

Analiza dlake u forenzici

Košćec, Hana

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:307784>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

ANALIZA DLAKE U FORENZICI
HAIR IN FORENSIC ANALYSIS

SEMINARSKI RAD

Hana Košćec

Preddiplomski studij Biologije

Undergraduate Study of Biology

Mentor: izv. prof. dr. sc. Inga Urlić

Zagreb, 2020.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	3
2. FUNKCIJA, MORFOLOGIJA I RAST DLAKE	3
2.1 FUNKCIJA	3
2.2 GRAĐA.....	4
2.3 VRSTE DLAKE	6
2.4 CIKLUS RASTA	7
3. SAKUPLJANJE I POHRANA DLAKE ZA ANALIZU	8
4. MORFOLOŠKA ANALIZA	9
4.1 MAKROSKOPSKA ANALIZA.....	9
4.2. MIKROSKOPSKA ANALIZA	9
5. DNA ANALIZA.....	11
5.1 JEZGRINA DNA.....	11
5.2 MITOHONDRIJSKA DNA	12
6. KEMIJSKA ANALIZA	13
7. DLAKE KAO DOKAZ.....	15
8. ZAKLJUČAK	16
9. LITERATURA.....	17
10. SAŽETAK.....	18
11. SUMMARY	19

1. UVOD

Dlaka služi kao fizički dokaz u kriminalističkim istragama. Iako se ne može dokazati da dlaka pripada određenom pojedincu na temelju morfologije, djelomičan uspjeh pri identifikaciji pojedinaca omogućila je izolacija DNA iz dlake. Uklanjanje dlake s tijela ili prijenos prirodno otpale dlake s pojedinca na pojedinca često ukazuje na fizički kontakt, a time i potencijalan sukob nasilne prirode zbog čega se važnost dlake kao dokaznog materijala ne smije umanjivati.

Osim potvrde kontakta između osoba i identifikacije, najveća prednost dlake u forenzičkoj analizi jest sposobnost detekcije droge ili lijekova uslijed dugoročne konzumacije jednako kao i jednokratne uporabe. Za razliku od ostalih bioloških uzoraka koji se skupljaju za analize u forenzici kao što su krv, urin i slina, droge i lijekovi inkorporirani u dlaku ostaju relativno stabilni nakon mnogo mjeseci pa čak i godina.

Kada je dlaka pravilno sakupljena sa mjesta zločina i pohranjena u laboratoriju zajedno s referentnim uzorcima može poslužiti kao čvrsti dokaz koji smješta pojedinca na mjesto zločina ili ga pak oslobađa krivnje. Prvi korak u forenzičkoj analizi dlake obično započinje bojom, strukturom i morfološkim pregledom, a kasnije ekstrakcijom, izolacijom i karakterizacijom DNA.

2. FUNKCIJA, MORFOLOGIJA I RAST DLAKE

2.1 FUNKCIJA

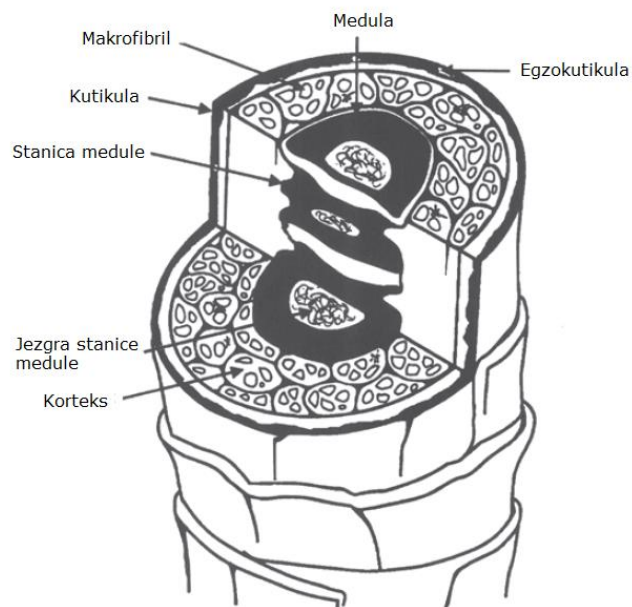
Dlake su jedna od glavnih karakteristika sisavaca. Služe im za regulaciju temperature, zaštitu od nepovoljnih vremenskih uvjeta ili predatora, a također imaju i osjetnu ulogu. Kod ljudi se dlake nalaze na čitavoj površini tijela osim na dlanovima, donjoj strani stopala, usnama i vanjskim dijelovima genitalija. Razlikuju se po boji i duljini, od kratkih i gotovo bezbojnih na većini tijela do dugih i čvrstih na glavi.

Broj folikula kod ljudi manji je nego kod ostalih sisavaca, no nije manji nego kod ostalih primata. Dojam „bezdakavosti“ zapravo je posljedica toga da su folikuli postali toliko mali da su dlake koje proizvode gotovo nevidljive na površini kože. Jedini uistinu goli sisavci su kitovi, koji su izgubili sve folikule (Montagna 1963).

2.2 GRADA

Dlaka raste iz organa koji se zove folikul. On nastaje invaginacijom epiderme i nalazi se uronjen 3-4 mm u dermu. U njemu se nalazi korijen dlake koji je glavna komponenta za njen rast. Iako je nitasti dio dlake „mrtav kao uže“ (Montagna 1963), folikul koji se nalazi u koži je živo tkivo. Dinamičan je i kompleksan organ znatnog interesa za molekularne biologe kao model stanične diferencijacije, razvoja tkiva i kontrole genske ekspresije (Hardy 1992). Povezan s folikulom nalazi se mišić *arrector pili* koji omogućava podizanje dlake, a kod nekih i jedna ili više lojnih žlijezda koje izlučuju ulje zbog kojeg je dlaka savitljiva. Mreže živaca i kapilara također okružuju folikule. Veličina folikula ovisi o više faktora, od kojih su neki položaj na tijelu i faza rasta u kojoj se dlaka nalazi.

