Wspomnienia o pracach sądowo-lekarskich w Katyniu i Łambinowicach. Zeszyty Naukowe Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Śląskiej

Akademii Medycznej. Katowice 1996, 5, 19-25.

Chróścielewski E.: Cienie obozu koncentracyjnego Auschwitz-Birkenau i Katynia w życiorysie doc. dr. med. Tadeusza Pragłowskiego. Zeszyty Naukowe Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Śląskiej Akademii Medycznej. Katowice 1996, 5, 29-33.

Baran E.: Udział krakowskich medyków sądowych w badaniach Zbrodni Katyńskiej. Biuletyn Katyński, Kraków 1997, 44, 48-54.

Popielski B., Nasiłowski W.: Cienie Katynia w dokumentach i historii medycyny sądowej. Arch. Med. Sąd. Krym. 1997, 47, 3, 181-191.

Baran E.: Antropologia–archeologia–medycyna sądowa (praca złożona do druku).

Adres do korespondencji:
dr Erazm Baran
ul. Grzegórzecka 16
31-531 Kraków

Krzysztof Maksymowicz, Małgorzata M. Żoźna¹, Jacek Kościuk², Bartosz Dawidowicz³

Dokumentowanie przebiegu i wyników eksperymentu procesowo-kryminalistycznego oraz możliwości przeprowadzenia wirtualnego eksperymentu procesowego przy zastosowaniu technik laserowego skanowania 3D

Documentation of course and results of crime scene reconstruction and virtual crime scene reconstruction possibility by means of 3D laser scanning technology

Z Katedry Medycyny Sądowej Akademii Medycznej we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr hab. B. Świątek

¹ Z Pracowni Kryminalistyki Uniwersytetu Gdańskiego

² Z Laboratorium Skanowania i Modelowania 3D, Politechnika Wrocławska

³ Z Kancelarii Adwokackiej DGŻ sp.p., Wrocław

Celem pracy jest przedstawienie możliwości dokumentowania przebiegu i wyników eksperymentu procesowo-kryminalistycznego oraz możliwości przeprowadzenia wirtualnego eksperymentu procesowego przy zastosowaniu technik laserowego skanowania 3D, jak też wskazanie umocowania prawnego tej techniki w praktyce postępowania dowodowego. Autorzy przedstawiają zalety tej technologii, jak np. dokładność i obiektywizm pomiaru, niespotykaną w innych technikach odporność danych pomiarowych na manipulację, wysoką rozdzielczość obrazowania, bezdotykowe rejestrowanie danych, zachowanie badanego obiektu w nie naruszonym stanie i inne. Przeprowadzona analiza aktualnych regulacji prawnych w zakresie utrwalania obrazu dla celów procesowych wykazuje pełną zdolność technik skanowania 3D do ich praktycznego wykorzystania w dokumentowaniu przebiegu i wyników eksperymentu procesowo-kryminalistycznego.

The objective of the study was to present both the possibilities of documenting the course and results of crime scene reconstruction using 3D laser scanning technology and the legal basis for application of this technology in evidence collection. The authors present the advantages of the aforementioned method, such as precision, objectivity, resistance of the

measurement parameters to manipulation (comparing to other methods), high imaging resolution, touchless data recording, nondestructive testing, etc. Moreover, through the analysis of the current legal regulations concerning image recording in criminal proceedings, the authors show 3D laser scanning technology to have a full complete ability to be applied in practice in documentation of the course and results of crime scene reconstruction.

WPROWADZENIE

Zgodnie z art. 211 k.p.k. eksperyment procesowo-kryminalistyczny jest przeprowadzany w celu sprawdzenia okoliczności, mających istotne znaczenie dla rozstrzygnięcia sprawy, w drodze doświadczenia lub odtworzenia przebiegu stanowiących przedmiot rozpoznania zdarzeń lub ich fragmentów. Jest to zatem czynność procesowa o charakterze dowodowym i ze względu na swą istotę, co do zasady, jest niepowtarzalna [1], choć znane są w literaturze przedmiotu także poglądy przeciwne [2]. W związku z tym pełne i rzetelne udokumentowanie eksperymentu wydaje się *conditio sine qua non* dla dowodowego skorzystania z jego wyników. Podstawą faktyczną przeprowadzenia eksperymentu, wynikającą z treści art. 211 k.p.k., jest zaistnienie wątpliwości. Mogą się one nasunąć po analizie ma-

teriału dowodowego lub wyniknąć z okoliczności zdarzenia ujawnionych w toku sprawy. Podejmując trud przeprowadzenia eksperymentu, można i trzeba oczekiwać, że wszelkie wątpliwości dotyczące konkretnych okoliczności sprawy zostaną tą drogą usunięte. Istota eksperymentu polega na kontrolowanym wywoływaniu określonego zjawiska lub regulowaniu warunków wpływających na to zjawisko a także wykrycia zależności zjawiska od regulowanych, a czasami i zmiennych warunków w jakich przebiegało zdarzenie [3].

W zależności od potrzeb i realiów konkretnej sprawy, celem eksperymentu procesowo-kryminalistycznego może być sprawdzenie – weryfikacja, czy ustalenie przy uwzględnieniu określonych warunków i okoliczności zdarzenia, m.in.: widoczności przedmiotów, słyszalności dźwięków, możliwości percepcji innych bodźców, możliwości wykonania określonej czynności, wystąpienia skutków czynu, mechanizmu powstawania śladów, czasu potrzebnego na dokonanie określonych czynności, możliwości wystąpienia szeregu zjawisk, potwierdzenie lub wykluczenie określonej wersji śledczej [4, 5]. Trudno jest wskazać, jakie kwestie mogą zostać poddane sprawdzeniu w drodze doświadczalnej, gdyż jest to uzależnione od realiów konkretnej sprawy, ilości i jakości posiadanych informacji, a czasem gorliwości w ich uzyskiwaniu. Aby prawidłowo zrealizować eksperyment (rozumiany wyłącznie jako doświadczenie) należy szczegółowo tę czynność zaplanować, zgromadzić odpowiednie przedmioty i sprzęt techniczny, zaangażować odpowiednie osoby. Poza tym istotą eksperymentu jest to, że w jego ramach wykonuje się kilka prób, pamiętając jednocześnie o zapewnieniu maksymalnie zbliżonych warunków do tych, jakie panowały w chwili, gdy weryfikowane zdarzenie zaistniało.

ZASADY DZIAŁANIA TECHNIKI SKANOWANIA 3D

Stały rozwój nowoczesnych metod badawczych rozszerza granicę poznania, pozwalając na rejestrację bardziej kompletnych i obiektywnych danych. Jednocześnie analiza oraz weryfikacja ich wiarygodności trwa krócej, a otrzymane dane są precyzyjniejsze. Biorąc powyższe spostrzeżenia pod uwagę jednym z przykładów poszerzania granic wiedzy jest zastosowanie techniki laserowego

skanowania 3D, która jest od kilkunastu lat z powodzeniem stosowana w wielu dziedzinach życia, m.in. archeologii, budownictwie czy transporcie. Większa dokładność pomiarów i uszczegółowienie detali, skrócenie czasu rejestracji obrazu, stawiają tę technikę w kręgu zainteresowania kryminalistyki, o czym świadczyć może między innymi program światowej konferencji Leica Geosystems Worldwide HDS User Conference, która odbyła się w 2010 roku w Stanach Zjednoczonych. W programie znalazły się nie tylko prezentacje specjalistycznych referatów z zakresu wykorzystania technologii laserowego skanowania 3D w kryminalistyce, ale wręcz wydzielono osobną sesję poświęconą wyłącznie tym zagadnieniom, co wskazuje na przeniesienie uwagi kryminalistów na szersze wykorzystanie tej technologii w pracy wykrywczej dla dobra wymiaru sprawiedliwości.

Jak słusznie postulował E. Locard [6], kryminalistyka w badaniu techniki przestępstwa łączy różne nauki. Ten wybitny francuski kryminalistyk nawet nie przewidywał, jak daleko może sięgnąć technika, aby pomóc kryminalistyce, a z kolei, jak kryminalistyka będzie mogła wypełniać swoje funkcje i cele dla potrzeb realizacji przepisów procedury karnej, cywilnej i administracyjnej. Zapewne nie przypuszczał, jak myśl ludzka wykorzysta dla celów kryminalistyki na przykład zjawisko emisji wymuszonej, która służyła wielu dyscyplinom technicznym i medycynie na długo zanim znalazła zastosowanie w kryminalistyce. Promieniowanie laserowe posiada szczególne właściwości, których brak innym źródłom promieniowania elektromagnetycznego [7]. Wśród wielu innych zastosowań, technika laserowa może być używana do ujawniania śladów fizykochemicznego różnicowania substancji, wyznaczenia prędkości, pomiarów odległości, a wreszcie uzyskiwania trójwymiarowych obrazów holograficznych o wysokim stopniu dokładności i pojemności informacyjnej. W porównaniu z obserwacją wzrokową, laserowe skanowanie 3D pozwala na zarejestrowanie kompletnego oraz dokładnego, w sensie wymiarowym i geometrii, obrazu całego miejsca zdarzenia, niezależnie od faktu czy konkretne szczegóły zostały zauważone przez pracującą na miejscu zdarzenia ekipę śledczą. W dużym uproszczeniu, laserowy skaner 3D „omiata” otaczającą przestrzeń wiązką laserową i rejestruje jej odbicie od wszelkich przeszkód, na które natrafia promień

lasera. Na podstawie znajomości kąta poziomego i pionowego pod jakim został wystany impuls laserowy oraz czasu, po którym wróciła odbita od przeszkody wiązka promieni bądź też dzięki pomiarowi przesunięcia fazowego odbitej wiązki, skaner 3D wyznacza współrzędne przestrzenne (x, y, z) miejsca, na które padł impuls promieniowania przez niego wygenerowany. Prędkość takiego „prób-kowania” otaczającej skaner przestrzeni może dochodzić do 500 tysięcy pomiarów na sekundę, a gęstość osiąga bez przeszkód wartości subcentymetrowe. Wszystkie dane pomiarowe zbierane są w czasie rzeczywistym w bazach danych wyników skanowania. Dla każdego punktu pomiarowego – oprócz współrzędnych przestrzennych (x, y, z) – zapisywana jest także intensywność odbicia, a w wielu modelach skanerów także składowe R,G,B koloru w miejscu odbicia.

W przypadku większości systemów stosowanych do laserowego skanowania 3D, zarejestrowane dane są niepodatne na późniejsze próby manipulacji. Raz zapisany geometryczny obraz sceny nie może być zmieniony. Pierwotnie zapisane dane zostają utrwalone w bazie danych wyników skanowania. Ich obserwacja i wizualizacja odbywa się w zewnętrznych, w stosunku do bazy danych, przestrzeniach roboczych. Nawet jeśli w procesie edycji pewne obiekty zostaną w takiej przestrzeni roboczej przesunięte bądź wręcz z niej usunięte, oryginalna baza danych pozostanie niezmieniona i odświeżenie przestrzeni roboczej, w oparciu o zarejestrowaną na miejscu zdarzenia bazę danych wyników skanowania, przywróci usunięte bądź przesunięte obiekty na swoje pierwotne miejsce. W praktyce kryminalistycznej, czas jaki ma ekipa dochodzeniowo-śledcza na sporządzenie dokumentacji miejsca zdarzenia jest zazwyczaj ograniczony [8]. Trzeba sobie zdawać sprawę z tego, że czynności procesowo-kryminalistyczne odbywają się często w niekorzystnych warunkach oświetleniowych, a członkowie ekipy pracującej na miejscu zdarzenia są narażeni na dodatkowy stres, który generuje upływ czasu oraz świadomość, że ślady mogą zostać trwale utracone. Wszystko to niekorzystnie wpływa na obiektywizm rejestracji śladów. Powrót na miejsce zdarzenia w jego oryginalnym stanie nie zawsze jest możliwy – szczególnie w przypadku zdarzeń zaistniałych w otwartym terenie. Takie czynniki, jak padający deszcz, silny wiatr, topniejący

śnieg, bezpowrotnie niszczą wiele śladów. Pomijamy w tym miejscu tak oczywiste sytuacje, jak świadoma lub nieświadoma ingerencja osób trzecich. Tymczasem w przypadku dokumentacji miejsca zdarzenia dokonywanej za pomocą laserowego skanowania 3D, istnieje zawsze możliwość wirtualnego powrotu na miejsce zdarzenia w jego oryginalnej, niezmienionej formie. Można wielokrotnie oglądać to miejsce, zbliżając się do interesujących szczegółów, oglądając je pod określonym kątem bądź obserwować je z perspektywy niedostępnej tradycyjnymi metodami – np. zapewnić sobie widok na całe miejsce zdarzenia z lotu ptaka. Taki wielokrotny ogląd, wolny od stresu i ograniczeń czasowych, pozwala na wychwycenie szczegółów, śladów czy też zjawisk, które w normalnych warunkach praktyki śledczej mogłyby zostać niezauważone. Wirtualny powrót do przestrzeni miejsca zdarzenia jest możliwy w dowolnym czasie, nawet wiele lat po zdarzeniu, kiedy to na przykład ujawnią się nowi świadkowie, czy nowe fakty staną się znane organom procesowym.

MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA TECHNIK SKANOWANIA 3D DLA POTRZEB EKSPERYMENTU PROCESOWEGO

Na przydatność technologii laserowego skanowania 3D, jako narzędzia wspomagającego kryminalistykę i medycynę sądową, zwrócili także uwagę producenci oprogramowania. Na rynku są już dostępne wyspecjalizowane aplikacje pozwalające na podstawie danych uzyskanych z laserowego skanowania 3D przygotować dokumentację odpowiadającą wymogom postępowania procesowego czy opiniowania medyczno-sądowego – jak dotąd tylko w anglosaskim wydaniu. Niektóre z nich, jak na przykład Leica Forensic MAP Pro, mają wbudowane dodatkowe moduły umożliwiające przeprowadzenie specjalistycznych analiz z zakresu kinematyki zderzeń pojazdów mechanicznych czy też ustalania trajektorii lotu pocisków.

Jakie mogą więc być potencjalne możliwości dokumentowania przebiegu i wyników eksperymentu procesowo-kryminalistycznego z wykorzystaniem danych uzyskanych metodą laserowego skanowania 3D, jak też ewentualne przeprowadzenie późniejszego wirtualnego eksperymentu w oparciu o uzy-

skane dane? W ramach analizy uzyskanych danych możliwe są wielorakie scenariusze – od prostych, polegających na ustaleniu faktycznych wymiarów poszczególnych elementów miejsca zdarzenia lub odległości pomiędzy tymi elementami, po bardziej złożone, w których analizowane są wzajemne zależności przestrzenne lub też porównywane ze sobą kształty pewnych przedmiotów. Lista przykładów takich analiz jest praktycznie nieograniczona:

- czy z pozycji jaką zajmował świadek, miejsce zdarzenia było faktycznie widoczne?
- jeśli świadek znajdował się faktycznie w punkcie B, a nie w punkcie A, jak twierdzą inni świadkowie zdarzenia, to czy mógł on widzieć miejsce zdarzenia?
- pod jakim kątem i z jakiego kierunku padł strzał (strzały)?
- jaka jest dokładna odległość pomiędzy punktem A i punktem B?
- czy ślad A może odpowiadać przedmiotowi B?
- jakim zakresem pola widzenia dysponował kierowca w ciągu ostatnich X sekund poprzedzających zdarzenie ze względu na istnienie przeszkody A ograniczającej widoczność?
- czy stojąc na ziemi, uczestnik zdarzenia mógł sięgnąć do punktu/przedmiotu A?
- czy doszło do odkształcenia przedmiotu A i o jaką ewentualnie wartość?

