จดหมายถึงบรรณาธิการ **Letter to Editor**

วิธีตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมจากสารคัดหลั่งเพศชายในคดีความผิดทางเพศที่ไวต่อปริมาณดีเอ็นเอน้อย
Highly-Sensitive Assay for Confirming of Male Secretion in Sexual Assault

กฤติน อุ้มปรีชา, พ.บ.
สถาบันนิติวิทยาศาสตร์
กระทรวงยุติธรรม
กรุงเทพมหานคร

Kritin Umprecha, M.D.
Central Institute of Forensic Sciences
Ministry of Justice
Bangkok

วารสารวิชาการแพทย์และสาธารณสุข เขตสุขภาพที่ 3
ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม 2565

Region 3 Medical and Public Health Journal
Vol. 19 No. 2 May-August 2022

เนื้อหา

เรียนบรรณาธิการ

ในปัจจุบันการตรวจพิสูจน์ทางนิติเวชศาสตร์ในคดีความผิดทางเพศ เช่น การข่มขืนกระทำชำเรา หรือการอนาจาร นอกจากจะต้องตรวจหาร่องรอยบาดแผลที่เกิดขึ้น ซึ่งไม่ได้พบได้ง่ายนักแล้ว การตรวจหาสารคัดหลั่งจากร่างกายของผู้กระทำผิดที่พบบนร่างกายของผู้เสียหาย ก็เป็นหลักฐานที่สำคัญมากชิ้นหนึ่ง หากสารคัดหลั่งนั้นเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นทางเพศ เช่น การหลั่งน้ำอสุจิ ก็จะใช้ยืนยันการกระทำความผิดได้อย่างชัดเจน และอาจจะใช้บ่งชี้ตัวผู้กระทำผิดเองด้วยการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลได้ด้วย บทความชิ้นนี้ จึงมุ่งจะสรุปความก้าวหน้าทางนิติเวชศาสตร์ในการตรวจยืนยันน้ำอสุจิ เพื่อใช้ในกระบวนการยุติธรรมเป็นสำคัญ

โดยทั่วไป การตรวจพิสูจน์น้ำอสุจิจะแบ่งออกเป็นการตรวจเบื้องต้น (presumptive test) และการตรวจยืนยัน (confirming test) สำหรับการตรวจเบื้องต้น มีการทดสอบที่มีน้ำหนักน้อย เช่น การตรวจหาสารแอซิดฟอสฟาเตส (acid phosphatase)[1] หรือการตรวจที่มีน้ำหนักมากขึ้น เช่น การตรวจหาสารเซมิโนเจลิน (semenogelin)[2] มีงานวิจัยในอดีตที่แสดงว่าการตรวจเซมิโนเจลินได้ผลดีมาก คือ ตรวจได้ความไวใกล้เคียงหรือมากกว่าการตรวจหาตัวอสุจิในวันหลังๆ และก็ไวกว่าการตรวจสารแอซิดฟอสฟาเตสอย่างมากด้วย[3,4] แต่ถึงแม้ว่าการตรวจที่มีน้ำหนักมากจะมีความน่าเชื่อใกล้เคียงกับการตรวจยืนยันก็ตาม ก็ยังมีการศึกษาที่พบว่าเกิดผลบวกลวงได้อยู่[5,6]

ดังนั้น เมื่อจะสรุปว่าสิ่งส่งตรวจเป็นน้ำอสุจิหรือไม่ จึงต้องตรวจยืนยันและการตรวจที่ทำกันจนเป็นมาตรฐานก็คือ การตรวจหาตัวอสุจิด้วยการส่องกล้อง อย่างไรก็ตาม การตรวจดังกล่าวต้องอาศัยประสบการณ์ของผู้ตรวจวิเคราะห์และยังต้องขึ้นกับปัจจัยที่ส่งผลต่อโอกาสในการพบอสุจิด้วย เช่น ระยะเวลาที่เกิดเหตุ หรือว่าชายที่หลั่งน้ำอสุจิ เป็นหมันหรือไม่[7] ได้มีความพยายามคิดค้นวิธีการตรวจยืนยันด้วยวิธีอื่นๆเพื่อทดแทนการตรวจหาตัวอสุจิด้วยการย้อมสีฮีมาท้อกซีลิน/อีโอซิน (H&E) อย่างที่เคยปฏิบัติกันมา เช่น การย้อมด้วยสีนิวเคลียร์ฟาสต์เรด/พิโคอินดิโก-คาร์มีน (Nuclear Fast Red/Picoindigocarmine: Christmas Tree staining)[8] หรือย้อมด้วยโพรบดีเอ็นเอ (DNA probe)[9] เป็นต้น การย้อมดังกล่าว อาจจะทำให้สังเกตหัวอสุจิง่ายขึ้นแม้จะบิดเบี้ยวเสียรูปไป แต่ก็ยังคงต้องขึ้นกับจำนวนเซลล์อสุจิอยู่นั่นเอง ฉะนั้นในกรณีที่ไม่มีตัวอสุจิ วิธีการเหล่านั้นย่อมใช้ไม่ได้ จึงมีผู้ค้นคิดวิธีการตรวจทางพันธุศาสตร์ ซึ่งน่าจะใช้ประกอบ