Nitasti dio dlake naziva se os dlake i sastoji se od kutikule, korteksa i medule (Slika 1.). Medula se sastoji od stanica koje čine centralni kanal unutar dlake. Stanice medule proizvode protein koji se razlikuje od proteina koje proizvode stanice korteksa i kutikule po tome što sadrži aminokiselinu citrulin (Rogers 1959). Izgled medule varira od osobe do osobe ili čak između dlaka iste osobe. Može biti kontinuirana, diskontinuirana ili potpuno odsutna (često kod tankih dlačica).



Slika 1. Shematski prikaz prereza zrele dlake (preuzeto i prilagođeno prema Robertson 1999).

Korteks je glavni dio osi dlake a čine ga stanice vretenastog oblika koje obavijaju medulu, poredane u smjeru rasta dlake. On je od izrazite važnosti za forenzička istraživanja zbog toga što se u njemu nalaze pigmentne granule (melanosomi). Oni su elipsoidnog oblike duljine oko 1 μm i promjera 0.3 μm . Veličina, boja, oblik i distribucija pigmentnih granula pružaju važne točke usporedbe između dlaka različitih pojedinaca (Saferstein 2013). U sijedoj dlaci broj pigmentnih granula je manji dok ih u bijeloj dlaci nema (Szabo 1965). U ljudskoj dlaci granule su obično poredane bliže periferiji nego centru korteksa (Swift 1977), što je dobro vidljivo na Slici 2.

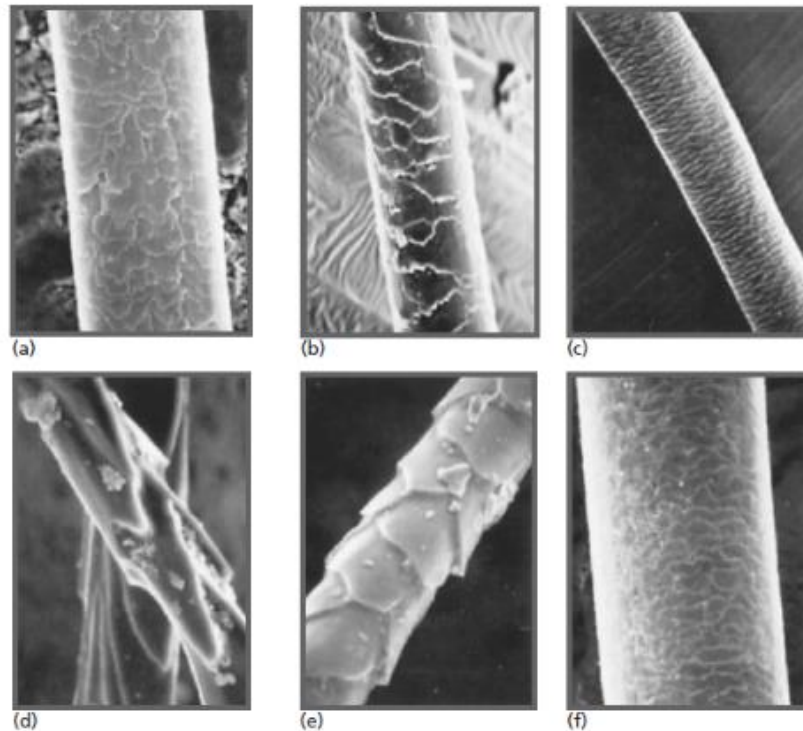


Slika 2. Poprečni presjek ljudske stidne dlake. Pigmenti se nalaze bliže periferiji. U meduli nema tkiva (Robertson 1999).

Boja dlake rezultat je varijacija količine četiri tipa melanina, a to su eumelanin i feomelanin te njihovi oksidativni produkti – oksieumelanin i oksifeomelanin. Uglavnom su tamnije nijanse povezane s dominacijom eumelanina, a svjetlije s oksieumelaninom. Feomelanin rezultira crvenim nijansama dlake, dok su svjetliji tonovi povezani s oksifeomelaninom (Kintz i sur. 2015). U svakoj dlaci postoje i eumelanin i feomelanin, jedino što se razlikuje su omjeri u kojima se nalaze.

Kutikulu čine ljuskice koje se međusobno preklapaju, uvijek u smjeru vrha dlake. Ljuskice su nastale od specijaliziranih stanica koje su u procesu rasta očvrtnule od keratina. Dvije osobine koje čine dlaku dobrim subjektom za korištenje u forenzičkim analizama su njena otpornost na kemijsku razgradnju i sposobnost očuvanja strukturalnih značajki tijekom dugog vremenskog razdoblja. Za velik dio te otpornosti i stabilnosti zaslužna je kutikula koja obavija dlaku (Saferstein 2013). Iako uzorak ljuskica nije korisna karakteristika za

individualizaciju ljudske dlake, važan je za identifikaciju vrste. Slika 3. prikazuje uzorke ljuskica različitih vrsta snimljenih elektronskim mikroskopom.



Slika 3. Uzorak ljuskica različitih tipova dlake: (a) ljudska kosa (600x), (b) pas (1350x), (c) jelen (120x), (d) zec (300x), (e) mačka (2000x), (f) konj (250x) (Saferstein 2013).