Jeśli ta część wirtualnego eksperymentu jest wspomagana odpowiednim oprogramowaniem, możliwe jest także odtworzenie kinematyki zdarzeń i odpowiedzi na pytania typu:

- jaka była prędkość pojazdu w chwili rozpoczęcia hamowania?
- ile czasu upłynęło od chwili, kiedy kierujący (ze względu na widoczność ograniczoną przeszkodą A) miał fizyczną możliwość zarejestrować fakt B, do czasu rozpoczęcia hamowania?

Powyższe przykłady stanowią jedynie ułamek teoretycznych możliwości przeprowadzania takich analiz w ramach wirtualnego eksperymentu.

PRAWNE ASPEKTY STOSOWANIA TECHNIK SKANOWANIA 3D

Użycie laserowego skanowania 3D pozostaje w zgodzie z fundamentalną zasadą prawdy mate-

rialnej wskazującą, że podstawę wszelkich rozstrzygnięć powinny stanowić prawdziwe ustalenia faktyczne (art. 2 § 2 k.p.k.). Ponadto koresponduje to z zasadą swobodnej oceny dowodów, według której organy postępowania kształtują swoje przekonanie na podstawie wszystkich przeprowadzonych dowodów, ocenianych swobodnie z uwzględnieniem zasad prawidłowego rozumowania oraz wskazań wiedzy i doświadczenia życiowego (art. 7 k.p.k.). Należy w związku z tym być świadomym postępu technologicznego i nieustannie poszukiwać nowych sposobów i metod badawczych, które pomogą dotrzeć do prawdy o okolicznościach zdarzenia. J. Gurgul stwierdził, że „bezsprzecznie pożądana ostrożność w adaptacji nowinek przybiera niekiedy przesadną postać, ignorującą osiągnięty stan wiedzy w określonej dziedzinie“ [9]. Ten sam autor słusznie przywołał słowa Kwintyliana, który wyraził pogląd, iż ludzie potępiają to, czego nie znają. Zweryfikowane pod kątem naukowym i praktycznym najnowocześniejsze osiągnięcia techniki kryminalistycznej nie powinny być pomijane przez organy procesowe w praktyce śledczo-sądowej.

Trudno sobie wyobrazić, że gdy pojawiła się możliwość rejestracji dźwięku za pomocą analogowego zapisu na taśmie magnetofonowej, krytykowano i wątpiono w jego wartość dowodową [10]. Mimo tego taka forma rejestracji dźwięku z powodzeniem spełniała swoje funkcje, aż do wprowadzenia do użytku dla potrzeb toczących się postępowań nowocześniejszych rozwiązań opartych o rejestrację cyfrową oraz innych nośników obrazu i dźwięku tj. płyt CD, DVD, kart pamięci, przenośnych dysków. Wykorzystanie takich metod sankcjonuje rozporządzenie Ministra Sprawiedliwości z dnia 2 czerwca 2003 roku w sprawie rodzaju urządzeń i środków technicznych służących do utrwalania obrazu lub dźwięku dla celów procesowych oraz sposobów ich przechowywania, odtwarzania i kopiowania zapisów (Dz.U. z 2003 Nr 107, poz. 1005). Kwestionowanie wartości środków dowodowych utrwalonych nowoczesnymi metodami rejestracji cyfrowej, podobnie zresztą jak ich zbyt pochopne i bezkrytyczne przyjmowanie, może wyrządzić wymiarowi sprawiedliwości niepowetowane szkody.

Wykorzystanie techniki laserowego skanowania 3D w ramach postępowania cywilnego możliwe jest w oparciu o przepis art. 308 k.p.c., który stanowi

w § 1, że „sąd może dopuścić dowód z filmu, telewizji, fotokopii, fotografii, planów, rysunków oraz płyt lub taśm dźwiękowych i innych przyrządów utrwalających albo przenoszących obrazy lub dźwięki“. Z kolei na gruncie procedury administracyjnej, zgodnie z art. 75 § 1 k.p.a. „jako dowód należy dopuścić wszystko, co może przyczynić się do wyjaśnienia sprawy, a nie jest sprzeczne z prawem. W szczególności dowodem mogą być dokumenty, zeznania świadków, opinie biegłych oraz oględziny“. Jak widać katalog środków dowodowych nie jest zamknięty i wydaje się, że również zastosowanie technologii laserowego skanowania 3D jest możliwe, zwłaszcza, iż takie urządzenie może być wykorzystane przez biegłego w ramach czynności wchodzących w zakres ekspertyzy i ujęte w sporządzonej z jej przebiegu opinii. Obecnie obowiązujący kodeks postępowania karnego powtórzył za swym poprzednikiem z 1969 roku przepis dotyczący eksperymentu procesowo-kryminalistycznego. Regulacji tej nie poddano żadnym zmianom redakcyjnym, mimo wysuwanych w tym zakresie postulatów. Czynił to m.in. wybitny kryminalistyk M. Kulicki, który przedstawił nawet projekt owych zmian biorąc pod uwagę zastosowanie najnowocześniejszych technologii w służbie kryminalistyki i przedstawił swoje propozycje ustawodawcy [11].

PODSUMOWANIE

Wobec ujęcia eksperymentu procesowo-kryminalistycznego w niezmiennym kształcie od kilkudziesięciu lat, posługiwanie się tą czynnością w praktyce śledczo-sądowej, przy użyciu najnowszych osiągnięć techniki w XXI wieku, wymaga właściwej wykładni. Eksperyment procesowo-kryminalistyczny jest czynnością przeprowadzaną przez organy procesowe [12] (tj. sąd albo prokuratora lub inne organy ścigania), które z reguły nie legitymują się specjalistyczną wiedzą, niezbędną do tego, aby posługiwać się urządzeniem takim, jak laserowy skaner 3D i interpretować wyniki jego pracy. W takiej sytuacji zastosowanie znajdzie zatem przepis art. 205 § 1 k.p.k., który dopuszcza możliwość wezwania specjalistów (w tym *per analogiam* biegłych sądowych) do wzięcia udziału w eksperymencie, jeżeli organ procesowy stwierdzi, iż jego dokonanie wymaga czynności technicznych, zwłaszcza takich jak wykonanie pomiarów, obliczeń, zdjęć lub

utrwalenia śladów. Tożsamy pogląd został wyrażony w wyroku Sądu Najwyższego z dnia 7 maja 1997 (IV KKN 23/97, OSNKW 1997/9-10/79). Nadto, zgodnie z normą zawartą w przepisie art. 212 k.p.k. w toku eksperymentu procesowego można dokonywać również innych czynności dowodowych. W związku z powyższym należy stwierdzić, iż dokonanie skanowania laserowego 3D można przeprowadzić w ramach odrębnej ekspertyzy, przeprowadzonej niejako w trakcie eksperymentu procesowego. Wówczas w protokole eksperymentu zaznacza się jedynie, iż podczas jego wykonywania dokonano przedmiotowych pomiarów, zaś ich wyniki i interpretację biegły lub specjalista z zakresu laserowego skanowania 3D zamieszcza w odrębnie sporządzonej opinii.

Oprócz wyżej wymienionych regulacji, na możliwość posłużenia się laserowym skanerem 3D w toku eksperymentu wskazuje także przepis art. 147 §1 k.p.k., dotyczący czynności wymagających spisania protokołu (w tym właśnie eksperymentu procesowo-kryminalistycznego – art. 143 § 1 pkt 5 k.p.k.). Zgodnie z cytowaną regulacją, przebieg tychże czynności, oprócz szczegółowego protokołu (który z mocy art. 143 § 1 k.p.k. jest warunkiem ich dowodowego wykorzystania w procesie karnym) może być utrwalony także za pomocą urządzenia rejestrującego obraz lub dźwięk, o czym należy przed uruchomieniem urządzenia uprzedzić osoby uczestniczące w czynności. Treść powołanego wyżej rozporządzenia Ministra Sprawiedliwości z dnia 2 czerwca 2003 roku w sprawie rodzaju urządzeń i środków technicznych służących do utrwalania obrazu lub dźwięku dla celów procesowych oraz sposobów ich przechowywania, odtwarzania i kopiowania zapisów nie wyłącza możliwości posłużenia się urządzeniem takim, jak laserowy skaner 3D, przy założeniu, że jest to urządzenie „utrwalające obraz“. Zgodnie bowiem z cytowanym rozporządzeniem, do utrwalania, odtworzenia i skopiowania obrazu z przeprowadzonej czynności procesowej mogą służyć wszelkie przeznaczone do tego celu urządzenia mechaniczne i elektroniczne typu analogowego lub cyfrowego oraz wszelkiego rodzaju nośniki.

Biorąc pod uwagę niedoskonałość metod wspomagających dokumentowanie czynności procesowych, takich jak sporządzenie szkiców, fotografii czy nagrań wideo, należy stwierdzić, iż możliwości jakie daje wykorzystanie techniki laserowego ska-

nowania 3D, wzorem praktyki z powodzeniem stosowanej w wielu innych krajach rozwiniętych, powinny znaleźć jak najszerze zastosowanie także w polskim wymiarze sprawiedliwości.

Niniejszą pracę autorzy traktują jako wstęp do dalszych publikacji, w których zamierzają w oparciu

o własne już doświadczenia szczegółowo przedstawić możliwości i ograniczenia metody oraz przybliżyć kwestie opłacalności jej stosowania, archiwizowania danych, doboru sprzętu i oprogramowania.

PIŚMIENNICTWO

1. Hofmański P. (red.), Sadzik E., Zgryzek K.: Kodeks postępowania karnego. Tom I. Komentarz do artykułów 1-296, Wydawnictwo C.H. Beck, Warszawa 2007, 983.

2. Gruza E., Goc M., Moszczyński J.: Kryminalistyka – czyli rzecz o metodach śledczych, Wydawnictwa Akademickie i Profesjonalne, Warszawa 2008, 185.

3. Kulicki M., Kwiatkowska-Wójcikiewicz V., Stęпка L.: Kryminalistyka. Wybrane zagadnienia teorii śledczo-sądowej, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń 2009, 456.

4. Czerw S.: Eksperyment procesowo-kryminalistyczny [w:] Kędzierski W. (red.), Technika kryminalistyczna, t. I, Wydawnictwo Wyższej Szkoły Policji w Szczytnie, Szczytno 1994, 109–114.

5. Pawelec K. J.: Metodyka pracy adwokata w sprawach wypadków drogowych, Wydawnictwo Lexis Nexis, Warszawa 2007, 200.

6. Zob. Wójcikiewicz J.: *Scientia auxilium iustitiae* (Edmonda Locarda *L'enquete criminelle et les methodes scientifique* 85 lat później) [w:] *Nauka wobec prawdy sądowej*. Księga ku czci Profesora

Zdzisława Kegła, Jaworski R., Szostak M. (red.), Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego, Wrocław 2005, 621-626.

7. Kamiński J., Koziel T., Żuchewicz K.: Pierwsze w Polsce wykorzystanie lasera w kryminalistyce, *Problemy Kryminalistyki* 1987, nr 1-3 (175), 10-22.

8. Gurgul J.: Problemy dowodowe w procesie karnym, *Problemy Praworządności* 1989, nr 4, 59-67.

9. Gurgul J.: Ocena dowodów w postępowaniu przygotowawczym, *Prokuratura i Prawo* 2001, nr 9, 131-143.

10. Schaff L.: Dowód z taśmy magnetofonowej w polskim procesie karnym, *Problemy Kryminalistyki* 1959, nr 17, 5-30.

11. Kulicki M.: Projekt kodeksu postępowania karnego a kryminalistyka [w:] *Problemy Współczesnej Kryminalistyki*, t. I, Gruza E., Tomaszewski T. (red.), Warszawa 1996, 11-25.

12. Hofmański P. (red.), Sadzik E., Zgryzek K.: Kodeks postępowania karnego. Tom I. Komentarz do artykułów 1-296, Wydawnictwo C.H. Beck, Warszawa 2007, 982.

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Krzysztof Maksymowicz
Katedra Medycyny Sądowej Akademii
Medycznej we Wrocławiu
ul. Mikulicza-Radeckiego 4
50-368 Wrocław
+(48) 71 – 784 14 62, +(48) 502-254-856,
e-mail: maks@forensic.am.wroc.pl

Małgorzata Ktys

Z rtęcią (i ...) przez stulecia* Mercury (and...) through the centuries

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UJ CM
Kierownik: prof. dr hab. n. med. M. Ktys

Rtęć ma swoją długą i wieloaspektowo fascynującą historię. Przez wieki – od starożytności aż do czasów współczesnych, metal ten, nazywany także *żywym srebrem*, pod różnymi postaciami, towarzyszył człowiekowi w zastosowaniu do różnych celów. Obecnie używa się rtęci do produkcji termometrów, barometrów, pomp próżniowych, materiałów wybuchowych. Stosuje się ją również w procesach związanych z wydobywaniem srebra i złota. Istotną rolę odgrywają związki rtęci w stomatologii, w przemyśle farmaceutycznym, w ochronie roślin.

Współczesne zastosowanie rtęci wydatnie maleje, ale historycznie rzecz ujmując archiwa pełne są materiałów dokumentujących fakty i zdarzenia w życiu pokoleń oraz ogrom wysiłku intelektualnego zmierzającego do odkrycia rzeczywistych właściwości i mechanizmów działania tej substancji. Toksyczność rtęci bowiem, polegająca na niszczeniu błon biologicznych i łączeniu się z białkami organizmu, zakłócająca w ten sposób prawidłowość przebiegu procesów biochemicznych w organizmie, została odkryta po wielowiekowych efektach swego istnienia w życiu jednostek i społeczeństw.

Przez całe stulecia rtęć występowała w pracach alchemików, w poszukiwaniu *istoty wszechrzeczy* i tzw. *kamienia filozoficznego*. W epoce wczesnonowożytnej od XVI-XIX wieku rtęci używano do produkcji luster. Związki rtęci stosowano jako lek przeciwko syfilisowi, który nękał ludzi przez ponad cztery stulecia – od wieków średnich do połowy XX wieku, do przełomu dokonanego przez odkrycie penicyliny. To niezwykle toksyczne leczenie było powodem wielu cierpień, osobistych tragedii, długofalowych zatruć prowadzących do śmierci, dramatycznych zgonów nagłych. W ostatnim półwieczu pojawiły się nawet próby wstrzykiwania do

organizmu przez osoby nie zrównoważone psychicznie metalicznej rtęci, między innymi w celach dopingu. Zatrucia masowe rtęcią miały też miejsce wielokrotnie w przeszłości, jako konsekwencja spożywania zatrutych produktów spożywczych związkami organicznymi rtęci ze środowiska naturalnego człowieka.

