โอมิกส์ทางนิติเวชและนิติวิทยาศาสตร์ (omics science in forensic medicine and forensic science)

กรเกียรติ วงศ์ไพศาลสิน

บทนำ

ในปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีโอมิกส์ (omics technology) มาประยุกต์ใช้สำหรับการศึกษาวิจัยทางด้านนิติเวชศาสตร์ (forensic medicine) และนิติวิทยาศาสตร์ (forensic science) อย่างต่อเนื่อง ทำให้เห็นภาพในองค์รวมของการชันสูตรในกรณีต่าง ๆ โดยมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนข้อสรุปในแต่ละกรณีได้เป็นอย่างดี โอมิกส์ (-omics) หมายถึง องค์ประกอบโดยรวม ในการศึกษาทางวิทยาศาสตร์จึงหมายถึงองค์ประกอบโดยรวมของชีวโมเลกุลที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต โดยพิจารณาตั้งแต่ในระดับของจีโนม (genome) การแสดงออกและควบคุมของยีนโดยการถอดรหัส (transcription) การแปลรหัส (translation) เพื่อสังเคราะห์โปรตีน และการตรวจสารเมทาโบไลต์ (metabolite) ทั้งหมดนี้จะได้ข้อมูลทางชีวภาพ ได้แก่ ข้อมูลรหัสพันธุกรรมทั้งหมดหรือจีโนมิกส์ (genomic), ข้อมูลการถอดรหัส (transcriptomic) ข้อมูลการสังเคราะห์โปรตีน (proteomic) และข้อมูลสารเมทาโบไลต์ทั้งหมด (metabolomic) ของสิ่งมีชีวิตที่ทำการศึกษา ตามลำดับ โดยข้อมูลทั้งหมดนั้นจะนำมาประมวลเพื่อหาความสัมพันธ์กับคุณลักษณะปรากฏ (phenotype) ที่ต้องการศึกษา เพื่อที่จะเข้าใจถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลหรือความเชื่อมโยงระหว่างข้อมูลทั้งหมดที่ส่งผลต่อการเกิดคุณลักษณะนั้น ๆ โดยอาศัยพื้นฐานในองค์ความรู้และเทคโนโลยีทางด้านนิติเวชศาสตร์ นิติพิษวิทยา นิติเซโรโลยี ฯลฯ นำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์และสามารถให้คำตอบในหลากหลายประเด็นที่สำคัญของงานนิติวิทยาศาสตร์ได้ เช่น การประเมินระยะเวลาการเสียชีวิต ประเมินอายุของผู้เสียชีวิต การประเมินอายุบาดแผล และการบอกสาเหตุของการเสียชีวิต ฯลฯ ในบทความนี้จะเป็นการรวบรวมงานวิจัยและบทความ

ทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นถึงการเชื่อมโยงของความรู้และเทคโนโลยีโอมิกส์ที่นำมาประยุกต์ใช้ในงานทางนิติเวชศาสตร์ และนิติวิทยาศาสตร์

การใช้งานทางนิติเวชศาสตร์

การประเมินระยะเวลาการเสียชีวิต

ในร่างกายมนุษย์ภายหลังการเสียชีวิต จุลชีพที่อาศัยภายในร่างกายจะเกิดกระบวนการปรับเปลี่ยนระบบสู่สมดุลในสถาพสิ่งแวดล้อมใหม่[1, 2] โดยมีกลุ่มจุลชีพจำนวนหนึ่งที่เพิ่มจำนวนหรือเติบโตอย่างรวดเร็ว ใช้วัตถุดิบที่มีอยู่ในร่างกายเป็นแหล่งของการเจริญเติบโตทำให้เกิดสารเมทาโบไลต์หลากหลายรูปแบบและปริมาณที่แตกต่างจากเดิม อีกทั้งจากปรากฏการณ์ข้างต้นพบว่าสารเมทาโบไลต์บางชนิดที่เปลี่ยนแปลงมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการเสียชีวิตอีกด้วย[3] โดยขึ้นกับสาเหตุของการเสียชีวิตและชนิดของตัวอย่างเนื้อเยื่อที่นำมาศึกษา ข้อมูลดังกล่าวจึงมีประโยชน์ในการประเมินระยะเวลาการเสียชีวิตทางนิติเวชทำให้ทราบว่าการเสียชีวิตนั้นเกิดขึ้นเมื่อไร