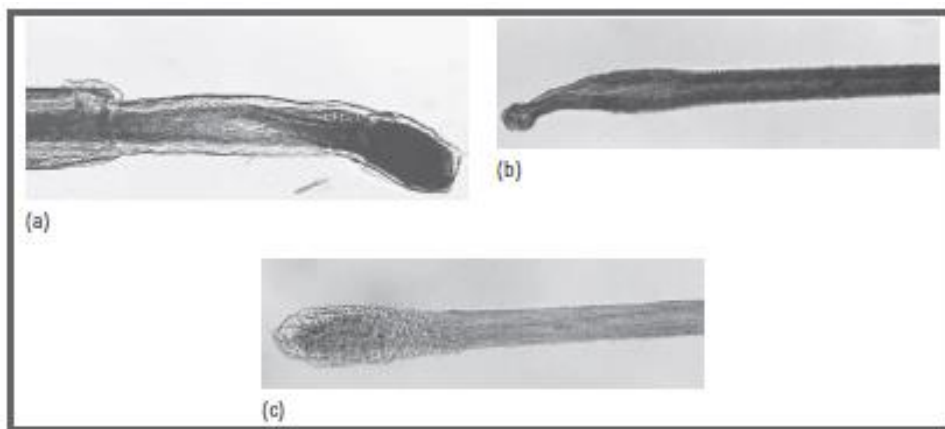
2.3 VRSTE DLAKA

Postoje dva tipa dlaka na ljudskom tijelu, a to su velus i terminalne dlake. Velus dlake prekrivaju većinu tijela djece i odraslih, kratke su, tanke i slabo pigmentirane. Za razliku od velus dlaka, terminalne dlake su pod utjecajem hormona i mijenjaju se tijekom puberteta pa postaju čvršće, dulje i pigmentiranije (npr. dlake pazuha i vanjskog područja genitalija). Tu također spadaju dlake koje se nalaze na glavi kao što su kosa, obrve, trepavice i brada. Postoji i prijelazni tip dlaka koji se nalazi na rukama i nogama odraslih ljudi i također je pod utjecajem hormona (Saferstein 2013).

2.4 CIKLUS RASTA

Ljudska dlaka, kao i dlake ostalih sisavaca, ne raste kontinuirano već prati ciklus rasta. U jednom ciklusu dlaka prolazi kroz tri faze: anagen (faza rasta), katagen (rast polako prestaje) i telogen (faza mirovanja). Svaki novi ciklus proizvodi novu dlaku koja može rasti uz već postojeću ili je zamijeniti (Robertson 1999).

Anagen je faza velike metaboličke i mitotičke aktivnosti, period aktivnog rasta u kojemu se stanice korijena dlake u folikulu intenzivno dijele i stvaraju dlaku koju vidimo iznad kože, a može potrajati do nekoliko godina. Nakon faze aktivnog rasta dolazi katagen, period kada dioba stanica polako staje, dlaka postaje u potpunosti keratinizirana a korijen polako degenerira. Traje 2-4 tjedna. Kada dlaka prestane rasti znači da je ušla u fazu mirovanja odnosno telogen, koji traje oko 10 tjedana. Rasa, prehrana, bolesti i dob neki su od faktora koji mogu utjecati na brzinu i duljinu trajanja različitih faza rasta. Oko 85% svih dlaka na ljudskom tijelu nalazi se u fazi rasta, a ostalih 15% u fazi mirovanja, nakon koje dlaka prirodno otpad (Kintz i sur. 2015). Dlaka se može ukloniti s tijela i tijekom faze aktivnog rasta npr. čupanjem. Faza rasta može se odrediti mikroskopskim pregledom korijena dlake (Slika 4.). Kada je potegnuta iz korijena, dlaka u anagen fazi ima folikularni privjesak, proziran komadić tkiva bogat DNA koji je važan u individualizaciji dlake DNA analizom. Prirodno otpala dlaka na korijenu nema tkivo (Saferstein 2013).



Slika 4. Korijen dlake u (a) anagen fazi, (b) katagen fazi, (c) telogen fazi rasta (100x)
(Saferstein 2013).

Ciklus rasta dlaka prirodni je uzrok periodičnog ispadanja dlake i zamjene novom dlakom koja ne mora biti identična prethodnoj. To periodično linjanje razlog je zbog kojeg dlaka s tijela često bude pronađena na odjeći i mjestu zločina što je čini dokazom u

forenzičkoj znanosti. Do prijenosa može doći direktno s tijela na kojem raste i to se naziva primarni prijenos. Također, dlake se mogu prenijeti i s odjeće pojedinca što se naziva sekundarnim prijenosom. Dlake pronađene na mjestu zločina koje su otpale prirodno mogu biti rezultat primarnog ili sekundarnog prijenosa dok dlake koje su uklonjene s tijela u fazi aktivnog rasta obično upućuju na susret nasilne prirode (www.fbi.com).

3. SAKUPLJANJE I POHRANA DLAKE ZA ANALIZU

Fizički dokazi obuhvaćaju sve predmete koji mogu potvrditi da se dogodio zločin ili ga povezati s pojedincem, bilo kao žrtvu ili napadača. Ne mogu se pokupiti svi predmeti oko mjesta zločina jer nije moguće sve prenijeti do laboratorija niti za to ima dovoljno mjesta, već se odluci o tome koji predmeti su relevantni treba pristupiti sa znanjem laboratorijskih tehnika, kapaciteta i ograničenja (www.fbi.com).

Forenzička analiza započinje na mjestu zločina. Prvi službenik koji stiže zaslužan je zaštititi područje od vanjske kontaminacije na način da određuje granice mjesta zločina i s njega udaljava sve neovlaštene osobe. Nakon što je područje osigurano, svi dokazi moraju biti dokumentirani i fotografirani na mjestu gdje su pronađeni (www.fbi.com). Potraga za fizičkim dokazima mora biti temeljita i ništa se ne smije previdjeti.

Dlaka često služi kao biološki dokaz. Najbolje je imati što veći uzorak jer između različitih dlaka na pojedincu postoje velike varijacije. Kao i ostali fizički dokazi mora biti procesuirana na način da se spriječi bilo kakva promjena od kad je pokupljena do kad stigne u laboratorij. Do promjena može doći zbog kontaminacije, lomova, slučajnog savijanja ili trganja i gubitka materijala. Svi dokazi sakupljeni na različitim lokacijama moraju biti spremjeni u različite spremnike. Pakiranje dokaza odvojeno sprječava štetu i međusobnu kontaminaciju (Saferstein 2013).