Mercury has a long history, fascinating in its many aspects. Through the centuries – from ancient times to the present day - the metal in its various forms, also known under the name „quicksilver“, accompanied the man and was used for diversified purposes. Today, mercury is employed in manufacturing thermometers, barometers, vacuum pumps and explosives. It is also used in silver and gold mining processes. Mercury compounds play a significant role in dentistry, pharmaceutical industry and crop protection.

The contemporary use of mercury markedly decreases, but historically speaking, the archives abound in materials that document facts and events occurring over generations and the immense intellectual effort aiming at discovering the true properties and mechanisms of mercury activity. Mercury toxicity, manifested in destruction of biological membranes and binding of the element with proteins, what disturbs biochemical processes occurring in the body, was discovered only after many centuries of the metal exerting its effect on the lives of individuals and communities.

For centuries, mercury was present in the work of alchemists, who searched for the universal essence or quintessence and the so-called philosopher's stone. In the early modern era, between the 16th and 19th centuries, mercury was used to manufacture

* Według wykładu inauguracyjnego, przedstawionego podczas XV Zjazdu Naukowego PTMSiK, Gdańsk 16-18.09.2010.

mirrors. Mercury compounds were employed as a medication against syphilis, which plagued mankind for more than four hundred years – from the Middle Ages till mid 20th century, when the discovery of penicillin became the turning point. This extremely toxic therapy resulted in much suffering, individual tragedies, chronic poisonings leading to fatalities and dramatic sudden deaths. In the last fifty years, there even occurred attempts of mentally imbalanced individuals at injecting themselves with metallic mercury, also as a performance-enhancing drug. Instances of mass mercury poisoning occurred many times in the past in consequence of eating food products poisoned with organic mercury compounds originating from the natural environment.

Słowa kluczowe:

rtęć, syfilis, terapia rtęcią, zatrucia

Key words:

mercury, syphilis, mercury therapy, poisoning

WSTĘP

Historia dowodzi, że istnieje wiele czynników kształtujących ludzką egzystencję. Analizując nękające świat choroby można wykazać, że miały one istotny wpływ zarówno na postaci historyczne, jak i na ludzkość w ogóle.

„Zaraza głód i wojna” – trzech jeźdźców Apokalipsy, obrazujących trzy klęski trapiące ludzkość od zarania jej dziejów, a za nimi na siwym koniu podążająca śmierć. Taki obraz historii ludzkości przedstawiają niektórzy historycy podejmujący tę tematykę [1].

Przez całe stulecia bowiem ludzkość ze śmiercią toczyła nierówną walkę, w której była na przegranej pozycji. Przyczyną zawsze był brak wiedzy. Na przestrzeni dziejów choroby niejednokrotnie udaremniały wielkie przedsięwzięcia, niweczyły plany, hamowały odkrycia. Im bardziej katastrofalne były skutki plag nawiedzających ludzkość, tym usilniej człowiek dążył do ich pokonania. Do końca XIX wieku, powszechnie stosowanych było wiele substancji, które w późniejszych latach zostały uznane za groźne trucizny bądź wywołujące niebezpieczne skutki uboczne.

Jednym z najpowszechniej wykorzystywanych

pierwiastków chemicznych w medycynie od czasów starożytnych do końca XX wieku była rtęć.

W niektórych rejonach świata środki farmaceutyczne na bazie rtęci stosowane są do chwili obecnej przez rozmaitych znachorów, przedkładających ludowe sposoby leczenia nad współczesną medycynę. Długą tradycję mają tabletki na przeczyszczenie (rtęć zmieszana z kredą), lek na zapalenie spojówek (tlenek rtęci) czy podrażnienie rogówek (cyjanek rtęci), substancje odkażające (chlorek rtęci), leki przeciw łuszczycy i egzemie (azotan rtęci), do zwalczania grzybicy (jodek rtęci) i zmian skórnych (mieszanka rtęci z tłuszczem, woskiem lub wazeliną).

Dążenie do osiągnięcia niebiańskiej urody istniało od zawsze, chociaż zmieniały się ideały piękna i sposoby jego osiągania. Wiadomo także od zawsze, że uroda wymaga wyrzeczeń. Słowa te w świetle wiedzy historycznej brzmią niezwykle prawdziwie, choć momentami pobrzmiwają nutą czarnego humoru. No bo jak nazwać stosowanie pudru ołowianego (tlenek ołowiu) celem utrzymania pożądanej w wiekach średnich białej, alabastrowej cery czy też wywoływanie rumieńców, będących dowodem witalności i zdrowia przez kosmetyki zawierające tlenki arsenu, powodujące po prostu pęknięcie podskórnych naczynek krwionośnych. Ileż zachodu wymagało eksponowanie błyszczących oczu, uzyskiwano to bowiem przez ich zakrapianie wyciągiem z liści lub owoców wilczej jagody (skopolamina i atropina). Niemałych starań wymagało również uzyskanie malachitowych powiek (węglan miedzi) czy namiętych krwistoczerwonych ust, do czego rekomendowano pomadę na bazie siarczynu rtęci [2, 3].

CHOROBA SEKRETNA CZYLI SYFILIS

Gdy w marcu 1493 roku Krzysztof Kolumb powracał ze swojej pierwszej podróży do Ameryki, przybijając do brzegów Portugalii, zapewne nie przypuszczał, że na pokładzie statku znajdował się jeden pasażer „na gapę”. Nazywał się on *krętek bładny* i był pasożytniczą bakterią, o spiralnym kształcie, która stała się przyczyną jednej z najbardziej uciążliwych chorób ludzkości – *syfilisu*, dzisiaj bardziej znanego jako *kiła*. Choroba jest przenoszona przeważnie drogą płciową, jakkolwiek możliwe jest zarażenie się nią przez używanie tych

samych naczyń czy też inne kontakty typu usta-usta.

Uważa się, że zwłaszcza druga wyprawa Kolumba rok później przyczyniła się do rozprzestrzenienia się choroby na kontynencie europejskim, a wkrótce po tym epidemia objęła Indie, Chiny, Japonię i w końcu resztę świata. Hiszpanie bowiem nawiązywali mnóstwo przelotnych znajomości z kobietami indiańskimi. Choroba wlokła się za wojskiem i kojarzona była z ekscesami seksualnymi żołnierzy.

Ponad 400 lat Kolumb był na przemian obwiniany i oczyszczany z zarzutów przywiezienia syfilisu do Europy, albowiem druga hipoteza głosi o pochodzeniu afrykańskim tej choroby. Jednak przeprowadzona niedawno analiza genetyczna bakterii wskazuje na to, że dzisiejszy syfilis jest bliskim kuzynem południowoamerykańskiej tropikalnej malinicy, sugerując, że choroba ma źródła właśnie w Ameryce [1].

Od 1495 roku kiła zaczęła lawinowo rozprzestrzeniać się po Europie. W XVI, XVII i XVIII stuleciu nie było na kontynencie miasta, w którym nie istniałby ten problem. Przeklinano żołnierzy obcujących z kobietami, w konsekwencji zarażających je tą kłopotliwą przypadłością. Syfilis występował pod wieloma nazwami, zależnie od ojczyzny, z której przyszedł: we Włoszech i Niemczech – jako choroba francuska, w Rosji – choroba polska, we Francji – choroba angielska lub włoska, w Holandii – choroba hiszpańska, w Turcji – choroba chrześcijan, w Japonii – choroba chińska, w Chinach – choroba kantońska, a ponadto różnie w wielu regionach Europy: *franca*, *choroba dworska*, *przydomek dworski*, *choroba sekretna*, *przymiot*, *pudendagra*, *świerzba*, *syf*, *weneria*, *katar kanalicowy*, *ospa mitosna*, *niemoc kurewników i cudzołożników* [1].

Zaraz po pojawieniu się kiły, obok powszechnej opinii głoszącej, że *syphilis* jest karą bożą, popularność zyskała teoria oparta na astrologii, głosząca, że epidemię spowodowało wzajemne nietypowe położenie ciał niebieskich. Zwolennikiem tej teorii oraz autorem nazwy choroby – syfilis był Hieronim Fracastaro – XVI-wieczny włoski filozof i lekarz, sławny i poważany autor wielu prac. Sławę przyniosła mu zwłaszcza jedna z prac: *Syphilis sive morbus gallicus* (Syfilis albo choroba francuska) opublikowana w setkach egzemplarzy w 1530 roku. Ten długi łaciński poemat o niezaprzeczalnych walorach literackich opowiada historię pasterza o imieniu *Syphilus*, który jako pierwszy człowiek miał

zachorować na tę chorobę. Miała być ona karą, jaką zesłał mu Apollo za nieposłuszeństwo. Obraził bowiem Boga Słońca, obalając jego ołtarze, w zamian zaś wystawił je królowi Alcitusowi, którego trzód pilnował. Warto może dodać, że druga nazwa choroby „kiła” (*lues*) pochodzi od łacińskiego czasownika *luere* (pokutować). Traktat o chorobach zakaźnych, jaki Fracastaro publikował 15 lat później zawiera już wiele nowoczesnych myśli. Genialnie zresztą przewidział istnienie jakichś przenośników zakażenia, nazywając je „małymi drobinami żyjącymi i niewidzialnymi” [4, 5].

Według historyków medycyny, po raz pierwszy kiłę na tak masową skalę odnotowano w armii króla Francji – Karola VIII, w 1495 roku. Wielka liczba chorych żołnierzy zmusiła króla do wycofania się i porzucenia planów podboju północnych Włoch. Wkrótce epidemia ogarnęła cały kontynent i w konsekwencji pochłonęła około 5 milionów istnień ludzkich. Wielkie epidemie bowiem, od najdawniejszych czasów miały moc przewyższającą siłę najliczniejszych armii. Zabijały setki tysięcy ludzi, kruszyły wielkie imperia, zmieniały gospodarkę i społeczeństwa w całej historii cywilizacji [1].

Kiła była problemem poważnym przez niemal 5 stuleci. Nic więc dziwnego, że choroba ta wywołała falę poszukiwań środka, który uchroniłby ludzkość przed „Prezenterem z Nowego Świata”, jak nazywano w tamtych czasach kiłę. *Krętki blade* przedostając się przez wrota zakażenia szybko rozmnażają się, doprowadzają do choroby ogólnoustrojowej. Nie leczona kiła prowadzi do uszkodzenia układu nerwowego, utraty wzroku, zaburzeń psychicznych, uszkodzenia układu krążenia, kości stawów, narządów mięsnych, w ciężkich stanach prowadzi do śmierci. W przebiegu ciąży dochodzi do zakażenia płodu.

JEJ WYSOKOŚĆ RTĘĆ

Zanim zaczęto stosować leczenie odkrytą przez noblistę Aleksandra Fleminga penicyliną, a którą po raz pierwszy w terapii syfilisu zastosował John Mahoney w roku 1943, prowadzono leczenie syfilisu metodami ówczesnie dostępnymi [1]. Najwcześniejsze sposoby terapii polegały na nacieraniu chorego sproszkowaną korą lub maścią na bazie żywicy drzewa gwajakolowego, a następnie owijaniu go w grube warstwy materiału, celem wypocenia.

Zaraz potem w życie ludzkości wkroczyła „Jej Wysokość Rtęć“, jak pisali o niej średniowieczni poeci, która zadomowiła się w społeczeństwach Europy i świata na wiele stuleci [4]. Według źródeł historycznych, do leczenia syfilisu czyli unicestwienia *krętka bladego*, po raz pierwszy rtęć zastosował Giordano Sommariva z Werony w 1496 roku, ale sławę leczenia rtęcią zyskał we Włoszech Jacopo Berengario da Capri, jakiś czas później. Wyobraźnia rodziła pomysły, specjalistów od leczenia nie brakowało. Oprócz rzeszy niewątpliwych autorytetów lekarskich ówczesnych lat, oferujących swe usługi medyczne, mnożyły się metody proponowane przez szarlatanów i znachorów. Ci ostatni mieli zresztą zasadniczą przewagę nad lekarzami, charakteryzowała ich bowiem niezwykła śmiałość działania.

Jedną z popularnych metod leczenia syfilisu w XVI i XVII wieku było nacieranie chorego maścią rtęciową. Dopełnieniem kuracji było poddawanie go działaniu wysokich temperatur poprzez sadzanie najczęściej na łaźni parowej. Przebieg takiej kuracji, w toksycznych parach rtęci trwającej tygodniami, był nieraz o wiele bardziej traumatyczny niż przebieg samej choroby. Mało tego, chory nafaszerowany rtęcią, owrzodzony, z wypadającymi zębami, musiał jeszcze płacić swoim lekarzom złotem za to, że próbowali go wyleczyć ze śmiertelnej choroby.

Pod koniec XVII wieku stosowanie rtęci wewnętrznie stało się stopniowo leczeniem komplementarnym w stosunku do metod zewnętrznych. Zalecano więc między innymi, oprócz kałesonów antywenerycznych, wysmarowanych wewnątrz maścią rtęciową, stosowanie lewatywy antywenerycznej. Asortyment preparatów doustnych na bazie rtęci w XVII i XVIII wieku był przebogaty. Wszystkie oczywiście miały stosowne certyfikaty i wszystkie były doskonałe, jak głosiły ówczesne reklamy. Oto kilka z nich :

- likwor Van Swieten (ziarenka sublimatu rozpuszczone w roztworze wody i alkoholu)
- syrop rtęciowy doktora Belleta
- pigułki Belloste'a
- balsam słoneczny i woda gwiezdna Jourdana de Pellerina
- ciastka rtęciowe tonizujące pomysłu Bru
- woda zdrowotna aptekarza Marbecka
- drażetki Keysera
- powidełko antysyfilityczne Laffectera

Wielu uczonych tamtego okresu wskazywało jednakże na toksyczność rtęci. Nic więc dziwnego, że próbowano innych sposobów. W 1779 wprowadzono na rynek „najdoskonalszy preparat“, jak głosiła reklama, a mianowicie wspomniane wyżej powidełko antysyfilityczne Laffectera, które będąc mieszaniną wyciągów roślinnych, miało posiadać cudowną moc, jednakże bez zawartości rtęci. Ostatecznie okazało się to oszustwem, albowiem pacjenci zażywający owe powidełko mieli ślinotok, będący niezaprzeczalnym dowodem zażywania rtęci [4].

Metoda leczenia rtęcią nosiła zresztą nazwę „tożnienia śliny“. Ślinotok bowiem będący efektem terapii rtęciowej był uważany za pozytywne zjawisko, gdyż „jad weneryczny“, jak twierdzili znawcy tematu, trzeba było jakoś wydaląć. Ówczesne podręczniki podawały, że przy skutecznej terapii powinno wydzielać się dziennie około 1,5 litra śliny [4, 5, 6].