การเปลี่ยนแปลงของสารต่าง ๆ มิได้จำกัดเพียงสารเมทาโบไลต์ที่เกิดขึ้นเท่านั้น พบว่ายังมีการเปลี่ยนแปลงในระดับการแสดงออกของยีน ตัวอย่างเช่น mRNA ในเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ มีแนวโน้มลดลง (down regulation)[4] เมื่อระยะเวลาการเสียชีวิตนานขึ้น และเนื้อเยื่อในระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) จะมีระดับ mRNA ที่เสถียรกว่าในเนื้อเยื่อระบบอื่น ๆ เหมาะสมต่อการนำไปประเมินระยะเวลาการเสียชีวิต เป็นต้น

การประเมินอายุของผู้เสียชีวิต

อายุ (chronological age) ของผู้เสียชีวิตเป็นข้อมูลในการระบุเอกลักษณ์บุคคลที่สำคัญ ซึ่งโดยปกติการประเมินอาจทำได้ไม่ยากนักหากผู้เสียชีวิตนั้นมีญาติหรือเอกสารที่ระบุข้อมูลการเกิด แต่ทั้งนี้ในกลุ่มผู้เสียชีวิตที่ไม่มีญาติหรือบุคคลในการยืนยันข้อมูลอายุ หรือหากศพมีการเสื่อมสภาพจากการเน่า การประเมินอายุจะต้องอาศัยความเชี่ยวชาญของผู้ตรวจ องค์ความรู้และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการที่ซับซ้อนขึ้น ตัวอย่างเช่น การตรวจหาระดับ methylated DNA ในจีโนมทั้งหมดจำนวนมากกว่า 4 แสนตำแหน่ง ในกลุ่มตัวอย่างศึกษาช่วงอายุ 14-94 ปี พบว่าประมาณหนึ่งในสามของตัวอย่าง ระดับ methylated DNA ที่พบมีความสัมพันธ์กับช่วงอายุ[5] ทั้งนี้ ในกลุ่มผู้สูงอายุที่มีโรคประจำตัว เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary artery disease), เบาหวาน (diabetes) หรือโรคที่ทำให้เกิดกระบวนการอักเสบเรื้อรังของหลอดเลือด จะมีผลต่อกระบวนการควบคุมระดับยีนอาจทำให้ระดับ methylated DNA มีค่าที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคลได้ จากการศึกษาของ Sukawutthiya และคณะ ได้ทำการตรวจเลือดผู้เสียชีวิตในช่วงอายุต่าง ๆ และหาความสัมพันธ์ของระดับ methylated DNA ของยีน *ELOVL2* กับอายุ พบว่าสามารถประเมินอายุบุคคลในช่วงอายุมากกว่า 20 ปี โดยมีค่าความผิดพลาดอยู่ที่ 5.6 ปี[6]

การประเมินบาดแผล

การประเมินการเกิดขึ้นของบาดแผลว่าเป็นบาดแผลที่เกิดก่อน (ขณะมีชีวิต) หรือภายหลังการเสียชีวิต เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ ในอดีตจะอาศัยความชำนาญของผู้ตรวจในการประเมินตัดสินใจ

อย่างไรก็ตามการใช้ความเห็นของผู้ประเมินจากการตรวจด้วยตาเปล่ามักก่อให้เกิดความขัดแย้งที่ไม่สอดคล้องกัน จึงไม่สามารถนำมาใช้อ้างอิงได้ดีเท่ากับการใช้หลักฐานจากการศึกษา โดยธรรมชาติของบาดแผลที่เกิดในคนที่มีชีวิตจะเกิดกระบวนการตอบสนองของร่างกายต่อบาดแผล เช่น กระบวนการสมานบาดแผลโดยการชักนำของ cytokine ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด รวมถึงเกิดกระบวนการอักเสบโดยรอบบาดแผล ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวนมากและ cytokine เช่น interleukin-3 เป็นต้น ส่วนในบาดแผลที่เกิดขึ้นภายหลังการเสียชีวิตจะไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวข้างต้น ปัจจุบันมีการศึกษาระดับการแสดงออกของยีน (gene expression) โดยการตรวจ mRNA หรือ miRNA ที่เกิดจากกระบวนการถอดรหัสของดีเอ็นเอเป็นอาร์เอ็นเอ เปรียบเทียบระหว่างบาดแผลที่เกิดก่อน และภายหลังการเสียชีวิต หากพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญก็สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการประเมินได้ ในการศึกษา transcriptomic ของกลุ่มผู้เสียชีวิตจากรอยรัดบริเวณคอ โดยใช้ผิวหนังตำแหน่งรอยรัดเปรียบเทียบกับผิวหนังคนปกติ พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ miR125a-5p และ miR125b-5p บนบาดแผลที่เกิดจากรอยรัดก่อนการเสียชีวิต[7] อีกทั้งจากการศึกษา proteomic พบโปรตีน เช่น aquaporin-3 (AQP3) บนบาดแผลถลอกจากรอยรัดก่อนการเสียชีวิตในตัวอย่างเซลล์ผิวหนัง[8] ซึ่งสามารถใช้เป็นเครื่องมือบ่งชี้ว่าบาดแผลดังกล่าวเกิดขึ้นก่อนที่จะเสียชีวิต เป็นต้น