Najčešće metode sakupljanja dlake uključuju sakupljanje pincetom ili rukama s rukavicama te ljepljivu traku za sakupljanje sitne nevidljive dlake s npr. odjeće. Na dlaci se mikroskopski jasno vidi je li dlaka kemijski tretirana, je li odrezana ili iščupana na određen način i s kojeg dijela tijela potječe, a DNA analiza može otkriti razne genetičke informacije kao što su krvna grupa, dob i spol. Testiranje dlake također može biti korisno u dokazivanju je li pojedinac bio otrovan ili pod utjecajem droge. Obzirom da unutar dlake nema aktivnog metabolizma, mnogi sastojci su sačuvani u njoj zbog čega se može vidjeti i čitava povijest uzimanja droge i lijekova (Robertson 1999).

Ako postoji referentni uzorak za usporedbu s nepoznatim, važno je da oba potječu s istog dijela tijela budući da dlaka s različitih dijelova tijela varira u fizičkim karakteristikama pa se ne može uspoređivati npr. vlas kose sa stidnom dlakom. Također, pri uzimanju referentnih uzoraka važno je uzeti reprezentativni uzorak dlake. Na dlaku mogu utjecati razni vanjski uvjeti zbog čega je poželjno da referentni uzorak bude sakupljen u isto vrijeme kad i onaj koji ispituje (www.fbi.com).

4. MORFOLOŠKA ANALIZA

4.1 MAKROSKOPSKA ANALIZA

Duljina, boja i kovrčavost su makroskopske karakteristike. Dlake na glavi koje čine kosu obično su najdulje dlake na tijelu. Više su pogodne alternaciji od ostalih dlaka što uključuje izbjeljivanje, bojenje ili prirodne promjene zbog izloženosti Sunčevoj svjetlosti, ekstremnoj suhoći ili vjetru. Zbog toga što kosa može biti pogođena brojnim prirodnim i kemijskim promjenama, poželjno je da s mjesta zločina bude sakupljena čim ranije. Dlake sakupljene godinama nakon zločina obično nisu primjerene za uspoređivanje (www.fbi.gov).

Obzirom da je kosa često uspoređivana u forenzičkom laboratoriju, važno je imati odgovarajuće poznate uzorke od osumnjičenih ili žrtava. To kod kose uključuje nasumične vlasi s različitih dijelova glave. Uzorak bi trebao sadržavati vlasi koje su ispale tijekom normalnog ciklusa rasta, prikupljene češljanjem, i vlasi aktivno počupane, zapakirane odvojeno.

U usporedbi dlake forenzičarima su posebno zanimljive boja, duljina i dijametar dlake. Ostale karakteristike od važnosti uključuju morfološke abnormalnosti uslijed određenih bolesti ili nedostatka hranjivih tvari. Također, prisutnost gljivičnih infekcija ili uši može biti korisna u povezivanju dlake s pojedincem (Saferstein 2013).

4.2. MIKROSKOPSKA ANALIZA

Mikroskopske karakteristike uključuju prisustvo ili odsustvo medule, pigmentaciju korteksa i tipove ljuskica na kutikuli (Saferstein 2013). Pregledavanje ljudske dlake u forenzičkom laboratoriju provodi se pomoću svjetlosne mikroskopije. To uključuje dva procesa – identifikaciju dlake i usporedbu s poznatom dlakom. Cilj pregleda je utvrditi je li

postojao kontakt između više pojedinaca ili pojedinca i određenog predmeta. Ti dokazi povezivanja posebno su korisni u nasilnim zločinima u kojima dolazi do fizičkog kontakta, kao što su ubojstvo ili seksualni napad. Također se koriste i u slučajevima provale ili oružane pljačke.

Analiza dlake uključuje nekoliko koraka, od kojih je prvi utvrđivanje potječe li dlaka od životinje ili od čovjeka. Osnovna morfologija ljudske dlake je zajednička svim pojedincima u populaciji, ali raspored, distribucija i izgled pojedinih mikroskopskih karakteristika unutar različitih dijelova dlake omogućuju raspoznavanje između pojedinaca (www.fbi.gov).

Za paralelnu analizu i usporedbu dvije dlake (referentne i one koja se ispituje) posebno je koristan usporedni mikroskop. On se sastoji od dva svjetlosna mikroskopa povezana optičkim mostom koji omogućuje istodobno promatranje dvije dlake na način da na staklu jednog mikroskopa promatramo referentnu dlaku a na drugom „nepoznatu“ dlaku. Povećanje varira od 40x do 400x. Vrijednost dlake kao dokaza je u varijabilnosti njenih karakteristika između pojedinaca u populaciji koje mogu biti vidljive putem svjetlosne mikroskopije. Iako je dlaka vrijedan alat u identifikaciji pojedinca, teško je ustanoviti statističku vjerojatnost za određenu povezanost zbog nedostatka pouzdanih kvantitativnih procjena mikroskopskih karakteristika dlake (Saferstein 2013).

Pomoću mikroskopske analize dobivaju se odgovori i na mnoga druga pitanja. Već je ranije spomenuto da se može vidjeti je li dlaka prirodno otpala ili je nasilno iščupana, kao i s kojeg dijela tijela potječe (Saferstein 2013). Dlake kose obično imaju malu varijabilnost u promjeru i uniformniji raspored pigmentnih zrnaca od ostalih dlaka. Pubične dlake su kratke i kovrčave, s velikim varijacijama u promjeru dlake, i obično imaju kontinuiranu medulu. Dlake brade i brkova su čvrste, obično trokutaste u presjeku, imaju široku medulu i tupe vrhove zbog brijanja ili šišanja. Dlake udova su kratke, polumjesečastog oblika s diskontinuiranom medulom. U analizi se najčešće koriste kosa i pubične dlake, no ostale dlake tijela mogu potkrijepiti informacije dobivene forenzičkom istragom (www.fbi.gov).