Inne autorytety [6] jednakże stawiały wyżej biegunkę, wywoływaną przez stosowanie środków przeczyszczających, jakkolwiek niektórzy uważali, że ta metoda nie jest dobra dla każdego, a dla niektórych nawet mogłaby być zbyt uciążliwa, np. dla dworzaków.

Archange Leroy twórca środka na przeczyszczenie „Elixiru Leroy'a“, także autor słynnego dzieła o środkach przeczyszczających wydanego w Paryżu w 1767 roku pod tytułem *Essay sur l'Usage et les Effects de l'Ecorce du Garou*, zalecając przeczyszczenie do leczenia wszystkich chorób, pisał tak: „Upuszczanie krwi jest obrzydliwym zabiegiem. Używanie pijawek to jeden z najgroźniejszych wynalazków ludzkości. Rtęć jest wrogiem ludzi... Stosowanie diety jest nienaturalne. Istnieje tylko jedno skuteczne lekarstwo: przeczyszczenie – rozluźnić, usunąć, oczyścić, rozwolnić, wydaląć, wyczyścić, wyrzucić materiał, który podrażnia i szkodzi zdrowiu...“.

POSZUKIWANIE INNYCH FORM PREWENCJI I TERAPII

Poszukiwania innych form prewencji doprowadziły do prezerwatywy. O tym wynalazku chyba słyszał każdy, jak również można się spodziewać, że każdy wie do czego służy. Ale być może nie każdy zdaje sobie sprawę z tego, że zanim ten najstarszy środek antykoncepcyjny świata ujrzał światło dzienne w swej współczesnej lateksowej postaci musiał przejść przez szereg niezwykłych zupełnie meta-

morfoz. Jego wynalazcami byli najprawdopodobniej starożytni Egipcjanie, którzy wykazując się sporą wyobraźnią stosowali szczególnego rodzaju ozdoby celem podkreślenia swej męskości. Były wówczas wykonane z najrozmaitszych surowców – skór, bawełny, srebra, muszli ślimaka. Grecki król Minos (1200 p.n.e.) stroił swoją męskość np. w kozie pęcherze. Początki prawdziwych prezerwatyw datuje się jednakże na wiek XVI, kiedy w Europie szalała epidemia syfilisu.

Jednym z największych autorytetów z dziedziny seksualności w XVI wieku był Gabeł Fallopius [7], włoski badacz i anatom. Za jego pomysłem tysiąc ochotników przetestowało lniane woreczki nasączone solami nieorganicznymi, w tym solami rtęci. Stwierdzono, że wystarczająco skutecznie potrafiły chronić przed zakażeniem kiłą. Od tego czasu wyobraźnia podpowiadała poszerzenie asortymentu. Substratem do produkcji stały się jelita wszelkich możliwych i dostępnych do tego celu zwierząt. Wielcy tego świata jednakże, wychodząc na przeciw doznaniom estetycznym, stroili się w szlachetne jedwabie i aksamity, np. król Ludwik XIV. W XVIII-wiecznej Anglii prezerwatywy były niezwykle popularne, ale postrzegano je jako wynalazki rozpustników. Giacomo Casanova – włoski podróżnik, literat, a przede wszystkim awanturnik i uwodziciel, w swoich pamiętnikach [7] podaje wiele pouczających informacji na temat choroby, której także padł ofiarą, rekomenduje również stosowanie „angielskich surdutów” czy też „angielskich kapotów”.

Poszerzyło się też pole zastosowania tych praktycznych wynalazków. Wiele autorytetów epoki syfilisu krytykowało jednakże przydatność prezerwatywy, albowiem jak się okazało, mogła ona spełniać rolę także środka antykoncepcyjnego. Bo jak pisał jeden uczonek: „o ile ówczesna moralność jest w stanie zaakceptować ideę zabezpieczenia się *ante coitum*, to jednak w żadnym wypadku nie toleruje antykoncepcji”... A tymczasem: „...tutaj trudno byłoby oddzielić jedno od drugiego...” – konkludował inny [4].

Dramatyczne poszukiwanie leków przeciwko syfilisowi znajduje odzwierciedlenie i w archiwach Katedry Medycyny Sądowej w Krakowie, z 1906 roku [9]. Z pamiętników profesora Wachholza „Moje czasy”, redagowanych w tym okresie [10] wynika, że w Klinice Chorób Skórnych i Wenerycznych

w Krakowie testowano roztwory dimetylo- oraz dietylo rtęci, które podawano chorym na syfilis domięśniowo, w dawkach progresywnych. W efekcie tego niefrasobliwego eksperymentu, w ciągu 2-3 tygodni terapii 3 młode osoby zmarły wskutek ciężkiego zatrucia rtęcią w mechanizmie ostrego zapalenia nerek, trzy inne uległy ciężkiemu zatruciu. Sprawa była szeroko komentowana w prasie lokalnej, informowano o odszkodowaniach, jakie zostały wypłacone poszkodowanym i rodzinom ofiar.

Skuteczne leczenie choroby jest niemożliwe póki nie pozna się jej przyczyny, a w przypadku syfilisu dopiero w 1905 roku Schaudinn i Hoffman odkryli bakterię wywołującą syfilis – *krętka bladego*, którą ostatecznie nazwano *Treponema pallidum*. W latach 1906-1907 opracowano tzw. test Wassermana ujawniający obecność bakterii, nawet w fazie ukrytej choroby. Pewnego rodzaju przełom nastąpił na początku XX wieku, kiedy zastosowano ogólny antyseptyk *salwarsan* (arsenobenzen – *preparat 606*), nazwany przez jego odkrywcę Paula Ehrlicha z Frankfurtu „czarodziejskim pociskiem”, który wprowadzony do obiegu miał atakować bakterie, nie niszcząc struktury organizmu. Zastąpiony został tuż przed pierwszą wojną światową łagodniejszym w swych skutkach ubocznych *neosalwarsanem*. Ze stosowanych źródeł wiadomo, że lek ten wprawdzie nie leczył kiły, ale łagodził jej objawy [1].

Sporo czasu minęło, zanim zaniechano używania rtęci do chemioterapii, jakkolwiek wcześniej zdawano sobie sprawę z jej działań ubocznych i jej toksyczności. Pierwszym krytykiem tej metody był satyryczny poeta Ulrich von Hutten, żyjący na przełomie XV i XVI wieku [4].

Ocena skuteczności leczenia kiły rtęcią była bardzo trudna. Nie kwestionowano pomocy preparatów rtęci w leczeniu czy łagodzeniu zmian skórnych. Przebieg samej choroby poza tym nie zawsze był typowy. Rtęć ponadto wywoływała reakcję Herxheimera (lub Jarischa-Herxheimera) objawiającą się nudnościami, wymiotami, bólami mięśniowymi, bólami głowy, gorączką i dreszczami, a spowodowana była nagłym uwolnieniem substancji (antygenów) *krętka bladego*, pochodzących z zabitych działaniem zastosowanego leku drobnoustrojów.

Wprawdzie w późniejszych wiekach nie zaniechano leczenia rtęcią, ale do środowisk medycznych docierała już wiedza o jej toksyczności i zaczę-

to pracować nad mniejszymi dawkami w terapii. Kompilacyjna praca Prokscha z roku 1895 podaje listę 1121 opracowań, opublikowanych w latach 1800-1889, opisujących stosowanie rtęci do leczenia kiły, z których aż 400 dotyczy problemów toksyczności rtęci [6].

Mors siphilitica to rysunek XIX-wiecznego belgijskiego artysty nazwiskiem Felicien Rops. Przedstawia on wychudzoną, nagą postać z pałającymi oczami, stojącą w półotwartych drzwiach, symbol ofiary – artysty. W XIX stuleciu kiła nie była już chorobą żołnierzy i markietanek, ale przypadłością, na którą zapadali artyści, ludzie o nieuregulowanym statusie cywilnym, prowadzący frywolny tryb życia, charakteryzujący się wielością kontaktów nie tylko towarzyskich.

Choroba dopadła, jak donoszą stosowne źródła, Stanisława Wyspiańskiego i Kazimierza Przerwę-Tetmajera, Vincenta van Gogh'a, Nicolai Paganiniego, Roberta Schumanna, Franz'a Schuberta, Arthura Schopenhauera, Gustava Flauberta, Paul'a Gauguin'a, Ivana Groźnego, Henryka VIII, Włodzimierza Lenina i wiele innych wybitnych postaci żyjących w minionych wiekach [11, 12].

O RTĘCI DZIŚ

Od czasów, kiedy o rtęci pisano poematy minęło wiele lat. Ma ona niewątpliwie długą i fascynującą historię. Była znana w starożytności Chińczykom i Hindusom, a ślady jej stosowania znaleziono w grobach starożytnych Egipcjan. Przez wieki aż do czasów współczesnych metal ten pod różnymi postaciami towarzyszył człowiekowi w zastosowaniu do różnych celów.

Rtęć jest jedynym metalem występującym w postaci ciekłej w temperaturze pokojowej, łatwo ulatniającym się, jako bezbarwny i bezwonny gaz. W przyrodzie występuje przede wszystkim w postaci minerałów, z których najważniejszym jest cynober (HgS) i kalomel (Hg₂Cl₂).

Jedną ze szczególnych właściwości rtęci jest tworzenie amalgamatów z większością metali (poza Fe, Pt, Mn i Ni). Złoto, srebro i cyna rozpuszczają się w rtęci już w temperaturze pokojowej, pozostałe w podwyższonej. Właściwość tworzenia amalgamatów rtęci wykorzystywano od czasów najdawniejszych wieloaspektowo [13, 14].

Historycznie rzecz ujmując, przez całe tysiąclecia zastosowanie rtęci było znane w pracach alche-

mików [15], którzy w poszukiwaniu *istoty wszechrzeczy* i tzw. *kamienia filozoficznego* – *lapis philosophorum*, czyli substancji pozwalającej na przemianę innych ciał w złoto i jednocześnie ich pomnożenie dokonywali po drodze innych sztuczek, aby przeżyć i zaimponować gawiedzi i władcom. Rtęć bowiem przez wieki była kosztownym specyfikiem nie tylko ze względu na fascynujące właściwości płynnego metalu, ale przede wszystkim jako substrat do produkcji podstawowego leku przeciwko syfilisowi.

Jedną z prostych sztuczek alchemików było „pomnażanie rtęci“, polegające na dyskretnym wysypywaniu do retorty reakcyjnej z rtęcią, najczęściej z rękawa alchemika-czarownika, przy ciągłym mieszaniu, sproszkowanego ołowiu i bizmutu. W wyniku tego zabiegu otrzymywano masę „rtęci“ o 25-30% większą, gdyż powstawał amalgamat. Cała procedura odbywała się w atmosferze magii. Alchemicy dorabiali się w ten sposób ogromnych fortun, gdyż ołów i bizmut były metalami tańszymi. Znany powszechnie z różnych sypialnianych sztuczek Casanowa [8] był też specjalistą od pomnażania rtęci, dorabiającym w ten sposób na życie. Amalgamat wygląda podobnie jak rtęć i jest płynny w temperaturze pokojowej. Wykazuje wprawdzie inną rozszerzalność cieplną i wobec tego może np. „oszukiwać“ w termometrach, ale jako lek też może być podobnie skuteczny. Zarówno ołów jak i bizmut, to także bardzo silne i skuteczne trucizny, wykazujące analogiczny mechanizm działania jak rtęć [14].

Wiedza o rtęci i jej związkach nieorganicznych (chlorki, azotany, siarczany) sięga czasów dawniejszych, ale o jej zdolności do tworzenia połączeń metaloorganicznych np. metylortęci, dimetylortęci czy fenylortęci jest mniej odległa. Jony rtęci mogą tworzyć wiele trwałych kompleksów z białkami i innymi związkami. Ta cecha decyduje o mechanizmie działania toksycznego, który wiąże się z powinowactwem rtęci do grup sulfhydrylowych, karboksylowych, aminowych i aminokwasów. W konsekwencji dochodzi do inhibicji biochemicznych funkcji tych związków w organizmie, niszczenia błon biologicznych i zakłócenia przebiegu procesów biochemicznych w organizmie [13, 14].

Do organizmu człowieka rtęć może przedostać się trzema sposobami: z pożywieniem (alkilowe związki rtęci), poprzez układ oddechowy (pary rtęci) oraz poprzez skórę (pary rtęci). Błona komór-

kowa jest pierwszym miejscem atakowanym przez rtęć i inne metale ciężkie, nerki są narządem o największej kumulacji rtęci, niezależnie od jej postaci, układem krytycznym w wyniku przewlekłego narażenia na pary rtęci jest ośrodkowy układ nerwowy. Rtęć i jej związki łatwo również przenikają przez łożysko, stanowiąc duże zagrożenie dla płodu. Jedną z najwcześniejszych zmian biochemicznych przed wystąpieniem objawów fizjologicznych w zatruciach metylortęcią jest zaburzona biosynteza białka.

Zatrucie przewlekłe małymi ilościami rtęci powoduje początkowo niespecyficzne objawy takie jak ból głowy i kończyn, ogólne osłabienie. W późniejszym okresie dochodzi do zapalenia błon śluzowych przewodu pokarmowego, wypadania zębów i wystąpienia charakterystycznej niebiesko-fioletowej obwódki na dziąsłach. Obserwuje się postępujące uszkodzenia OUN takie jak zaburzenia snu, upośledzenie koncentracji i pamięci, zmiany osobowości. Pojawiają się drżenia rąk i nóg, niezborność chodu, zmienia się charakter pisma („drżące pismo“).

Ostre zatrucie parami rtęci wywołuje zapalenie płuc i oskrzeli prowadzące zazwyczaj do śmiertelnej niewydolności oddechowej. Z innych objawów można wymienić krwotoczne zapalenie jelit, niewydolność krążenia, zapalenie błony śluzowej jamy ustnej, uszkodzenie nerek. Spożycie związków rtęci powoduje ślinotok, wymioty, krwawą biegunkę, martwicę błony śluzowej jelit, uszkodzenie nerek [14].

ZATRUCIA W RÓŻNYCH ASPEKTACH

Zatrucia rtęcią i jej związkami miały miejsce wielokrotnie, począwszy od najdawniejszej do nieodległej przeszłości.

Według Rasmussena [3] mnisi w okresie Średniowiecza umierali z powodu zatruc rtęcią. Koncepcję tę wyraził na podstawie wyników analizy kości mnichów pochowanych na sześciu duńskich cmentarzach. Jedna z hipotez mówi, że mogli oni zatruc się rtęcią przy okazji przygotowywania leków rtęciowych, ale także przy przepisywaniu ksiąg, w których malowali ozdobne litery czerwonym atramentem produkowanym na bazie cynobru (HgS). Rasmunssen przestrzega nawet dziś przed dotykaniem starych pergaminów.