การประเมินอายุของบาดแผลซึ่งมีความสำคัญที่ใช้ในการประเมินว่าเหตุการณ์นั้น ๆ เกิดขึ้นมานานแล้วเท่าใด สามารถประเมินได้โดยการตรวจวัดปริมาณขององค์ประกอบโปรตีนชนิดต่าง ๆ ที่ถูกสร้างในระหว่างกระบวนการอักเสบของบาดแผล (inflammatory process) ด้วยเทคนิคทาง immunohistochemistry ดังตารางที่ 1[8]

ตารางที่ 1. ผลจากการศึกษา proteomic ที่สามารถนำมาใช้ในการประเมินระยะเวลาของการเสียชีวิตโดยอาศัยการตรวจโปรตีนที่จำเพาะในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ๆ[8]

IL: interleukin, TNF: tumor necrosis factor, TGF: transforming growth factor, VEGF: vascular endothelial growth factor, ORP: oxygen-regulated protein, MMP: matrix metalloproteinase, CD: cluster of differentiation, Flk: fetal liver kinase, HLA-DR: human leukocyte antigen – DR isotype

ชนิดโปรตีนที่ตรวจ	ระยะเวลาที่ตรวจพบ					
	0-1 ชม.	1 วัน	2 วัน	3 วัน	7 วัน	>30 วัน
IL-1beta, IL-6, TNF-alpha	■					
Fibronectin, P-selectin and factor VIII	■					
Myoglobin	■					
Myoglobin and fibronectin	■					
IL-6, TNF-alpha	■					
TGF-alpha	■					
Fibronectin	■	■	■	■	■	■
P-selectin	■	■	■	■	■	
E-selectin	■	■	■	■	■	■
p53				■	■	
Tenascin and ubiquitin		■	■	■	■	■
VEGF					■	■
ORP150					■	■
MMP-2					■	■
Aquaporin-3					■	
CD45 and collagen type 1				■	■	■
CD34/Flk-1					■	■
CD-11c and HLA-DR alpha				■	■	■

การหาสาเหตุการเสียชีวิต

การทำ exome sequencing ในกลุ่มการเสียชีวิตมิปรากฏสาเหตุ (sudden unexpected nocturnal death syndrome, SUND) ซึ่งเป็นกลุ่มการเสียชีวิตที่พบได้บ่อยในคนอายุน้อย มักพบในเพศชาย และพบในคนเอเชียมากกว่าเชื้อชาติอื่น ๆ โดยในปัจจุบันการใช้ข้อมูลด้านจีโนมิกส์ (genomics) ทำให้ค้นพบปัจจัย

ทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องและเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตในกลุ่มดังกล่าว ประมาณร้อยละ 10-20 ของการเสียชีวิตมีความผิดปกติที่สามารถตรวจพบในยีน แม้ว่าการศึกษาในปัจจุบันพบว่ากลุ่มอาการ SUND เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีนหลายชนิด (polygenic condition) การศึกษาส่วนมากพบว่า ยีนที่พบความผิดปกติประมาณร้อยละ 20-25 เป็นการกลายพันธุ์ในกลุ่มยีนโรคหัวใจ เช่น โรคของกลุ่มความผิดปกติของกล้ามเนื้อหัวใจ พบการกลายพันธุ์ของยีนที่เป็นโครงสร้างของกล้ามเนื้อหัวใจชนิด hypertrophic cardiomyopathy (HCM) ซึ่งมีการกลายพันธุ์ของยีน *ACTC1* และ *GLA*[9] และ กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการเต้นของหัวใจ พบการกลายพันธุ์ของยีนที่เป็นโครงสร้างของ ion channel โดยเฉพาะ sodium ion channel และ potassium ion channel ยีนดังกล่าว ได้แก่ *SCN5A, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN4B, KCNQ1, KCNH2, KCNE1* และ *KCNE2*[10]