Također, dlake mogu odrediti i kavkasku (europsko podrijetlo), negroidnu (afričko podrijetlo) i mongoloidnu (azijsko podrijetlo) rasu pojedinca. Za određivanje rase najbolje je promatrati dlake na glavi tj. kosu. Negroidna dlaka je obično kovrčava i sadrži guste nejednolike raspoređene pigmente. Kavkaske dlake su obično ravne i valovite, a pigmentna zrnca su raspoređena više jednolike. Mongoloidne dlake, kao i negroidne, imaju gusto raspoređena pigmentna zrnca ali za razliku od pigmentata kod negroidnih dlaka, pigmenti u mongoloidnim ne tvore nakupine. Također, mongoloidna dlaka obično ima veći promjer nego

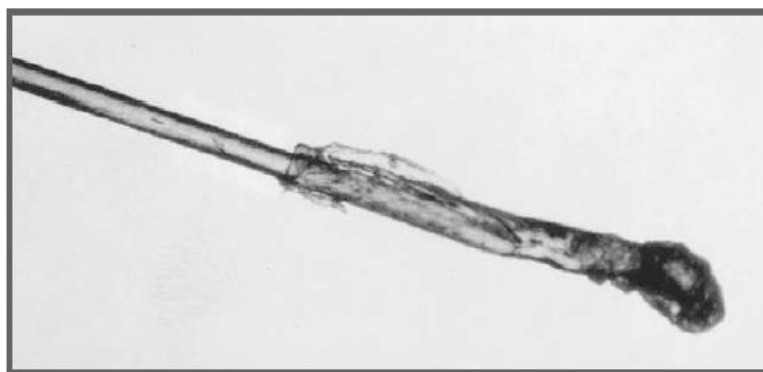
dlake ostale dvije rase. U poprečnom presjeku kavkaska dlaka je ovalna ili okrugla, mongoloidna okrugla, a negroidna ima plosnati ili ovalni oblik (www.fbi.gov). Naravno to su sve općenite karakteristike s uvijek postojećim iznimkama. Kod ljudi miješanih rasa određivanje je teže obzirom da sadrže karakteristike različitih rasnih skupina, kao i kod novorođenčadi čije su dlake vrlo tanke i kratke. Dob i spol pojedinca ne mogu se utvrditi mikroskopskom analizom osim kada je riječ o novorođenčetu čije su dlake vrlo fine s pravilnom pigmentacijom (Saferstein 2013).

Mikroskopska usporedba dlaka dugo je bila prihvaćena kao ispravan način za uspoređivanje nepoznatih uzoraka s referentnima no mnogi su forenzički znanstvenici prepoznali da je taj pristup zapravo vrlo subjektivan i ovisi o sposobnosti, integritetu, iskustvu i obuci znanstvenika koji analizira uzorke, kao i adekvatnosti opreme. Osim toga FBI je objavio postotak pogreške na dlaci analiziranoj između 1996. i 2000. godine. Kod dlaka koje su bile analizirane mikroskopskom usporedbom i DNA analizom ustanovljeno je da je pogreška kod mikroskopske analize bila 11% (Saferstein 2013). Iz toga je jasno da iako mikroskopska analiza forenzičkim znanstvenicima može biti dobro pomagalo u istraživanju, DNA analiza je neophodna za točne rezultate.

5. DNA ANALIZA

5.1 JEZGRINA DNA

Nekada je analiza dlake bila ograničena na mikroskopsku analizu i usporedbu, analizu proteina i određivanje spola na temelju spolnih kromosoma. Velik nedostatak bio je da su se te analize mogle provoditi samo na dlakama koje su iščupane u aktivnoj fazi rasta što nije povoljno budući da je obično većina dlaka pronađenih na mjestu zločina prirodno otpala. U današnje vrijeme taj je nedostatak riješen izolacijom i analizom DNA iz dlake. Forenzički znanstvenici mogu individualizirati tj. povezati ljudsku dlaku s osobom koristeći jezgrinu DNA iz folikularnog tkiva s korijena dlake koje je najbogatiji izvor DNA (Slika 5.). Ako nema folikularnog tkiva DNA može biti ekstrahirana iz korijena pri čemu je važno u kojoj se fazi rasta dlaka nalazila. Uspjeh je veći pri ekstrakciji DNA iz korijena dlake koja se nalazila u anagenu ili na prijelazu iz anagena u katagen nego u telogenu jer kada dlaka uđe u stanje mirovanja korijen degenerira i sadrži manju količinu DNA (Saferstein 2013). Kod nasilnih zločina ipak nije neuobičajeno da je mjesto događaja preplavljeno dlakama iščupanima u aktivnoj fazi rasta što može poslužiti kao dobar izvor DNA (www.fbi.com).



Slika 6. Dlaka nasilno uklonjena s tijela s prisutnim folikularnim tkivom (Saferstein 2013).

Tehnike tipizacije DNA i genetičkih markera su osjetljive i visoko specifične. Najčešće korištene metode su metoda polimorfizama dužine restrikcijskih fragmenata (RFLP) ili polimerazna lančana reakcija (PCR) nakon koje slijedi sekvenciranje i tipiziranje specifičnih genetičkih markera. Bilo koji materijal, uključujući dlaku, koji sadrži stanice s jezgrom može potencijalno biti tipiziran za DNA polimorfizme. No, dlake u telogenskoj fazi sadržavaju vrlo malo DNA tako da DNA markeri ne mogu biti detektirani čak niti uporabom PCR-a (Robertson 1999). Ako dlaka nema ni folikularni privjesak ni korijen ili kada je ekstrahirane DNA vrlo malo ili je degradirana, u tkivima kao što su kosti, zubi i dlake, vjerojatnost dobivanja rezultata veća je kod mitohondrijske DNA (mtDNA) nego polimorfničkih markera pronađenih u jezgri DNA (Saferstein 2013).