กับการตรวจเบื้องต้น เพื่อยืนยันว่าสิ่งส่งตรวจนั้น มีน้ำอสุจิหรือไม่ การตรวจที่ว่ามาในปัจจุบันนั้น อยู่ในระหว่างการวิจัย แต่ก็มีผลที่น่าสนใจ ได้แก่ การตรวจวิเคราะห์อาร์เอ็นเอ (RNA) ชนิดต่างๆ เช่น mRNA, microRNA, piwiRNA และ circular RNA เป็นต้น[10-13]

หลักการตรวจอาร์เอ็นเอนั้น คือต้องการดูผลิตภัณฑ์อาร์เอ็นเอที่จำเพาะต่อน้ำอสุจิ กล่าวคือ จะมียีนส์ที่ถูกกระตุ้นให้ทำงานมากโดยเฉพาะจากอวัยวะต่างๆ ที่สร้างสารประกอบของน้ำอสุจิ ดังนั้น ผลิตภัณฑ์อาร์เอ็นเอของน้ำอสุจิที่สนใจ ย่อมมีปริมาณมากหรือพบได้เพียงในน้ำอสุจิเท่านั้น อย่างไรก็ตาม ก็มีปัจจัยหลายประการที่ทำให้เกิดผลลบลวงได้ เช่น การสลายของอาร์เอ็นเอ วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน รวมถึงการผสมของสารคัดหลั่งระหว่างเพศชายและหญิง และการคำนวณความเชื่อมั่น เป็นต้น[14,15] ด้วยเหตุนี้ วิธีดังกล่าวจึงค่อนข้างซับซ้อนและยังไม่ใช้เป็นวิธีปฏิบัติอย่างแพร่หลาย

มีผู้สนใจในศาสตร์ใหม่เกี่ยวกับอภิพันธุศาสตร์ (epigenetics) ซึ่งว่าด้วยการดัดแปลงสารพันธุกรรมของเซลล์ในอวัยวะแต่ละอย่างที่แตกต่างกัน เพื่อกำหนดการทำงานของยีนส์ที่แตกต่างกันด้วย ลักษณะที่นำมาศึกษาและพยายามปรับปรุงใช้กับการตรวจพิสูจน์น้ำอสุจิ คือ การตรวจหา methylation ต่อตำแหน่งที่เรียกว่า กลุ่ม CpG (CpG island)[16] เนื่องจากตำแหน่งดังกล่าวมีโอกาสที่จะเกิดการดัดแปลงบนเบสของนิวคลีโอไทด์ที่เป็นไซโทซีน (Cytosine: C) ด้วยการเติมหมู่เมธิล (methylation) และส่งผลต่อการทำงานของยีนส์ที่อยู่ใกล้เคียง เทียบได้กับการเปิด-ปิดสวิทช์ของยีนส์ และมีการศึกษามากมายที่แสดงว่าเซลล์ที่สร้างน้ำอสุจิ มีลักษณะ methylation เฉพาะตัว จึงได้นำมาสู่การคิดค้นวิธีการตรวจวิเคราะห์ขึ้นด้วยเทคนิคที่ต่างๆ[17]

วิธีการตรวจวิเคราะห์ทางอภิพันธุศาสตร์เช่นว่ามานั้น อาจจะเป็นวิธีการที่น่าสนใจ อย่างไรก็ตาม ก็ยังคงเป็นศาสตร์แขนงใหม่ที่เพิ่งเริ่มศึกษา จนเป็นที่สนใจว่าจะมีปัจจัยใดบ้างที่รบกวนน้ำหนักของการตรวจวิเคราะห์ มีองค์ความรู้บางส่วนที่แสดงว่า สภาพแวดล้อมน่าจะส่งผลให้การแสดงรูปแบบในแต่ละคนได้หลากหลายต่างๆกันไป ทำให้เกิดความไม่แน่นอนได้[18]