W tym miejscu przypomina się znana wszystkim zapewne scena z *Imienia Róży* Umberto Eco, kiedy ślinienie palców podczas przewracania stron dopro-

wadziło do śmierci jednego z bohaterów. Co prawda w jego przypadku chodziło o zatrute paginy, ale istnieje przecież pewne podobieństwo przyczyny i skutku.

Dla czytelników *Przygód Alicji w krainie czarów* Lewisa Carolla, postać podenerwowanego i zabawnego w swym roztargnieniu człowieka, nieustannie spoglądającego na zegarek i obawiającego się ścięcia z rozkazu królowej, przywołuje popularne brytyjskie powiedzenie „szalony jak kapelusznik“. Geneza tej postaci i owego powiedzenia bierze się z wykonywanej pracy kapelusznika na przełomie XVIII i XIX wieku, produkującego ten nieodłączny element ówczesnego stroju – kapelusz. Kapelusznicy w tamtych czasach cierpieli na schorzenia somatyczne spowodowane zatruciem drobinami rtęci, obecnymi w filcowym pyłe, gdyż do produkcji filcu stosowano azotan rtęci i słaby kwas nieorganiczny [3]. Na zatrucie rtęcią silnie narażeni byli również złotnicy, gdyż cały proces złocenia wymagał pracy z parami tego metalu. Także producenci luster obcuający z dużymi stężeniami par rtęci chorowali często i umierali w młodym wieku [3].

Jedną z grup narażonych na zatrucia rtęcią w poprzednich stuleciach byli także oficerowie śledczy, zwłaszcza ci, którzy bezpośrednio poszukiwali śladów na miejscu zbrodni. Daktyloskopia była wtedy jeszcze w powijakach, a do omiotania odcisku używano proszku o składzie rtęci i kredy, co powodowało narażenie na zatrucie rtęcią. Objawy zatrucia rtęcią, występujące u detektywów pod postacią zaburzenia równowagi psychicznej, uważano za skutek wykonywania trudnej pracy na miejscach zbrodni [3].

Zatrucia masowe rtęcią miały miejsce także w nieodległej przeszłości, w konsekwencji zanieczyszczenia środowiska, a następnie spożywania zatrutych produktów spożywczych.

Źródła emisji rtęci do środowiska to:

- naturalna emisja (wyziewy wulkaniczne i podwodne)
- ingerencja człowieka.

Udział rtęci emitowanej w wyniku działalności człowieka ocenia się na około 30-60%, co w decydujący sposób wpływa na zakłócenie ekosystemu, tym bardziej, że emisja ta skoncentrowana jest na stosunkowo małych obszarach [16].

Stosowanie rtęci metalicznej celem wytworzenia amalgamatu ze złotem w kopalniach złota stanowi powszechny problem zanieczyszczenia środowiska

naturalnego w wielu regionach świata [14]. Rtęć w obiegu atmosferycznym zależy od lotności związków rtęci wg sekwencji: $Hg > Hg_2Cl_2 > HgCl_2 > HgS > HgO$

Objętość natomiast odparowanej rtęci podwaja się przy wzroście temperatury o każde 10°C.

Pary tego metalu dostają się do środowiska wodnego, są metylowane przez mikroorganizmy i w ten sposób powstaje związek metaloorganiczny – (di)metylortęć. Metylacja rtęci znacznie zwiększa zdolność pokonywania bariery biologicznej, w związku z czym jest to główna postać rtęci, która kumuluje się w organizmach żywych. Metylortęć jest rozpuszczalna w tłuszczach, a zarazem bardzo toksyczna i trwała. Mikroorganizmy, głównie bakterie i grzyby biorą znaczny udział w przeobrażeniach związków rtęci, powodując, że jedne formy przechodzą w drugie, co w decydujący sposób wpływa na obieg tego metalu w różnych środowiskach [14].

Rtęć dostaje się do wód:

- z opadów atmosferycznych
- z wypłukiwania Hg z gleb
- ze spływem wód gruntowych i powierzchniowych
- ze ściekami komunalnymi i przemysłowymi
- z transportu wodnego.

Szacuje się, że do Bałtyku dostaje się około 90 ton Hg/rok [16].

W latach 1953-1970 w Japonii nad Zatoką Mianamata doszło do największego masowego zatrucia metylortęcią ludności tam zamieszkującej spożywającej ryby. Przyczyną było odprowadzanie ścieków zawierających rtęć z fabryki aldehydu octowego koncernu „Chisso“, która utworzyła w organizmach ryb związki alkilowe. Na skutek spożywania ryb zanotowano poważne zatrucia u 1000 osób, z czego 200 zmarło.

W Iraku w latach 1971-1972 doszło do zatrucia 6530 osób, z czego 459 zmarło wskutek spożycia chleba z wypieku, do którego użyto mąki z ziarna siewnego zaprawionego organicznymi związkami rtęci [16].

Normy określające największe dopuszczalne ilości rtęci w żywności ustalone w różnych państwach są różne. I tak np. Szwecja i Japonia dopuszcza zawartość w 1 kg żywności 1 mg Hg, Norwegia 1,5 mg Hg, a Polska 0,5 mg Hg.

Należy także podkreślić, że współczesna wiedza nie pozwala do końca i z całą pewnością stwierdzić

czy przyjęte normy są właściwe, zwłaszcza że skutki genetyczne mogą się objawiać dopiero w dalszych pokoleniach.

Rośliny pobierają rtęć z gleby, jak również bezpośrednio z powietrza. Najczęstszy jej zakres w warzywach i owocach mieści się w granicach 5-30 ppb. Do najbardziej wrażliwych na nadmiar rtęci należą buraki cukrowe, kukurydza i róże.

Wchłanianie rtęci przez rybę odbywa się przez skrzela oraz z pokarmem. Okres półtrwania rtęci w organizmie ryb wynosi nawet kilkaset dni, stąd zawartość rtęci w rybach większych jest większa, najwięcej szkodliwych związków zawierają ryby stojące na szczycie łańcucha pokarmowego, czyli drapieżne, u których stężenie metylortęci może przekroczyć nawet 1 mg/kg masy ciała. Do nich należą m.in. rekin, miecznik, tuńczyk, halibut, szczupak. Zawartość rtęci zależy ponadto od wieku ryby, im starsza tym większe prawdopodobieństwo zanieczyszczenia. Zależy wreszcie od obszaru geograficznego, jak można się spodziewać, ryby z czystych wód oceanicznych są raczej mniej toksyczne [16].

Współczesne zastosowanie rtęci obejmuje: produkcje termometrów, barometrów, manometrów, pomp próżniowych, materiałów wybuchowych, wydobywanie srebra i złota. Związki rtęci ciągle znajdują zastosowanie w medycynie, w tym jako plombi dentystyczne. Związki rtęci są obecne w ściekach komunalnych i mogą stanowić realne zagrożenie środowiska naturalnego człowieka [13, 14].

Współczesne widzenie zagrożeń prowadzi do zmian w regulacjach prawnych. Zgodnie z dyrektywami Komisji Europejskiej od 3 kwietnia 2009 rtęć odchodzi do lamusa historii. Termometry rtęciowe i aparaty do mierzenia ciśnienia są powoli wycofywane ze sprzedaży i mają być zastąpione urządzeniami elektronicznymi [3].

Amalgamaty dentystyczne z zawartością rtęci są także pod ostrzałem krytyki. Jakkolwiek nie ma konsensusu, co do kategorycznie negatywnej oceny tego artykułu stosowanego szeroko od 1820 roku, to istnieją silne naciski „branżowe“ zastępowania tych materiałów innymi. Z innych przytaczanych przeciwko stosowaniu amalgamatów dentystycznych argumentów są obawy emisji rtęci w trakcie przygotowywania odpadów z amalgamatów po kremacji zmarłych osób [18].

Wydawałoby się, że na temat rtęci wiemy już tak wiele, że nie powinniśmy się więcej już niczego

spodziewać w tym obszarze badawczym. W piśmiennictwie bowiem znajdują się liczne doniesienia na temat zatruc rtęcią w postaci par (zatrucia ostre i przewlekłe, najczęściej zawodowe) oraz solami tego metalu, zarówno organicznymi jak i nieorganicznymi. Zupełną rewelacją są natomiast doniesienia o przypadkach pozajelitowego podania rtęci metalicznej. Związane są one na ogół z próbami samobójczymi lub dotyczą osób chorych psychicznie [19, 20].

Niezwykle interesujący przypadek został opisany w polskim piśmiennictwie, niespotykana była też motywacja wielokrotnego wstrzykiwania sobie dożylnie rtęci, podyktowana chęcią zwiększenia wydolności fizycznej 24-letniego mężczyzny [21, 22]. Paradoksalnie, owo przyjmowanie rtęci zostało wykryte dopiero po 2 latach uprawiania tego nadzwyczajnego proceduru. Mężczyzna ten jednakże podejmował kilkakrotnie próby samobójcze, wreszcie zakończył życie dokonany samobójstwem przez powieszenie, po 11 latach od pierwszego wstrzyknięcia rtęci metalicznej. To niezwykle „znalezisko sekcyjne“ jak to określono, wykazano w narządach pobranych w czasie jego sekcji zwłok [23].

Wcześniej przypadki stosowania rtęci przez sportowców do celów dopingowych opisano w Ameryce Południowej [24, 25].

JAKIE SĄ PERSPEKTYWY?

Na przestrzeni wieków, przede wszystkim jednak w wiekach średnich, rtęci poświęcono wiele traktatów filozoficznych, przewija się również przez poematy i nadal jest ona w sferze zainteresowania

nie tylko naukowców, ale i zwykłych zjadaczy chleba. Pobudziła nawet skutecznie wyobraźnię literacką Amelie Nothomb, autorki kryminału pt. „Rtęć“ [26]. W tytule książki, pisanego wielką literą *Rtęć*, autorka dopatrzyła się boga postać – *Merkurego*, któremu powierzyła w fabule literackiej ważne zadania do wykonania...

Współcześnie rtęć jest przedmiotem doniesień w aspekcie efektów cywilizacji. Dzisiaj nikt rozsądny nie stosuje rtęci do leczenia, ale zatruc nie możemy wykluczyć, bo wszyscy w pewnym stopniu jesteśmy lub możemy być przypadkowymi ofiarami cywilizacji, cudzej wyobraźni lub jej braku.

Jak dowodzi historia, w wielu sytuacjach na przestrzeni wieków, działania człowieka mające na celu poprawę zdrowia i jakości życia mogły doprowadzić i doprowadzały do skutków zgoła odwrotnych. Stąd błędny wniosek, że współczesne czasy wolne są od zagrożeń i wszystko co miało się zdarzyć w kwestii chorób i zatruc masowych, już się zdarzyło. Nie można jednakże wykluczyć, iż za kilkadziesiąt lat ktoś będzie się dziwił, jakim cudem nie powymieraliśmy wskutek rozmaitych zagrożeń chemicznych, czy efektów toksyczności otaczających nas substancji, których szkodliwość zostanie dopiero odkryta.

Wobec lęków towarzyszących rozwojowi cywilizacji jest jeszcze inne wyjście: można porzucić jej zdobycze i zaszyć się w buszu, obcując wyłącznie z przyrodą. O ile oczywiście znajdziemy takie miejsce i opanujemy lęk przed toksycznymi roślinami oraz jadowitymi zwierzętami.

Ale to jest już całkiem inna historia...

PIŚMIENICTWO

1. Cartwright F. F., Biddis M.: Niewidoczny Wróg. Zarazy i Historia. Wyd. Wołoszański, Warszawa, 2005.

2. Emsley J.: The elements of murder, Oxford University Press, Oxford 2005.

3. <http://unhallowed.pl/?p=814>.

4. Quétel C.: Niemoc z Neapolu czyli historia syfilisu, Wyd. Ossolineum, Warszawa, 1991.

5. Oriel J. D.: The scars of Venus: A history of Venereology, London, Springer-Verlag 1994

6. O'Shea J. Muzyka i Medycyna, PWM 1998.

7. http://en.wikipedia.org/wiki/Gabriele_Fallopio

8. Giacomo Casanova. Histoire de ma vie, Brockhaus, Plon 1960. Historia mojego życia 12 tomów, Lipsk, 1826-1838 pod nazwą Pamiętniki, pełne wydanie Paryż, 1960-1962; polskie przekłady fragmentów 1921, 1961.

9. Protokoły sekcyjne – Archiwum Katedry Medycyny Sądowej UJ CM rok 1906.

10. Wachholz L.: „Moje czasy“, Maszynopis – Biblioteka Katedry Medycyny Sądowej UJCM. 1.

11. Franzen C.: Syphilis in composers and musicians – Mozart, Beethoven, Paganini, Schubert, Schuman, Smetana, Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2008, 27, 1151-1157.

12. <http://en.wikipedia.org/wiki/Syphilis>

13. Seńczuk W.: Toksykologia, PZWL, Warszawa 1999.
14. Ballantyne B., Marrs T. C., Syversen T. (Ed.): General and Applied Toxicology Macmillan Reference LTD, London, 1999. Chapter.
15. Antoszewski R.: Dziwy i dziwadła, Cinderella Books, Warszawa, 2001.
16. Szykowska M. I.: Kontrolowane stężenia rtęci w środowisku, Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej Politechniki Łódzkiej, Biuletyn, Łódź 2003.
17. Pach J. (red.): Zarys Toksykologii Klinicznej, Wyd. UJ Kraków, 2009, 473-492.
18. Derek R.: Amalgamat, ryzyka, korzyści i zasady ostrożności, Stomatologia w oparciu o dowody, 2008, 9,2.doi:10.1038/sj.ebd.6400556.
19. Givica-Perez A., Santana-Montesdeoca J. M., Diaz-Sanchez M., Martinez-Lagares F. J., Castaneda W.R., Deliberate, repeated self-administration of metallic mercury injection: case report and review of the literature. *European Radiology*: 2001, 11/8:1351-1354.
20. McFee R. B., Caraccio T. R.: Intravenous mercury injection and ingestion: clinical manifestations and management, *Journal Of Toxicology – Clinical Toxicology*, 2001, 39/7, 733-738.
21. Chodorowski Z., Anand JS. Wielokrotne dożylnie wstrzyknięcia rtęci metalicznej, *Przeg. Lek.* 2002, 59/4-5, 377-378.
22. Chodorowski Z., Anand J. S.: Dwa przypadki dożylnego wstrzyknięcia rtęci metalicznej u osób uzależnionych od alkoholu, *Przeg. Lek.* 2000, 57/10, 585-587.
23. Konopka T., Nalepa P., Rzepecka-Woźniak E.: Wieloletnie przeżycie po dożylnym wstrzyknięciu rtęci w celach samobójczych, *Arch. Med. Sąd. Krym.*, 2006, 56, 267-270.
24. Celli B., Khan M.: Mercury embolization of the lung. *N. Engl. J. Med.* 1976, 295, 883.
25. Kern F., Condo F., Michel S.: Mercury granuloma with systematic absorption. *JAMA*, 1972, 222, 88.
26. Nothomb A.: *Rtęć*. Warszawskie Wydawnictwo Literackie MUZA SA, Warszawa 2003.