5.2 MITOHONDRIJSKA DNA

Za razliku od jezgrine DNA koja je pronađena u jezgrama gotovo svake stanice u tijelu i nasljeđuje se po majci i ocu, mtDNA se nalazi u staničnom materijalu izvan jezgre i nasljeđuje se samo po majci. To može biti korisno u forenzičkim slučajevima kao što su analiza ostataka nestale osobe kada rođaci s majčine strane mogu dati uzorke za direktnu usporedbu mtDNA. Također postoji puno više kopija mtDNA u stanicama od jezgrine DNA zbog čega je puno veći uspjeh pronalaženja mitohondrijske DNA. Već dlake duljine 1 do 2 centimetra mogu biti podvrgnute analizi mtDNA sa vrlo velikom mogućnosti uspjeha (Saferstein 2013).

Ako je dovoljno očuvana, jezgrina DNA može poslužiti za individualizaciju dlake i daje točnost jedan naprema milijardu ili bilijardu. Mitohondrijska DNA ne može služiti za individualizaciju ljudske dlake jer se nasljeđuje samo po majčinoj liniji, no može se koristiti kao genetički marker koji se može tipizirati u dlakama u telogenu kada nema dovoljno

jezgrine DNA. Budući da stanica sadrži više od 5000 kopija mtDNA u usporedbi sa samo dvije kopije genskih lokusa u jezgrinoj DNA (Bogenhagen i Clayton 1974), mtDNA pruža najbolji pristup za genetičko tipiziranje dlaka. Također, u mtDNA ne dolazi do rekombinacije, no slaba točnost mtDNA polimeraze i očigledan nedostatak popravni mehanizama dovode do više stope mutacije u mitohondrijskom genomu u usporedbi s jezgrinim genomom (Robertson 1999). Neke regije mtDNA evoluiraju pet do deset puta brže nego pojedina kopija jezgrinog gena (Brown i sur. 1982). Te su regije od velikog interesa za forenzičke znanstvenike jer mogu pomoći u razlikovanju individualaca unutar ljudske populacije.

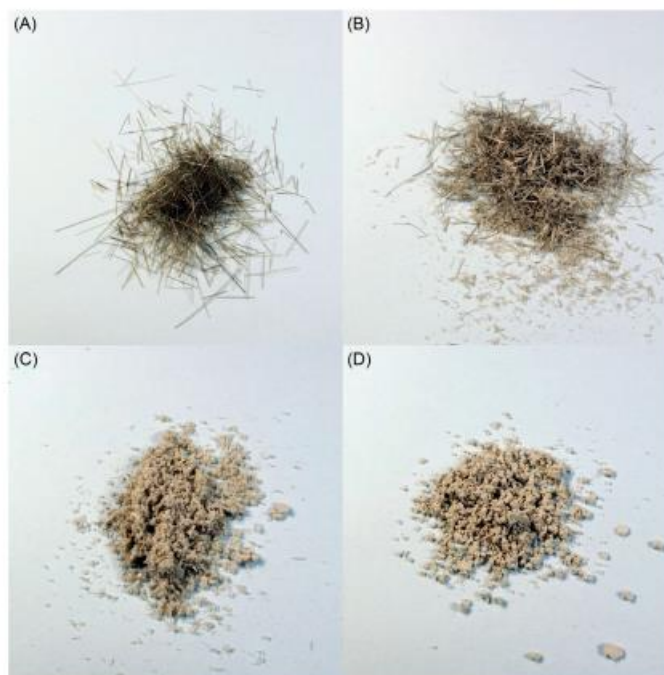
Svaki tip analize ima svoje prednosti (i nedostatke) zbog čega ih je idealno kombinirati. Prvo bi trebalo doći do odgovarajuće mikroskopske usporedbe nakon koje će jezgrine ili mitohondrijske DNA analize potvrditi povezanost nepoznate i referentne dlake. Ono što se kod analize mtDNA obavezno treba imati na umu je da se ne mogu razlikovati mikroskopski slične dlake od onih koje su majčinski povezane (Saferstein 2013).

6. KEMIJSKA ANALIZA

Mnoga se polja znanosti bave kemijskom analizom sastava u ljudskim dlakama, posebno ako se primjene odnose na forenzičku toksikologiju i ekotoksikologiju (Kintz i sur. 2015). U forenzičkoj toksikologiji, kemijska analiza dlake koristi se za detekciju lijekova i rekreacijskih droga, npr. amfetamina, kokaina i heroina. Prednost kemijske analize dlake je da je manje invazivna nego analiza krvi, a jednako je univerzalno primjenjiva. Također, dlaka zbog sporog rasta ima mogućnost prikazati povijest uporabe droga zbog čega se može koristiti za retrospektivne ciljeve, kada se očekuje da krv i urin više ne sadrže određeni kontaminant (obično nakon 3 mjeseca ili manje). Neki kozmetički tretmani kao što su bojanje kose mogu pridonijeti razgradnji lijekova, ali ne u potpunosti. U takvim se slučajevima mora uzeti u obzir kozmetička povijest osobe tijekom tumačenja rezultata analize kose (Robertson 1999).

Kada se za identifikaciju uporabe droga koristi analiza kose, glavno ograničenje je vanjska kontaminacija. Prije i za vrijeme analize mora se obratiti pozornost na područja mogućih kontaminacija, kao i pri tumačenju rezultata. To može uključivati vanjsku izloženost lijekovima i laboratorijsku kontaminaciju. Općenito, strategija dekontaminacije za uklanjanje vanjskog onečišćenja moraju sadržavati početno organsko otapalo za uklanjanje lipofilnih onečišćenja poput voska za kosu, što je popraćeno ispiranjem. Nakon pranja potreban segment kose se suši te se reže na sitne komade. Potrebna količina dlake za analizu koju

preporučuje The Society of Hair Testing (SoHT) iznosi 10-50 mg, no za neke analize dovoljno je i samo 2 mg (Kintz i sur. 2015). Bitno je da se uzorci kose režu na manje komadiće i samelju u prah kako bi bili sigurni da se za analizu koristi alikvot reprezentativnog uzorka. Da bi se osigurao reprezentativan i homogen uzorak, izvorna količina uzorka trebala bi biti dovoljno velika, a vrijeme mljevenja dovoljno dugo da se dobije fini prah kao što je prikazano na Slici 7.