ด้วยเหตุต่างๆที่ว่ามานี้ จึงมีความพยายามพัฒนาความรู้ที่ใช้กันมานาน เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมดีเอ็นเอซึ่งมีเสถียรภาพมากกว่าสารพันธุกรรมชนิดอื่น การตรวจจะมุ่งไปที่ดีเอ็นของโครโมโซมวาย (Y chromosome) ที่พบได้เฉพาะในเพศชาย แต่ปัญหาของการตรวจดีเอ็นเอก็คือ จำนวนชุดดีเอ็นเอของแต่ละเซลล์นั้นมีเพียงชุดเดียว และหากตัวอสุจิน้อยหรือว่าไม่มี ก็ยิ่งทำให้โอกาสตรวจพบต่ำลงไป อย่างไรก็ดี ดีเอ็นเอจากเซลล์ในน้ำอสุจินั้น อาจจะไม่ได้มาจากตัวอสุจิเพียงอย่างเดียว ยังมีเซลล์ของผู้ชายอื่นถูกขับออกมาในขณะที่มีการหลั่งน้ำอสุจิด้วย เช่น เซลล์เยื่อบุทางเดินปัสสาวะเป็นต้น ถึงแม้ว่าเซลล์จำพวกนี้จะมีจำนวนน้อยกว่าตัวอสุจิมาก แต่ในรายที่เป็นหมันก็ยังมีโอกาสที่จะตรวจได้ นอกไปจากนั้น การที่ตัวอสุจิสลายภายหลังจากเกิดเหตุนานหลายวัน ก็อาจจะตรวจพบดีเอ็นเอได้ถึงแม้จะไม่เหลือเซลล์อยู่แล้ว การพัฒนาวิธีการตรวจจึงมุ่งสู่การหาทางทำให้เกิดความไวมากขึ้น เช่น สามารถตรวจพบได้แม้มีเซลล์หรือดีเอ็นเอที่เทียบเท่าจากเซลล์จำนวนน้อยกว่า 50 ตัว เป็นต้น และยังต้องทำให้การตรวจพิสูจน์ง่าย พึ่งพาประสบการณ์ของผู้ตรวจวิเคราะห์ไม่มาก และมีราคาที่เหมาะสมอีกด้วย ผู้เขียนได้ร่วมพัฒนาและศึกษาวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่น่าจะนำไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการต่างๆที่มีเครื่องมือสำหรับตรวจวิเคราะห์ทางพันธุศาสตร์โดยทั่วไป โดยมีหลักการที่ตรวจหาส่วนของสารพันธุกรรมที่จำเพาะต้องโครโมโซมวาย ผลที่ได้คือ สามารถตรวจพบได้แม้มีจำนวนเซลล์เพศชายเพียง 5-10 เซลล์

สามารถวิเคราะห์ได้ง่ายด้วยวิธีการ PCR และแสดงผลด้วย fluorescent capillary electrophoresis นอกจากนี้ ยังสามารถตรวจได้แม้จะมีสารพันธุกรรมของเซลล์เพศหญิงปนอยู่มากถึงกว่า 100 เท่าก็ตาม และราคาค่าตรวจก็ต่ำกว่าการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมเพื่อการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลอยู่มาก ในงานวิจัยร่วมของผู้เขียนนั้น ยังแสดงผลบวกได้ในเคสจริงที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิเลยอีกด้วย[19] หวังว่างานวิจัยนี้ จะมีประโยชน์สำหรับผู้สนใจเพื่อนำไปประยุกต์หรือพัฒนาต่อยอดในงานบริการจริงในอนาคต