Ireneusz Sołtyszewski

Akredytacja laboratoriów sądowych

Accreditation of forensic laboratories

Z Katedry Kryminalistyki i Medycyny Sądowej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. B. Młodziejowski

Decyzją Ramową Rady (Unii Europejskiej) laboratoria genetyczne, wykonujące badania na rzecz organów ścigania i wymiaru sprawiedliwości, mają obowiązek uzyskania certyfikatu akredytacji na zgodność z normą z PN EN ISO/IEC 17025:2005. Akredytacja laboratorium jest oficjalnym potwierdzeniem kompetencji do przeprowadzenia badań, uznaniem wiarygodności, bezstronności i niezależności w działaniu. Jest także dowodem na ustanowienie, wdrożenie i utrzymywanie systemu zarządzania właściwego dla zakresu jego działalności. W artykule przedstawiono podstawy prawne akredytacji, procedurę uzyskania certyfikatu akredytacji i wybrane elementy systemu zarządzania.

According to the framework decision of the European Union Council, genetic laboratories which perform tests for the benefit of the law enforcement agencies and the administration of justice are required to obtain a certificate of accreditation testifying to compliance with the PN EN ISO/IEC 17025:2005 standard. The certificate is the official confirmation of the competence to perform research, an acknowledgement of credibility, impartiality and professional independence. It is also the proof of establishment, implementation and maintenance of an appropriate management system. The article presents the legal basis for accreditation, the procedure of obtaining the certificate of accreditation and selected elements of the management system.

Słowa kluczowe:

norma PN EN ISO/IEC 17025 :2005,
akredytacja, UE

Key words:

PN EN ISO/IEC 17025:2005 standard,
accreditation, EU

WSTĘP

Decyzja Ramowa Rady (Unii Europejskiej) nr 2009/905/WSiSW z 30 listopada 2009 roku stwarza obowiązek uzyskania akredytacji przez dostawców usług kryminalistycznych wykonujących czynności laboratoryjne. Celem tej decyzji jest zapewnienie, aby wyniki badań laboratoryjnych, prowadzonych przez akredytowanych dostawców usług kryminalistycznych, w jednym państwie członkowskim były uznawane przez organy ścigania i wymiaru sprawiedliwości w innym państwie UE. Takie podejście wynika z potrzeby ustanowienia wspólnych standardów dla dostawców usług kryminalistycznych na obszarze Unii Europejskiej. Ustawodawca wskazał, że „...akredytacja daje niezbędne gwarancje, że czynności laboratoryjne prowadzone są zgodnie z właściwymi normami międzynarodowymi, zwłaszcza EN ISO/IEC 17025”. Należy podkreślić, że adresatem wspomnianej Decyzji jest każdy podmiot zarówno publiczny jak i prywatny, wykonujący kryminalistyczne czynności laboratoryjne (badania genetyczne i daktyloskopijne) na wniosek właściwego organu ścigania lub właściwego organu sądowego. Ustawodawca zdefiniował czynność laboratoryjną jako każde działanie podejmowane w laboratorium związane z ujawnieniem i zabezpieczeniem śladów na obiektach, badaniem, analizą i interpretacją w celu opracowania opinii przez biegłego. Należy zaznaczyć, że wszelkie działania prowadzone poza laboratorium nie są przedmiotem wspomnianej regulacji, dotyczy to np. oględzin miejsca zdarzenia. Biorąc pod uwagę potrzebę dostosowania się do nowych przepisów wprowadzono następujące terminy wejścia w życie decyzji: dla laboratoriów genetycznych – 30 listopada 2013 roku, a dla laboratoriów wykonujących badania daktyloskopijne – 30 listopada 2015 roku [1].

PODSTAWY PRAWNE AKREDYTACJI

Akredytacja (franc. *accréditer* – upełnomocnić) jest oficjalnym potwierdzeniem kompetencji laboratorium do przeprowadzenia badań, uznaniem wiarygodności, bezstronności i niezależności w działaniu [2]. Jest także dowodem na ustanowienie, wdrożenie i utrzymywanie systemu zarządzania właściwego dla zakresu jego działalności. System akredytacji funkcjonuje w oparciu o normy prawne, jest niezależny i bezstronny i jako taki nie podlega zasadom konkurencji (w każdym kraju jest tylko jedna jednostka akredytująca). Co bardzo ważne, akredytacja jest dobrowolna, natomiast warunek jej posiadania przez laboratorium jest wymaganiem klienta. Takim szczególnym klientem jest regulator i w sytuacji, kiedy wymaganie posiadania akredytacji w określonej dziedzinie jest wymaganiem prawnym, mówimy o obszarze regulowanym. Oczywiście taka regulacja nie oznacza, że laboratorium nie może wykonywać badań, jeżeli nie ma akredytacji. Natomiast wykorzystanie wyników badań do działań określonych w regulacji prawnej może mieć miejsce tylko wówczas, kiedy zostały one wykonane w laboratorium, którego zakres akredytacji obejmuje te badania. Zasady akredytacji określają międzynarodowe normy i wytyczne, ustalające wymagania zarówno dla jednostek akredytujących, jak i dla jednostek (laboratoriów) podlegających akredytacji. Uzyskanie certyfikatu akredytacji świadczy o tym, że akredytowane laboratorium zostało ocenione według tych norm i wytycznych. Akredytacja jest udzielana przez jednostki akredytujące i potwierdzana certyfikatem akredytacji określającym również zakres badań objętych akredytacją. W Polsce krajową jednostką akredytującą będącą państwową osobą prawną jest Polskie Centrum Akredytacji (PCA), nad którym nadzór sprawuje minister właściwy do spraw gospodarki [3]. Jednostki akredytujące w krajach UE utworzyły organizację zrzeszającą krajowe jednostki akredytujące (European Cooperation for Accreditation – EA). Wielostronne Porozumienie EA (EA-MLA) zapewnia, że kompetencje wszystkich laboratoriów są oceniane zgodnie z tymi samymi zasadami, a certyfikaty i sprawozdania wydawane przez organizacje akredytowane przez członków EA są jednakowo wiarygodne. Należy tu podkreślić, że Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) NR 765/2008

z dnia 9 lipca 2008 roku ustanawiające wymagania w zakresie akredytacji i nadzoru rynku odnoszące się do warunków wprowadzania produktów do obrotu i uchylające rozporządzenie (EWG) nr 339/93 uregulowało w sposób jednoznaczny miejsce i rolę EA dotyczącą akredytacji i jej traktowania w UE [4].

Należy też zaznaczyć, że wymagania dotyczące systemu zarządzania zawarte w rozdziale 4 normy ISO/IEC 17025:2005 zostały zapisane w sposób odpowiedni do specyfiki działania laboratorium i są zgodne z zasadami określonymi w normie ISO 9001:2008 [5]. Powyższy fakt pozwala na wyciągnięcie dosyć oczywistego wniosku, że laboratorium powinno dążyć do uzyskania akredytacji bez „etapu pośredniego” jakim jest uzyskanie certyfikatu normy ISO 9001:2008, co dosyć często proponują różnego rodzaju konsultanci.

W odniesieniu do laboratoriów hemogenetyki sądowej, akredytacja udzielana jest na zgodność z PN EN ISO/IEC 17025:2005 [6]. Spełnienie przez laboratorium wymagań normy oznacza, że laboratorium posiada kompetencje techniczne oraz system zarządzania, które są niezbędne dla zapewnienia wiarygodnych wyników badań. Należy podkreślić, że akredytacja jest procesem, który może funkcjonować tylko w oparciu o zaangażowanie personelu oraz zapewnienie odpowiednich środków i zasobów. W oparciu o tę normę powstało szereg dokumentów, które odnoszą się do laboratoriów wykonujących badania na potrzeby organów ścigania i wymiaru sprawiedliwości. Istotnym dokumentem jest przewodnik dla laboratoriów sądowych opracowany przez International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) – organizację, której członkiem jest również PCA [7]. Z kolei Europejskie Stowarzyszenie Instytutów Nauk Sądowych (ENFSI) powołało specjalny komitet QCC (Quality and Competence Committee), który zajmuje się problematyką systemu zarządzania jakością. Interpol wydał instrukcję nt. wymiany danych DNA, w której stwierdzono między innymi „...aby zwiększyć optymalnie korzyści płynące z zastosowania wyników profilowania DNA, należy zdefiniować światowe standardy profilowania, a także zagadnienia związane z zapewnieniem jakości...” [8].

AKREDYTACJA – POTENCJALNE KORZYŚCI I OGRANICZENIA

Laboratoria, które podejmują się wdrożenia i utrzymania systemu zarządzania spodziewają się uzyskać wymierne korzyści, do których można zaliczyć przede wszystkim:

- spełnienie wymagań zawartych w prawodawstwie polskim i wspólnotowym,
- międzynarodowa akceptacja wyników badań,
- potwierdzenie kompetencji do wykonywania badań (większą konkurencyjność),
- optymalizacja procesów w sferze organizacji i badań (np. ograniczenie kosztów),
- podnoszenie kwalifikacji pracowników (np. zwiększenie wydajności),
- pozytywny wizerunek i prestiż laboratorium.

Z akredytacją wiąże się także pewne ograniczenia i koszty. Przede wszystkim pracownicy muszą podporządkować się określonym rygorom (np. przestrzegać procedur postępowania w ramach przyjętego systemu zarządzania, sprawować stały nadzór nad sprzętem pomiarowym i badawczym). Pewnym problemem może być również, w przypadku szkół wyższych, rozdzielenie funkcji badawczych laboratorium od zajęć dydaktycznych. Utrzymanie systemu zarządzania wiąże się też z pewnymi kosztami ponoszonymi przez laboratorium, np. wynikające z uczestnictwa w badaniach biegłości i porównaniach międzylaboratoryjnych. W okresie ważności akredytacji laboratorium wnosi do PCA opłatę z tytułu: uczestnictwa w krajowym systemie akredytacji i za oceny związane z nadzorem nad akredytowanym podmiotem. Nie zawsze zysk finansowy uzyskany z badań prowadzonych w laboratorium pokrywa te wydatki. Jednak wdrożenie i trzymanie systemu zarządzania niewątpliwie podnosi prestiż laboratorium wśród potencjalnych klientów [9].

ZARYS PROCEDURY AKREDYTACJI

W procesie akredytacji ocenie poddawane są tylko te obszary działania laboratorium, które są zawarte we wniosku skierowanym do PCA. W stosunku do pozostałych obszarów działania wnioskodawcy ocenia się je w takim stopniu, by uzyskać pewność, że nie wpływają one negatywnie na spełnienie wymagań akredytacyjnych [10]. Należy zwrócić uwagę, że laboratorium powinno precyzyj-

nie określić zakres swojej działalności przy uwzględnieniu dziedziny badań oraz wykorzystywanych metod i procedur. Ocena zakresu akredytacji stanowi główny element procesu akredytacji i można ją określić jako zbiór działań przeprowadzanych przez jednostkę akredytującą w celu zapewnienia, z odpowiednim stopniem zaufania, że laboratorium ma kompetencje do realizacji wiarygodnych usług w określonym zakresie [11]. Składowymi oceny są zawsze: przegląd dokumentacji, ocena na miejscu prowadzona w siedzibie laboratorium oraz obserwacje usług prowadzonych w rzeczywistych warunkach. Przegląd dokumentacji laboratorium obejmuje następujące elementy:

- politykę jakości, która opisuje strategię laboratorium, dotyczącą działania, rozwoju i doskonalenia systemu zarządzania. Zawiera deklaracje kierownictwa dotyczące stosowania wymagań norm, prowadzenia ciągłego doskonalenia, przeznaczenia niezbędnych dla rozwoju systemu zasobów, identyfikacji oraz spełniania potrzeb i oczekiwań klientów oraz cele jakościowe, postawione w ramach systemu zarządzania

- księgę jakości i procedury ogólne, które przedstawiają zasady funkcjonującego systemu zarządzania, odpowiedzialności i metody działania. Jest to swoisty przewodnik po systemie zarządzania, w którym znajduje się między innymi deklaracja polityki jakości, struktura organizacyjna laboratorium, zakres odpowiedzialności i uprawnień przypisanych personelowi, ogólne metody i procedury zapewnienia jakości, działań korygujących w przypadku wykrycia nieprawidłowości w badaniach

- procedury dotyczące działalności technicznej, obowiązujące w laboratorium, przekazywanie informacji, metody przygotowania próbek do badania, wypełniania dokumentacji badawczej

- instrukcje techniczne zawierające szczegółowe wytyczne postępowania

- zapisy potwierdzające spełnienie wymagań.

Ocena na miejscu obejmuje zbieranie dowodów, przez zespół oceniający, i polega na zadawaniu pytań, prowadzeniu rozmów z personelem, analizę dokumentów i zapisów oraz obserwację praktycznych działań w obszarze objętym zakresem oceny. Laboratorium powinno w trakcie takiej obserwacji przedstawić obiektywne dowody potwierdzające swoje kompetencje techniczne w tym obszarze. Należy podkreślić, że warunkiem udzielenia akredytacji

przez PCA jest pozyskanie przez zespół oceniający dowodów z oceny uzasadniających dostateczne zaufanie do kompetencji laboratorium w zakresie wnioskowanym do akredytacji lub w zakresie posiadanej akredytacji (dotyczy ocen w nadzorze) i w ślad za tym pozytywna rekomendacja zespołu oceniającego potwierdzająca, że wnioskujące laboratorium spełnia wszelkie wymagania akredytacyjne [12], w tym wymagania wynikające z PN-EN ISO/IEC 17025:2005.

WYBRANE ASPEKTY ZARZĄDZANIA

Wymagania normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005 są uniwersalne i odnoszą się do każdego laboratorium niezależnie od jego wielkości, metod używanych w badaniach oraz struktury tzn. czy laboratorium jest jednostką samodzielną, czy też jest częścią większej struktury, np. uczelni wyższej. Laboratorium powinno stosować metody badań gwarantujące spełnienie wymagań klienta. W związku z powyższym metody i procedury badawcze powinny być udokumentowane, z podaniem źródła ich pochodzenia (instrukcje, zalecenia, normy, zwalidowane metody własne, literatura). Laboratoria mogą również stosować własne metody badawcze, jeżeli są one odpowiednie do przewidywanego zastosowania i zostały wcześniej zwalidowane. Ponadto laboratoria zobowiązane są do prowadzenia dokładnych zapisów z otrzymanych wyników, procedury zastosowanej do walidacji oraz stwierdzenia, czy dana metoda jest adekwatna do zamierzonego zastosowania [13].