Slika 7. Fotografije uzoraka kose nakon različitih vremena mljevenja. (A) kosa prije mljevenja, (B) nakon 6 min mljevenja, (C) nakon 15 min, (D) nakon 25 min. Da bi se osigurao reprezentativni i homogeni uzorak potrebno je dobiti fini prah kao što je prikazano na slici (D) (Kintz i sur. 2015).

Uobičajeni analitički pristup uključuje probirni test pomoću imunološkog ispitivanja nakon čega slijedi potvrda pozitivnih rezultata upotrebom plinske ili tekuće kromatografije (GC ili LC) zajedno s masenom spektrometrijom (MS). Pozitivan rezultat analize kose može se upotrijebiti za potvrđivanje da je osoba koristila ili bila izložena lijeku ili drogi. Za alkohol, izravno određivanje samog etanola u kosi nije moguće zbog njegove hlapljivosti i potencijalne apsorpcije iz vanjskih izvora. Umjesto toga, u kosi se trebaju mjeriti manji metaboli etanola npr. etilni esteri glukuronida (EtG) ili etilni esteri masnih kiselina (FAEE) kao izravni pokazatelj konzumacije alkohola. Pri testiranju na opijate koriste se imunokemijski ili kromatografski test, a granična vrijednost koja daje pozitivan rezultat iznosi 0.2 ng/mg za svaki spoj. Konzumacija heroina mora se razlikovati od konzumacije kodeina ili morfija po prisutnosti 6-acetilmorfina (Kintz i sur. 2015).

7. DLAKA KAO DOKAZ

Dlaka je jedan od najčešćih forenzičkih dokaza i nerijetko može poslužiti kao čvrst dokaz protiv osumnjičenoga. Tako je bilo i u slučaju Ennisa Cosbyja, jedinog sina glumca Billa Cosbyja, čije se ubojstvo na prvi pogled činilo nerješivo, kao slučajan događaj bez dokaza. Ennis je autom stao uz rub ceste zbog prazne gume i nazvao prijateljicu moleći je za pomoć. Ubrzo nakon napao ga je nepoznat čovjek tražeći novac i, kada Cosby nije odreagirao dovoljno brzo, pucao mu je u glavu. Prijateljica koju je nazvao vidjela je sumnjivca kako bježi i opisala ga kao mladog bijelca koji je nosio kapu. Nakon što je objavljena službena skica sumnjivca, policija je primila preko 800 dojava, uključujući i onu o Mikhailu Markhasevu.

Nedaleko od mjesta ubojstva pronađen je .38 kalibar revolver zamotan u plavu kapu. Na sudu, Cosbyjev je odvjetnik prezentirao pištolj kao dokaz. Ono što je dramatično povezalo Markhaseva s ubojstvom bila je jedna dlaka pronađena u kapi zajedno s oružjem. Forenzički analitičar policijske uprave Los Angelesa Harry Klann identificirao je 6 DNA markera iz folikularnog tkiva na korijenu dlake koji su se poklapali s Markhasevom DNA. Taj određeni profil pojavljuje se kod 1 od 15000 pojedinaca. Uzevši u obzir sve dokaze, porota je osudila Markhaseva za ubojstvo Ennisa Cosbyja, nakon čega je uslijedilo i njegovo priznanje (Saferstein 2013).

8. ZAKLJUČAK

Dlake su jedna od glavnih karakteristika sisavaca pa tako i ljudi te služe za regulaciju temperature, zaštitu i osjet. Vrlo su važne u kriminalističkim istragama zato što rast u ciklusima i periodičan gubitak dlaka na tijelu omogućava da često budu pronađene na mjestu zločina. Osim toga, prilikom nasilnog obračuna nerijetko dolazi do nehotičnog čupanja dlaka koje se nalaze u fazi rasta i koje će sa sobom potegnuti i dio folikularnog tkiva bogatog DNA.

Da bi poslužila kao validan dokaz dlaku je s mjesta zločina važno pravilno sakupiti i očuvati nepromijenjenu do dolaska u laboratorij. Do promjena može doći zbog kontaminacije, lomova, slučajnog savijanja ili trganja i gubitka materijala. Najčešće metode sakupljanja dlake uključuju sakupljanje pincetom ili rukama s rukavicama te ljepljivu traku za sakupljanje sitne nevidljive dlake. Ako postoji referentni uzorak za usporedbu s nepoznatim važno je da oba potječu s istog dijela tijela te da budu sakupljeni približno u isto vrijeme. Također, pri uzimanju referentnih uzoraka važno je uzeti reprezentativni uzorak dlake.

Vrijednost dlake je u varijabilnosti njenih karakteristika između pojedinaca u populaciji koje mogu biti vidljive putem svjetlosne mikroskopije. U mikroskopskoj analizi važna je usporedba dlaka usporednim mikroskopom, pri čemu se pronađene dlake uspoređuju s poznatim referentnim uzorcima. U usporedbi dlake forenzičarima su posebno zanimljive boja, duljina i dijametar dlake. Nakon toga slijedi DNA analiza koja može pružiti puno informacija o pojedincu kao što su dob, spol, krvna grupa ili potvrditi rezultate dobivene mikroskopskom usporedbom. Testiranje dlake također može biti korisno u dokazivanju je li pojedinac bio otrovan ili pod utjecajem droge. Obzirom da unutar dlake nema aktivnog metabolizma, mnogi sastojci su sačuvani u njoj zbog čega se može vidjeti i čitava povijest uzimanja droge i lijekova.