การใช้งานทางนิติวิทยาศาสตร์

นิติพิษวิทยา

การตรวจหารูปแบบเมทาโบไลต์ (metabolite profile) หรือที่เรียกว่า untargeted metabolomics (ตรวจสารเมทาโบไลต์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1,000 ดาลตัน) ในผู้เสียชีวิต เพื่อที่จะเข้าใจสถานภาพหรือสุขภาพของผู้เสียชีวิตโดยพิจารณาจากสารเมทาโบไลต์ที่พบในร่างกาย สามารถตรวจโดยอาศัยเทคนิคและเครื่องมือหลากหลายชนิด เช่น nuclear magnetic resonance (NMR) หรือ mass spectrometry (MS) ร่วมกับเทคนิคในการแยกสาร เช่น liquid chromatography (LC), gas chromatography (GC) หรือ capillary electrophoresis (CE) เป็นต้น โดยแต่ละวิธีมีทั้งข้อดีและข้อด้อยที่ผู้ตรวจต้องนำมาพิจารณาตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการตรวจ

การตรวจหาเมทาโบไลต์ของสารเสพติดในผู้ต้องสงสัยหรือผู้เสียชีวิต เนื่องจากในบางครั้งตัวอย่างเลือดหรือปัสสาวะนั้นอาจไม่พบโครงสร้างของสารเสพติดตั้งต้นแล้ว เนื่องจากกระบวนการเมทาโบไลต์ที่เกิดขึ้นในร่างกาย หรือสารเมทาโบไลต์นั้น ๆ เปลี่ยนสภาพไปอย่างรวดเร็วทำให้การตรวจพบนั้นเป็นไปได้ยาก เป็นต้น จึงจำเป็นต้องทำการตรวจเพื่อคัดกรองค้นหารูปแบบสารเมทาโบไลต์ใหม่ ๆ เพื่อหาความสัมพันธ์กับสารเสพติดที่เป็นสารตั้งต้นที่ต้องการค้นหา (ตารางที่ 2) ตัวอย่างเช่น ในการศึกษาด้าน metabolomic ของสาร gamma-hydroxybutyric acid (GHB) (จัดเป็นวัตถุออกฤทธิ์ในประเภท 1 ตามพระราชบัญญัติวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2559) ซึ่งเป็นสารที่ถูกสร้างในร่างกายโดยธรรมชาติ อีกทั้งได้นำมาใช้เป็นยาสลบ ยานอนหลับ และยารักษาภาวะง่วงหลับ แต่ก็ถูกนำไปใช้ในทางที่ผิดกฎหมาย ในการพิสูจน์ว่า GHB ที่พบนั้นเกิดขึ้นจากการกินเสพหรือเกิดขึ้นในร่างกายตามธรรมชาตินั้นจึงเป็นเรื่องที่ยากต่อการตรวจและแปลผล จากการศึกษาของ Steuer และคณะ[11] ได้ทำการตรวจตัวอย่างปัสสาวะของผู้ใช้ GHB เมื่อผ่านไป 4.5 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยผลจากการศึกษาพบสารเมทาโบไลต์ใหม่ของ GHB ประกอบด้วย GHB carnitine, GHB glycine และ GHB glutamate ซึ่งพบเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับ GHB และไม่พบในกลุ่มควบคุม สามารถใช้แยกบุคคลที่ได้รับ GHB จากการกินหรือเสพได้

ตารางที่ 2. รายชื่อสารเสพติดและสารเมทาโบไลต์ ที่ตรวจพบในมนุษย์ จากการศึกษาทาง metabolomics[12]
MDMA: 3,4-methylenedioxy-methamphetamine, GHB: gamma hydroxybutyrate

ชนิดสารเสพติด	ชนิดตัวอย่าง	สารเมทาโบไลต์
MDMA	เลือด	Adenosine monophosphate Adenosine Inosine s-adenosyl-l homocysteine Tryptophan Thiomorpholine Carboxylate
Crack	เลือด	Lactate Carnitine Histidine Tyrosine
Cannabinoids	น้ำลาย	Scopoletin 2-hydroxyethyl dodecylamine
GHB	ปัสสาวะ	GHB carnitine GHB glycine GHB glutamate