Jednym z istotnych elementów, powiązanych ze stosowanymi metodami badawczymi, jest szacowanie niepewności pomiaru. Polega to na oszacowaniu przedziału, wewnątrz którego znajduje się wartość prawdziwa wielkości mierzonej. Szacowanie może być oparte na pomiarach statystycznych (w oparciu o odchylenie standardowe serii pomiarów) lub doświadczeniu personelu, specyfikacji wykorzystywanego wyposażenia pomiarowego i badawczego, stosowanych odczynników, wyników kalibracji, kontroli wewnętrznej i zewnętrznej. W pewnych przypadkach charakter metody badawczej może uniemożliwić, z różnych powodów, obliczenie niepewności z wykorzystaniem ścisłych zasad metrologicznych i statystycznych. W tych przypadkach laboratorium powinno zidentyfikować wszystkie

składniki niepewności, oszacować je oraz zapewnić, że sposób przedstawiania wyników nie daje błędnego wrażenia odnośnie niepewności [6].

Generalną zasadą obowiązującą laboratoria posiadające akredytację jest, aby samodzielnie wykonywały badania w ramach posiadanego zakresu akredytacji. Tylko w wyjątkowych sytuacjach można podzlecić własne akredytowane badania oraz badania spoza własnego zakresu akredytacji innemu laboratorium akredytowanemu, którego zakres akredytacji obejmuje podzlecane badania, zgodnie z własną procedurą dotyczącą podwykonawstwa. Warunkiem jest jednak poinformowanie klienta i uzyskanie jego pisemnej zgody [13].

Kluczową rolę w systemie zarządzania laboratorium odgrywa personel. Laboratorium powinno zapewnić, że każdy członek personelu obsługujący określone wyposażenie, przeprowadzający badania, oceniający wyniki i podpisujący sprawozdania z badań powinien posiadać odpowiednie kompetencje. Pod tym pojęciem należy rozumieć kwalifikacje, wiedzę, szkolenia i doświadczenie. Laboratorium powinno określić kwalifikacje niezbędne na danym stanowisku i konsekwentnie prowadzić rekrutację z uwzględnieniem tych parametrów. Następnym elementem o istotnym znaczeniu jest polityka laboratorium dotycząca podnoszenia kwalifikacji personelu zarówno tego nowo przyjętego jak również osób o dłuższym stażu pracy. Kierownictwo laboratorium powinno określić potrzeby szkoleniowe, zaplanować je i konsekwentnie realizować.

Laboratorium powinno spełniać wymagania dotyczące warunków lokalowych w jakich przeprowadzane są badania zarówno w kwestii liczby pomieszczeń i rozgraniczenia sąsiadujących obszarów, gdzie wykonuje się czynności nie dające się ze sobą pogodzić. Rzeczą oczywistą jest też posiadanie odrębnego pomieszczenia będącego tzw. magazynem dowodów rzeczowych. Ważne jest monitorowanie warunków środowiskowych (właściwych dla określonych pomieszczeń) w tych miejscach, gdzie ma to wpływ na wyniki badań. Powyższa kwestia jest powiązana z optymalną lokalizacją wyposażenia pomiarowego i badawczego, które powinno być kompletne dla danego zakresu badań. Nadzór nad tym wyposażeniem dotyczy między innymi przeprowadzania sprawdzeń, kalibracji i wzorcowań (realizowanych dla każdego przyrządu w oparciu o zalecenia producenta i przepisy metrologiczne) [14].

W laboratorium należy podjąć odpowiednie środki zabezpieczające przed kontaminacją np. pipety automatyczne i tipsy. Oczywistym jest też wymóg utrzymania laboratorium w czystości i porządku. Bardzo ważną kwestią jest ograniczenie dostępu osób postronnych do obszaru, w którym wykonuje się badania [15, 16].

Przyjmowanie próbek powinno odbywać się przez upoważnionego i przeszkolonego pracownika na podstawie zlecenia, które jest odnotowywane w sposób zapewniający jednoznaczność i identyfikowalność. Laboratorium musi również wykazać, że wdrożyło system informowania klientów o metodach, zakresie badań i sposobie odbioru sprawozdania z badań, itp. W laboratorium niezbędne jest wdrożenie systemu identyfikacji próbek przyjętych do badań. Każda próbka otrzymuje niepowtarzalny kod zapewniający anonimowość klienta. Pobrane próbki muszą być czytelnie kodowane, co umożliwia ich identyfikację na każdym etapie procesu badawczego. Warunki przechowywania próbek powinny zapewnić niezmienność cech próbek. Po wykonaniu badań próbki powinny być archiwizowane zgodnie z umową z klientem, a utylizacja zużytych odczynników chemicznych i likwidacja próbek po badaniach powinna się odbywać zgodnie z opracowaną instrukcją.

Laboratorium jest zobowiązane do opracowania programu sterowania jakością badań. Wymagania PN-EN ISO/IEC 17025 wskazują na potrzebę zapewnienia jakości wyników badań na wszystkich etapach realizowania badań. Opracowanie skutecznego programu sterowania jakością powinno uwzględniać specyfikę badań. Elementami tego systemu jest korzystanie z certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM) i materiałów odniesienia (RM), planowej kontroli przebiegu poszczególnych etapów analizy oraz udział w badaniach biegłości oraz porównaniach międzylaboratoryjnych. Zapewnienie jakości wyników badań powinno odbywać się na kilku poziomach. Na poziomie podstawowym za zapewnienie jakości odpowiada osoba wykonująca badania i może być ono realizowane np. w postaci powtarzania pierwszej próbki w każdej serii i dołączania do serii kontroli pozytywnych i negatywnych. Dodatkowo ponownej analizie można poddawać próbki archiwalne. Drugi poziom zapewnienia jakości realizuje Kierownik Laboratorium poprzez wprowadzenie do serii próbek zakodowanej próbki

kontrolnej. Wyniki analiz próbek kontrolnych na pierwszym i drugim poziomie powinny być dokumentowane (np. w zeszycie pracy analityka i karcie kontrolnej próbki podstawionej). Trzeci poziom sterowania jakością, to tzw. zewnętrzne zapewnienie jakości (EQA) i jest realizowane poprzez udział w badaniach biegłości (ang. proficiency testing – PT) oraz porównaniach międzylaboratoryjnych (ang. interlaboratory comparison – ILC). Wszystkie poziomy zapewnienia jakości składają się w sumie na sterowanie jakością, które może być wyrażone w postaci „strategii jakości”. PCA traktuje PT/ILC jako jeden z podstawowych elementów wykazania kompetencji technicznych akredytowanych laboratoriów i jest warunkiem uzyskania i utrzymywania akredytacji [17].

Warto tu wyjaśnić, że badania biegłości jako bardzo ważne narzędzie potwierdzania kompetencji i sterowania jakością zostały „objęte” normą PN-EN ISO/IEC 17043:2010 [18]. Norma zawiera między innymi dwie podstawowe definicje pochodzące z tej normy.

Porównanie międzylaboratoryjne – zorganizowanie, wykonanie i ocena pomiarów lub badań tego samego lub podobnych obiektów, przez co najmniej dwa laboratoria, zgodnie z uprzednio określonymi warunkami.

Badanie biegłości – ocena rezultatów działania uczestnika względem wcześniej ustalonego kryterium, za pomocą porównań międzylaboratoryjnych.

Organizatorzy PT/ILC powinni spełniać wymagania wspomnianej normy i wykazać się kompetencjami do ich organizowania i realizowania. Z dosyć oczywistych względów najlepszą formą potwierdzenia kompetencji organizatora PT/ILC jest uzyskanie akredytacji [19]. Wydaje się, że wydany przez Komisję Genetyki Sądowej Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii dokument „Zasady atestacji laboratoriów genetycznych przy Polskim Towarzystwie Medycyny Sądowej i Kryminologii na lata 2010-2011” [20] nosi bardzo wiele cech programu badania biegłości zgodnego z normą PN-EN ISO/IEC 17043:2010. Można mieć nadzieję, że po niezbędnych zmianach, i po porozumieniu się z Polskim Centrum Akredytacji, atestacja zostanie uznana za przydatne narzędzie wykorzystywane przez laboratoria sądowe w procesach akredytacji i nadzoru.

Przedstawianie wyników badań (sprawozdania z badań wraz z opinią) powinno być wykonywane

według zunifikowanego wzoru w którym znajdują się informacje dotyczące: identyfikacji stosowanej metody, opis, stan i jednoznaczna identyfikacja obiektu badań, data przyjęcia próbki do badań, data wykonania badania, wyniki badań oraz dane osoby upoważnionej do autoryzowania badania. Sposób prezentacji wyników badań powinien być czytelny i jednoznaczny. Z kopią sprawozdania, znajdującego się w laboratorium, powinny być powiązane zapisy techniczne zapewniające możliwość odtworzenia przebiegu badania i ustalenia osób je wykonujących. Ważne jest aby wszystkie zapisy dotyczące wykonanych badań w laboratorium były gromadzone, łatwo dostępne, identyfikowalne i przechowywane we właściwych warunkach. Forma i zawartość obowiązujących zapisów technicznych (formularzy) powinna pozwalać na odtworzenie przebiegu badania w warunkach zbliżonych do tych, w jakich były wykonane po raz pierwszy. Gromadzone dane archiwalne powinny być skutecznie zabezpieczone przed dostępem osób trzecich. Dotyczy to również właściwego nadzoru nad wyposażeniem informatycznym laboratorium w tym np. oprogramowania typu LIMS (Laboratory Information Management System).[21].

Reasumując należy podkreślić, że system zarządzania wdrożony w laboratorium, a dotyczący organizacji, jakości i działalności badawczej może w znaczący sposób wspomagać jego personel w codziennej pracy. Warunkiem powodzenia jest zaan-

gażowanie całego personelu, który musi rozumieć dyspozycje systemu zarządzania i współuczestniczyć w ich tworzeniu i wdrażaniu. Przy takim założeniu czas wdrożenia systemu zarządzania to 6 do 12 miesięcy. Należy w tym miejscu podkreślić, że system zarządzania, aby był efektywny, musi podlegać stałemu doskonaleniu i jest to również zadanie dla kierownictwa organizacji. Dobrze opracowany, wdrożony i stale doskonalony system zarządzania pozwala na skuteczną realizację misji laboratorium.

WNIOSKI

1. Uzyskanie akredytacji na zgodność z normą PN EN ISO/IEC 17025 w laboratoriach sądowych jest jednym z istotnych elementów pogłębienia międzynarodowej współpracy organów ścigania i wymiaru sprawiedliwości krajów Unii Europejskiej. Będzie też warunkiem koniecznym wykorzystania wyników badań laboratorium przez organa ścigania i wymiaru sprawiedliwości po wejściu w życie wymagania podane w Decyzji Ramowej Rady UE.

2. Wdrożenie i utrzymanie systemu zarządzania jest możliwe tylko przy pełnym zaangażowaniu zarówno kierownictwa jak i całego personelu laboratorium.

3. Uzyskanie certyfikatu akredytacji i ciągłe doskonalenie systemu zarządzania wymaga wygospodarowania z budżetu laboratorium niezbędnych środków finansowych.

PIŚMIENNICTWO

1. Decyzja Ramowa Rady UE 2009/905/WSiSW z dnia 30 listopada 2009 roku w sprawie akredytacji dostawców usług kryminalistycznych wykonujących czynności laboratoryjne. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej. 2009, L.322/14-16.

2. PN EN ISO/IEC 17000:2006, Ocena zgodności – Terminologia i zasady ogólne.

3. Ustawa z dnia 30 sierpnia 2002 roku o systemie oceny zgodności (tekst jednolity) Dz.U. 2010, Nr 138, poz. 935.

4. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) NR 765/2008 z dnia 9 lipca 2008 ro-

ku ustanawiające wymagania w zakresie akredytacji i nadzoru rynku odnoszące się do warunków wprowadzania produktów do obrotu i uchylające rozporządzenie (EWG) nr 339/93. Dz.U. L 218 z 13.08.2008, 30

5. Wspólny Komunikat ISO-ILAC-IAF w sprawie wymagań dotyczących systemu zarządzania zawartych w normie ISO/IEC 17025:2005 – Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących. Komunikat został podpisany przez Sekretarza Generalnego ISO, Przewodniczącą ILAC, Przewodniczącą IAF w styczniu 2009 roku. Jest zamieszczony (wymaganie ILAC i IAF) między innymi na stronie PCA www.pca.gov.pl

6. PN-EN ISO/IEC 17025:2005 – Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.
7. ILAC-G19:2002, Guidelines for Forensic Science Laboratories, International Laboratory Accreditation Cooperation.
8. Interpol Handbook on DNA Data Exchange and practice. Recommendations from the Interpol DNA Monitoring Expert Group. Second Edition, 2009.
9. Michalski R.: Akredytacja laboratoriów kontrolno-pomiarowych i naukowo-badawczych. Problemy i wyzwania. *Laboratorium*, 2006,10,18-20.
10. Soltyszewski I., Wójtowicz A.: Wybrane aspekty akredytacji laboratoriów badawczych. *Problemy Kryminalistyki*, 2002, 236, 14-17.
11. ILAC-G18:04/2010 – Wytyczne dotyczące formułowania zakresów akredytacji dla laboratoriów.
12. DA-01 – Opis systemu akredytacji. PCA, wydanie 6 z dnia 15.02.2008 r.
13. DAB-07 – Akredytacja laboratoriów badawczych. Wymagania szczegółowe, PCA, wydanie 6, Warszawa 21.10.2010.
14. DA-06 – Polityka Polskiego Centrum Akredytacji dotycząca spójności pomiarowej, PCA, wydanie 3, Warszawa 20.06.2007.
15. Włodarczyk R., Rzeczyc E., Soltyszewski I.: System zarządzania jakością a kryminalistyczne badania włosów. *Problemy Kryminalistyki*, 2009, 263, 28-33.
16. Salmanowicz M.: Budowa laboratorium krok po kroku. *LAB*, 2010, 4, 38-40
17. DA-05 Polityka Polskiego Centrum Akredytacji dotycząca wykorzystywania badań biegłości /porównań międzylaboratoryjnych w procesach akredytacji i nadzoru laboratoriów, PCA, wydanie 4, Warszawa 7.02.2008.
18. PN-EN ISO/IEC 17043:2010 – Ocena zgodności – Ogólne wymagania dotyczące badania biegłości.
19. DAPT-01 – Akredytacja Organizatorów Badań Biegłości. Wymagania Szczegółowe, PCA, wydanie 2, Warszawa 04.12.2008.
20. Zasady atestacji laboratoriów genetycznych przy Polskim Towarzystwie Medycyny Sądowej i Kryminologii na lata 2010-2011, Komisja Genetyki Sądowej Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii, Gdańsk, 2009.
21. Wontorski T.: Wyposażenie informatyczne w laboratorium. *Lab*, 2010, 3, 26-27.

Podziękowania:

Autor składa podziękowania
Panu Tomaszowi Wontorskiemu
Kierownikowi Działu Programowego-Laboratoria
Polskiego Centrum Akredytacji
za cenne uwagi w trakcie przygotowania artykułu.