Najveći uspjeh pri analizi je individualizacija dlake tj. povezivanje dlake s osobom. Moguća je ako se iz folikularnog tkiva ili korijena dlake uspije izolirati nuklearna DNA. Ako dlaka nema ni folikularni privjesak ni korijen ili kada je ekstrahirane DNA vrlo malo (ili je degradirana), pomoć pri identifikaciji može pružiti mtDNA, no ona ne može poslužiti za individualizaciju jer se nasljeđuje samo po majčinoj liniji. Uklanjanje dlake s tijela ili prijenos prirodno otpale dlake s pojedinca na pojedinca često ukazuje na fizički kontakt a time i potencijalan sukob nasilne prirode. Forenzičkom analizom dlaka može gotovo neoborivo smjestiti počinitelja na mjesto zločina zbog čega se važnost dlake kao dokaznog materijala ne smije umanjivati.

9. LITERATURA

- BOGENHAGEN, Daniel; CLAYTON, David A. The number of mitochondrial deoxyribonucleic acid genomes in mouse L and human HeLa cells Quantitative isolation of mitochondrial deoxyribonucleic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 1974, 249.24: 7991-7995.
- BROWN, Wesley M., et al. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *Journal of molecular evolution*, 1982, 18.4: 225-239.
- HARDY, Margaret H. The secret life of the hair follicle. *Trends in Genetics*, 1992, 8.2: 55-61.
- KINTZ, Pascal; SALOMONE, Alberto; VINCENTI, Marco. *Hair analysis in clinical and forensic toxicology*. Academic Press, 2015.
- MONTAGNA, William. Phylogenetic significance of the skin of man. *Archives of dermatology*, 1963, 88.1: 1-19.
- ROBERTSON, James R. (ed.). *Forensic examination of hair*. CRC Press, 1999.
- ROGERS, G. E. Newer findings on the enzymes and proteins of hair follicles. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1959, 83.3: 408-428.
- SAFERSTEIN, Richard. *From Crime Scene to Crime Lab*. 2013.
- SWIFT, J. A. The histology of keratin fibers. In: *Chemistry of natural protein fibers*. Springer, Boston, MA, 1977. p. 81-146.
- SZABÓ, G. Current state of pigment research with special reference to macromolecular aspects. In: *Biology of Skin and Hair Growth*. Sydney, Aust.: Angus and Robertson, 1965. p. 705-726.

Internetski izvori

<https://archives.fbi.gov/archives/about-us/lab/forensic-science-communications/fsc/july2000/deedric1.htm> (1. lipnja 2020.)

<https://www.crimemuseum.org/crime-library/forensic-investigation/biological-evidence-hair/> (1. lipnja 2020.)

10. SAŽETAK

Dlaka je jedna od glavnih karakteristika sisavaca. Raste iz folikula u dermi i prolazi kroz tri faze: anagen, katagen (faze rasta) i telogen (faza mirovanja) nakon kojeg dlaka prirodno ispada i ciklus se ponavlja. To periodično ispadanje dlaka jedan je od razloga zašto je često pronađena na mjestu zločina. Također može biti iščupana u fazi aktivnog rasta i tada postoji velika mogućnost da na korijenu ima ostatak folikularnog tkiva koje je bogat izvor DNA. Forenzička analiza dlake obično započinje makroskopskom i mikroskopskom analizom nakon kojih slijedi DNA analiza. Da bi poslužila kao validan dokaz dlaka mora biti pravilno sakupljena sa mjestu zločina i pohranjena u laboratorij zajedno s referentnim uzorcima. Na dlaku mogu utjecati brojni vanjski uvjeti zbog čega je poželjno da referentni uzorak bude sakupljen u isto vrijeme kad i onaj koji se ispituje. Za uspoređivanje dva uzorka koristan je usporedni mikroskop koji se sastoji od dva svjetlosna mikroskopa povezana optičkim mostom. Osim usporedbe nepoznate i referentne dlake, mikroskopska analiza može dati informacije o području rasta dlake, rasi i je li nasilno iščupana. U otkrivanju dobi i spola ili pak individualizaciji neophodna je DNA analiza, koja je moguća ako se iz folikularnog tkiva ili korijena dlake uspije izolirati nuklearna DNA. Ako dlaka nema ni folikularni privjesak ni korijen ili kada je ekstrahirane DNA vrlo malo (ili je degradirana), pomoć pri identifikaciji može pružiti mtDNA, no ona ne može poslužiti za individualizaciju jer se naslijeđuje samo po majčinoj liniji.

11. SUMMARY

Hair is one of the main characteristics of mammals. It grows from follicle located in dermis in three phases: anagen, catagen (growing phases) and telogen (resting phase), after which the hair falls off and the cycle repeats. This periodical shedding is one of the reasons why it is commonly found on crime scenes. It can also be pulled out in growing phase and then there is a big possibility that it contains a part of follicular tissue which is a rich source of DNA. Forensic analysis usually begins with macroscopic and microscopic analysis which is followed by DNA analysis. To be used as valid proof, hair must be properly collected at the scene and stored together with reference samples. Hair can be affected by many factors which is why it's important for reference sample to be collected at the same time as the unknown one. Comparison microscope is used for comparison of two samples. It consists of two light microscopes connected by an optical bridge. Besides comparison, microscopic analysis can reveal information about area of hair growth, race and if it's violently pulled out. However, DNA analysis is necessary in detecting age and gender and individualisation, which is possible if DNA can be extracted from follicular tissue or hair root. If the hair doesn't have follicular tag or root, or there is not enough of extracted DNA (or it's degraded), mtDNA can help with identification, but it can't be used for individualisation since it is inherited only from mother's side.