กฤติน อุ้มปรีชา

เอกสารอ้างอิง

1. Davies A, Wilson E. The persistence of seminal constituents in the human vagina. Forensic Sci. 1974;3(1):45-55. https://doi.org/10.1016/0300-9432(74)90006-5
2. Pang BC, Cheung BK. Identification of human semenogelin in membrane strip test as an alternative method for the detection of semen. Forensic Sci Int. 2007;169(1):27-31. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.07.021
3. ฐาปนี เหมืองใจมา, นิติกร โปริสวาณิชย์, สุวิทย์ ลิมาวงษ์ปราณี, อรวรรณ คีรีวัฒน์, วิสูตร ฟองศิริไพบูลย์. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจยืนยันน้ำอสุจิในช่องคลอดหญิงหลังมีเพศสัมพันธ์ระหว่างวิธีมาตรฐานโดย Prostatic Specific Antigen (PSA) ด้วยวิธี ELISA และ การตรวจหาตัวอสุจิทางกล้องจุลทรรศน์ กับการตรวจ Semenogelin (Sg) ด้วยวิธี Lateral-flow Immunochromatography. วารสารสมาคมแพทย์นิติเวชแห่งประเทศไทย. 2556, 7(2):71-78. https://www.doi.org/10.14456/jfpat.2013.8
4. จินดามณี แสนบุญศิริ, นิติกร โปริสวาณิชย์, อรวรรณ คีรีวัฒน์, วิสูตร ฟองศิริไพบูลย์. ระยะเวลาที่ตรวจพบ semenogelin ได้ในช่องคลอดหลังจากมีเพศสัมพันธ์ และการศึกษาเปรียบเทียบความไวของการทดสอบด้วยชุดตรวจ RSIDTM-semen กับวิธีการตรวจหาแอสิดฟอสฟาเตส. วารสารสมาคมแพทย์นิติเวชแห่งประเทศไทย. 2555, 6(1):14-19. https://www.doi.org/10.14456/jfpat.2012.2
5. Niles SL. Improving semen identification and quantitation using protein mass spectrometry, Master thesis, Boston University; 2019. Accessed at https://hdl.handle.net/2144/36713
6. Stern AW, Lanka S. Evaluation of human semenogelin membrane strip test for species cross-reactivity in dogs. Vet Pathol. 2016;53(5):1095-1098. https://doi.org/10.1177/0300985815614976
7. Martínez P, Santiago B, Alcalá B, Atienza I. Semen searching when sperm is absent. Sci Justice. 2015;55(2):118-23. doi: 10.1016/j.scijus.2015.01.008
8. Allery JP, Telmon N, Mieusset R, Blanc A, Rougé D. Cytological detection of spermatozoa: comparison of three staining methods. J Forensic Sci. 2001;46(2):349-51.

9. Roa PN, Collins KA, Geisinger KR, Parsons LH, Schnell S, Hayworth-Hodge R, Tap MP, Lantz PE, Pettenati MJ. Identification of male epithelial cells in routine postcoital cervicovaginal smears using fluorescence in situ hybridization. Application in sexual assault and molestation. Am J Clin Pathol. 1995;104(1):32-35. https://doi.org/10.1093/ajcp/104.1.32
10. Juusola J, Ballantyne J. Messenger RNA profiling: a prototype method to supplant conventional methods for body fluid identification. Forensic Sci Int. 2003;135(2):85-96. https://doi.org/10.1016/s0379-0738(03)00197-x
11. Courts C, Madea B. Specific micro-RNA signatures for the detection of saliva and blood in forensic body-fluid identification. J Forensic Sci. 2011;56(6):1464-1470. https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2011.01894.x
12. Wang S, Wang Z, Tao R, Wang M, Liu J, He G, Yang Y, Xie M, Zou X, Hou Y. Expression profile analysis of piwi-interacting RNA in forensically relevant biological fluids. Forensic Sci Int Genet. 2019;42:171-180. https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.07.015
13. Liu B, Song F, Yang Q, Zhou Y, Shao C, Shen Y, Zhao Z, Tang Q, Hou Y, Xie J. Characterization of tissue-specific biomarkers with the expression of circRNAs in forensically relevant body fluids. Int J Legal Med. 2019;133(5):1321-1331. https://doi.org/10.1007/s00414-019-02027-y
14. Vennemann M, Koppelkamm A. mRNA profiling in forensic genetics I: Possibilities and limitations. Forensic Sci Int. 2010;203(1-3):71-75. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.07.006
15. Ypma RJF, Maaskant-van Wijk PA, Gill R, Sjerps M, van den Berge M. Calculating LRs for presence of body fluids from mRNA assay data in mixtures. Forensic Sci Int Genet. 2021;52:102455. https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102455
16. Vidaki A, Kayser M. Recent progress, methods and perspectives in forensic epigenetics. Forensic Sci Int Genet. 2018;37:180-195. https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.08.008
17. Liu KL, Tsai LC, Lin YC, Chang YH, Huang NE, Wu FC, Lin CY, Huang KC, Chen CH, Hsieh TH, Yang LJ, Lee JC, Linacre A, Hsieh HM. Spermatozoa identification by the 3-plex MSRE-PCR assay: a collaborative exercise. Int J Legal Med. 2022;136(2):397-404. https://doi.org/10.1007/s00414-021-02737-2
18. Zhang T, Ru YF, Wu B, Dong H, Chen L, Zheng J, Li J, Wang X, Wang Z, Wang X, Shen X, Wu J, Qian J, Miao M, Gu Y, Shi H. Effects of low lead exposure on sperm quality and sperm DNA methylation in adult men. Cell Biosci. 2021;11(1):150. https://doi.org/10.1186/s13578-021-00665-7
19. Umprecha K, Numnoi P, Poriswanish N. Highly sensitive human Y-specific fluorescent PCR-assay to detect extremely low and degraded male DNA in sexual assault. 2022. Preprint at https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1579983/v1