นิติวิทยาศาสตร์อื่น ๆ

ปัจจุบัน การศึกษาได้ขยายแนวความคิดและนำไปประยุกต์ใช้ในอีกหลายหลายมิติของงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ ตัวอย่างเช่น การประเมินทิศทางการยิงและวิถีกระสุนปืนที่ผ่านอวัยวะสำคัญในร่างกาย โดยอาศัยองค์ประกอบของโปรตีนที่สามารถบ่งชี้ถึงอวัยวะสำคัญต่าง ๆ ด้วยเทคโนโลยีการตรวจบนพื้นฐานของเทคนิค mass spectrometry โดยมีแนวคิดจากการศึกษาว่าหากกระสุนปืนลูกใดผ่านอวัยวะใด จะมีองค์ประกอบของโปรตีนที่สำคัญในการบ่งชี้อวัยวะ ผลจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า ในกระสุนที่ยิงผ่านสัตว์ทดลอง หากพบโปรตีน myosin binding protein C (MYPC3) และ troponin I (TNNI3) บ่งชี้ว่ากระสุนปืนนั้นผ่านหัวใจ หากพบโปรตีน calbindin (CALB1) และ Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF3 (NHRF3) บ่งชี้ว่ากระสุนปืนนั้นผ่านไต และหากพบโปรตีน plastin-2 (PLSL), cathelicidin-4 (CAMP) และ tubulin beta chain (TBB5) บ่งชี้ว่ากระสุนปืนนั้นผ่านปอด เป็นต้น[13]

บทสรุป

จะเห็นได้ว่าปัจจุบันการใช้ความรู้โอมิกส์ทางวิทยาศาสตร์ (omics science) ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านนิติเวชและนิติวิทยาศาสตร์ในหลากหลายมิติ ซึ่งข้อมูลจากการตรวจสามารถนำมาใช้ประเมินลักษณะที่มีประโยชน์ต่องานด้านนิติวิทยาศาสตร์ อีกทั้งการเชื่อมโยงข้อมูลการศึกษาอย่างเป็นระบบจะสามารถทำให้เข้าใจถึงกระบวนการทางพยาธิสรีรวิทยาในผู้เสียชีวิตหรือข้อมูลสุขภาพพื้นฐานของผู้เสียชีวิตเพื่อนำไปสู่การวินิจฉัยสาเหตุของการเสียชีวิตที่แท้จริงได้อย่างแม่นยำ

เอกสารอ้างอิง

1. Carter DO, Yellowlees D, Tibbett M. Cadaver decomposition in terrestrial ecosystems. Naturwissenschaften. 2007;94(1):12–24.
2. Pechal JL, Crippen TL, Tarone AM, Lewis AJ, Tomberlin JK, Benbow ME. Microbial community functional change during vertebrate carrion decomposition. PLoS One 2013;8(11).
3. Castillo-Peinado LS, Luque de Castro MD. Present and foreseeable future of metabolomics in forensic analysis. Anal Chim Acta 2016;925:1–15.
4. Zhu Y, Wang L, Yin Y, Yang E. Systematic analysis of gene expression patterns associated with postmortem interval in human tissues. Scientific Reports 2017;7(1):1–12.
5. Johansson Å, Enroth S, Gyllensten U. Continuous Aging of the Human DNA Methylome Throughout the Human Lifespan. PLoS One 2013;8(6):e67378.
6. Sukawutthiya P, Sathirapatya T, Vongpaisarnsin K. A minimal number CpGs of ELOVL2 gene for a chronological age estimation using pyrosequencing. Forensic Science International 2021;318:110631.
7. Neri M, Fabbri M, D'Errico S, di Paolo M, Frati P, Gaudio RM, et al. Regulation of miRNAs as new tool for cutaneous vitality lesions demonstration in ligature marks in deaths by hanging. Scientific Reports 2019;9(1):1–10.
8. Ros AC, Bacci S, Luna A, Legaz I. Forensic Impact of the Omics Science Involved in the Wound: A Systematic Review. Frontiers in Medicine 2022;8:2886.
9. Tang Y, Stahl-Herz J, Sampson BA. Molecular diagnostics of cardiovascular diseases in sudden unexplained death. Cardiovasc Pathol 2014;23(1):1–4.
10. Liu C, Zhao Q, Su T, Tang S, Lv G, Liu H, et al. Postmortem molecular analysis of KCNQ1, KCNH2, KCNE1 and KCNE2 genes in sudden unexplained nocturnal death syndrome in the Chinese Han population. Forensic Science International 2013;231:82-7.
11. Steuer AE, Raeber J, Steuer C, Boxler MI, Dornbierer DA, Bosch OG, et al. Identification

of new urinary gamma-hydroxybutyric acid markers applying untargeted metabolomics analysis following placebo-controlled administration to humans. Drug Test Anal 2019;11(6):813–23.

12. Szeremeta M, Pietrowska K, Niemcunowicz-Janica A, Kretowski A, Ciborowski M. Applications of metabolomics in forensic toxicology and forensic medicine. International Journal of Molecular Sciences 2021;22(6):1–16.
13. Dammeier S, Nahnsen S, Veit J, Wehner F, Ueffing M, Kohlbacher O. Mass-Spectrometry-Based Proteomics Reveals Organ-Specific Expression Patterns to Be Used as Forensic Evidence. Journal of Proteome Research 2016;15(1):182–92.