Adres do korespondencji:

Katedra Kryminalistyki i Medycyny Sądowej
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego
w Olsztynie
ul. Warszawska 98
10-702 Olsztyn
e-mail: ireneusz.soltyszewski@uwm.edu.pl

Erazm Baran

Pro Memoria

Doktor nauk medycznych Wiesław Gawrzewski 1937-2010



28 sierpnia 2010 roku zmarł nagle i nieoczekiwanie medyk sądowy Wiesław Gawrzewski – znany, ceniony i lubiany w naszym środowisku, członek Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii.

Wiesław Gawrzewski urodził się 19 października 1937 roku we Lwowie. W 1946 roku, wraz z matką Bronisławą i młodszą siostrą Bożeną, opuścił Lwów i zamieszkał w Krakowie. Ojciec Julian, magister prawa, powołany do służby wojskowej zaginął w czasie działań wojennych w 1939 roku.

Wiesław w 1954 roku zdaje maturę w Liceum Ogólnokształcącym im. Jana III Sobieskiego w Krakowie. Zostaje przyjęty na Wydział Lekarski Akademii Medycznej w Krakowie, uzyskując dyplom lekarza medycyny 25 listopada 1962 roku. Tuż przed uzyskaniem dyplomu zostaje zatrudniony w Zakładzie Medycyny Sądowej na 1/2 etatu. Jest jednym z pierwszych asystentów nowego, młodego zespołu tworzonego przez doc. dra hab. Jana Stanisława Kobielię. Po odbyciu stażu podyplomowego uzyskuje pełne zatrudnienie w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej.

14 czerwca 1968 roku Rada Wydziału Lekarskiego nadaje Mu stopień naukowy doktora nauk medycznych na podstawie pracy: „Badania nad dzieżyczeniem alkalicznej fosfatazy surowicy krwi ludzkiej“. W tym samym roku odbywa kilkutygodniowy staż w Instytucie Medycyny Sądowej w Ko-

penhadze jako stypendysta Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej.

W 1969 roku uzyskuje specjalizację z medycyny sądowej I stopnia, a w trzy lata później stopnia II.

Odchodzi z krakowskiej Katedry w 1974 roku do Rzeszowa, gdzie zostaje powołany na Kierownika Zakładu Medycyny Sądowej Zespołonego Szpitala Wojewódzkiego w Rzeszowie. Organizuje od podstaw ten Zakład doprowadzając do powstania terenowej placówki medycyny sądowej o pełnym profilu, z pracownią tanatologiczną, toksykologiczną, badań dowodów rzeczowych i badań osób dla oceny skutków poniesionych przez nie obrażeń dla potrzeb postępowania karno-sądowego.

W Rzeszowie (podobnie jak w Kielcach) w latach osiemdziesiątych powstaje Filia krakowskiej Akademii Medycznej (Katedra Nauczania Klinicznego, a następnie Instytut Medycyny Klinicznej), w ramach której dr W. Gawrzewski prowadził w pełnym zakresie zajęcia dydaktyczne z medycyny sądowej. W latach 1985-1990, tj. do czasu likwidacji Instytutu, jest zatrudniony na cząstkowym etacie starszego wykładowcy Akademii Medycznej w Krakowie.

Od 1950 roku prowadził wykłady z medycyny sądowej na Wydziale Prawa Uniwersytetu M. Curie-Skłodowskiej – Filia w Rzeszowie, a od 2001 roku na Wydziale Prawa Uniwersytetu Rzeszowskiego. Wykłady z podstaw medycyny sądowej prowadził w Wyższej Szkole Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie od 1996 roku.

Był specjalistą wojewódzkim ds. medycyny sądowej i stałym biegłym sądowym wydając liczne opinie dla policji, prokuratur i sądów.

Działał w Okręgowej Izbie Lekarskiej w Rzeszowie (1997-2010) pełniąc funkcję Z-cy Rzecznika Odpowiedzialności Zawodowej.

W Rzeszowie założył rodzinę – żona Marta, lekarz stomatolog, syn Grzegorz ukończył studia na Wydziale Prawa.

Dr Wiesław Gawrzewski jest autorem lub współautorem 30 publikacji naukowych. Brał czynny udział

w licznych spotkaniach naukowych (zjazdach, konferencjach i sympozjach).

Po wejściu w wiek emerytalny był nadal czynny zawodowo jako biegły sądowy w ramach stworzonej przez Niego „Pracowni Ekspertyz i Badań Sądowo-Lekarskich“ w Rzeszowie. Byliśmy pewni, że spotkamy się z Nim na kolejnym XV Zjeździe Naukowym Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii we wrześniu 2010 roku w Gdańsku. Zapowiedział swój udział zgłaszając interesujący referat. Niestety nie było już nam dane wysłuchać

Jego wystąpienia. Pozostawił smutek odejścia Osoby nam bliskiej.

Prochy doktora Wiesława Gawrzewskiego złożone zostały w grobowcu rodzinnym na cmentarzu Rakowickim w Krakowie.

Homo toties moritur, quoties amittit suos

dr Erazm Baran
medyk sądowy

BIBLIOGRAFIA PRAC NAUKOWYCH DR. MED. WIESŁAWA GAWRZEWSKIEGO

1. Kobiela J. S., Turowska B., Gawrzewski W., Urański J.: Anti-N agglutinins in the serum of a female patient. Arch. Immunol. Ther. Exp. 1964, 12, 667.
2. Gawrzewski W., Marek Z., Salwińska B., Trela F.: Wypadki śmiertelne przy pracy na terenie Huty im. Lenina w Krakowie w przedsiębiorstwach budujących Nową Hutę w latach 1953-1962. Pol. Tyg. Lek. 1965, 20, 716.
3. Gawrzewski W., Kalczew J.: Studies on the Duffy blood groups system (Fy^a) in the population of Cracow (Poland). Acta Medica Polona 1965, 6, 255.
4. Gawrzewski W.: Badania nad właściwościami grupowymi alkalicznej fosfatazy surowicy krwi ludzkiej. Przegl. Lek. 1966, 22, 600.
5. Wystouchowa B., Gawrzewski W.: Einführende untersuchungen über das Grupepensystem sauer Phosphatasen der Erythrocyten in der polnischen Population. Zschr. ärztl. Forbild. 1967, 61, 770.
6. Gawrzewski W.: Die Häufigkeit des Gruppensystem der alkalischen Serumphosphatase in der Bevölkerung von Kraków. Zschr. ärztl. Forbild. 1967, 61, 771.
7. Trela F. M., Gawrzewski W.: Wstępne badania nad oznaczaniem cholinesterazy i alkalicznej fosfatazy we krwi pochodzącej ze zwłok. Arch. Med. Sąd. Krym. 1968, 18, 1, 117.
8. Kobiela J. S., Gawrzewski W.: Samobójstwo przez spalenie. Arch. Med. Sąd. Krym. 1968, 18, 2, 293.
9. Turowska B., Gawrzewski W., Czajkowska L.: Blood group and serum protein system in Schizophrenia. Acta Medica Polona 1968, 9, 2009.
10. Turowska B., Gawrzewski W., Opolska B.: The use of thin layer electrophoresis in starch gel for determination of alkaline phosphatase in human blood serum. Acta Medica Polona. 1969, 10, 315.
11. Gawrzewski W., Opolska B., Maga F.: Badania rodzinne nad dziedziczeniem układu kwaśnej fosfatazy krwinek czerwonych. Arch. Med. Sąd. Krym. 1970, 20, 2, 219.
12. Popczyńska-Markowa M., Marek Z., Gawrzewski W., Depowski M., Mierzyński W.: Zespół niedorozwoju lewego serca u niemowląt. Przegl. Lek. 1970, 26, 438.
13. Gawrzewski W., Baran E.: Śmiertelne zatrucie preparatem „Tri“. Arch. Med. Sąd. Krym. 1971, 21, 1, 87.
14. Baran E., Gawrzewski W., Marek Z.: Przestępstwa przeciwko zdrowiu w materiale Zakładu Medycyny Sądowej AM w Krakowie w latach 1969-1970. Arch. Med. Sąd. Krym. 1971, 21, 2, 25.
15. Gawrzewski W., Opolska B.: Oznaczanie typów kwaśnej fosfatazy w płamach krwi ludzkiej. Arch. Med. Sąd. Krym. Supplement 1, 1971, 21, 233.
16. Strycharska M., Wiernikowski A., Gawrzewski W., Pach J., Kobylecka M.: Ostre zatrucia chromianami. Z Zag. Kryminal. 1971, 6, 115.
17. Gawrzewski W., Opolska B., Ciastoń M.: Zastosowanie cienkowarstwowej elektroforezy w żelu skrobiowym do oznaczania alkalicznej fosfatazy surowicy ludzkiej w praktyce klinicznej. Przegl. Metodyczny AM Kraków 1971, 6, 81.

18. Gawrzewski W., Opolska B.: Układ grupowy kwaśnej fosfatazy (EC-3.1.3.2.) w płytkach krwi ludzkiej, Arch. Med. Sąd. Krym. 1973, 23, 1, 43.
19. Gawrzewski W., Trela F., Grochowska Z.: Próba określenia fazy wchłaniania i eliminacji alkoholu w oparciu o stopień uwodnienia krwi, moczu i ciałka szkliste. Arch. Med. Sąd. Krym. 1974, 24, 2, 189.
20. Gawrzewski W., Grochowska Z., Kunz J.: Sądowo-lekarskie aspekty utonięć (Analiza materiału sekcyjnego z lat 1946-1973). Arch. Med. Sąd. Krym. 1975, 25, 2, 123.
21. Gawrzewski W.: Zabójstwa (Sądowo-lekarska analiza materiału sekcyjnego z lat 1970-1972). Arch. Med. Sąd. Krym. 1975, 25, 3, 259.
22. Gawrzewski W., Gross A., Kołbik A., Konopka J., Morcinek: Utonięcia wśród dzieci i młodzieży w latach 1946-1971. Arch. Med. Sąd. Krym. 1976, 26, 1, 96.
23. Turowska B., Opolska B., Gawrzewski W.: Distribution of 6 phosphogluconate dehydrogenase variants in South Poland. Hum. Hered. 1976, 26, 319.
24. Turowska B., Opolska B., Gawrzewski W.: Polimorfizm dehydrogenazy 6-fosfoglukonianowej (6-PGD) w populacji Polski Południowej. [w:] Toksykomania i nawyk alkoholizowania się wśród młodzieży oraz inne zagadnienia sądowo-lekarskie. Red. T. Marcinkowski, Szczecin-Szczytno 1977, 358.
25. Gawrzewski W.: Sądowo-lekarskie badanie zwłok znalezionych w torfowisku. Arch. Med. Sąd. Krym. 1977, 27, 2, 157.
26. Turowska B., Gawrzewski W.: Rare phosphoglucomutase phenotypes PGM1 3-1 and PGM1 3-2 in the Polish population. Forens.Sci. 1979, 13, 129.
27. Gawrzewski W., Wierziński T.: Techniczno-Medyczna rekonstrukcja zajmowania miejsc w samochodzie osobowym w czasie wypadku drogowego. [w:] Problemy Rekonstrukcji Wypadków Drogowych. Wyd. IRS, Kraków, 1996, 151.
28. Gawrzewski W.: Błąd lekarski, błąd diagnostyczny czy nieszczęśliwy wypadek. [w:] Postępy Med. Sąd. i Krym. Wrocław, 1997, III, 85.
29. Gawrzewski W.: Przejechanie pieszych przez samochody osobowe. [w:] Problemy Rekonstrukcji Wypadków Drogowych. Wyd. IES, Kraków, 1998, 203.
30. Gawrzewski W.: Zgon w następstwie postrzału z broni palnej czy rany kłutej brzusznej. [w:] Postępy Med. Sąd. i Krym. Wrocław, 1999, V, 185.

Publikacje wymienione w punktach 15, 19, 22, 24, 27, 28, 29, 30 były wygłaszane na Zjazdach Polskiego Tow. Med. Sąd. i Krym. (Wrocław, Kraków, Gdańsk, Łódź), na Zjeździe Tow. Med. Sąd. NRD, na konferencjach (sympozyjach) Szczecin, Zakopane, Wrocław.

REFERATY WYGŁASZANE (NIEPUBLIKOWANE)

1. Marek Z., Baran E., Gawrzewski W.: Die Zusammenarbeit des Institut für Gerichtliche Medizin in Kraków mit den Untersuchungsorganen bei Delikten gegen Gesundheit. 4. Tagung der Gesellschaft für Gerichtliche Medizin der DDR vom 1. bis 4. Oktober 1973 in Magdeburg.
2. Gawrzewski W.: Błędy w opiniowaniu pourazowym. Konferencja Naukowa nt. Orzecznictwo sądowo-lekarskie w sprawach postępowania karnego, cywilno-odszkodowawczego i inwalidzkiego. Rzeszów 10-12 X 1985.
3. Gawrzewski W.: Zabójstwa na terenie województwa rzeszowskiego w latach 1978-1985.

I Łódzkie Sympozjum Naukowe. Cesarka k. Łodzi 12-13 V 1986.

4. Gawrzewski W.: Opiniowanie w przypadkach trzykrotnego pobierania krwi na zawartość alkoholu. III Konferencja Toksykologów Sądowych. Lublin, 5-6 XI 1987.

5. Gawrzewski W.: Pozbawienie życia mężczyzny w wyniku rozległych uszkodzeń mięśni. II Łódzkie Sympozjum Naukowe. Cesarka k. Łodzi 18-20 IX 1989.

Referat zgłoszony na XV Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii: Gawrzewski W.: Kamera przemysłowa jako element wspomagający analizę przebiegu pobicia ze skutkiem śmiertelnym.

Erazm Baran

Pro Memoria

Doktor nauk medycznych Krzysztof Paweł Klepacki

31 maja 2009 roku w Warszawie zmarł po długotrwałej i ciężkiej chorobie Krzysztof Paweł Klepacki, Adiunkt Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Warszawie.

Krzysztof P. Klepacki urodził się 2 sierpnia 1957 roku w Lublinie. W tym mieście zdaje maturę w III Liceum Ogólnokształcącym im. Unii Lubelskiej w 1976 roku. W latach 1976-1982 studiuje na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Warszawie. Po uzyskaniu dyplomu zostaje przyjęty na asystenturę w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej tej Uczelni. W 1992 roku uzyskuje stopień doktora nauk medycznych na podstawie pracy: „Doświadczalna ocena biologicznych skutków działania broni gazowej w aspekcie sądowo-lekarskim”. Autor kilkudziesięciu publikacji naukowych.

Był mężem i ojcem. Żona Teresa – lekarz patomorfolog, dwójka dorosłych dzieci – Marta i Michał, studiujący.

Doktor Krzysztof Klepacki w kadencji 2007-2010 był członkiem Komisji Historycznej Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii. Dał się poznać jako Osoba bardzo chętna do współpracy i zaangażowana w działanie Komisji. Jego śmierć nie pozwoliła, byśmy wspólnie mogli zrealizować ustalone plany.

Zachowajmy Doktora Krzysztofa w naszej pamięci.

dr med. Erazm Baran
Przewodniczący Komisji Historycznej
Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej
i Kryminologii