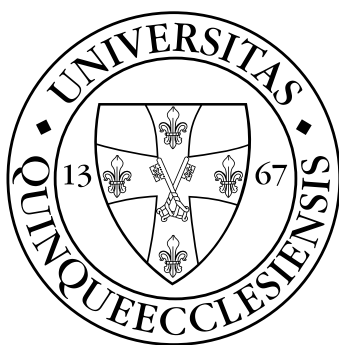


RNS alapú módszerek alkalmazása
az igazságügyi orvostanban

Doktori (PhD) – értekezés

Poór Viktor Soma



Témavezető: Dr. Sipos Katalin
Programvezető: Dr. Miseta Attila
Doktori Iskola vezetője: Dr. Kovács L. Gábor

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Pécs

2018.

Bevezetés

Posztmortem intervallum (PMI) becslésére irányuló hagyományos módszerek

A posztmortem intervallumon (PMI) egy adott személy halála és a holttestének feltalálását követő halottvizsgálata között eltelt időt értjük. Ezen időszakasz tartamának lehető legpontosabb becslése az igazságügyi orvostan intenzíven kutatott területe.

A klasszikus hullajelenségek (süllyedéses hullafoltok, beivódásos hullafoltok, hullamerevség és a holttest kihűlése) alapján adott becslés igen nagy bizonytalanságot hordoz magában, illetve külső és belső tényezők jelentősen befolyásolhatják.

Hosszabb fekvési idő esetén a holttest kolonizációja alapján az igazságügyi entomológia alkalmazásával adható becslés. Ez azonban nagyon speciális szaktudást igényel, továbbá a becslés ebben az esetben is jelentős bizonytalanságot hordoz.

RNS degradáció és posztmortem intervallum összefüggése

A DNS az RNS-nél jóval nagyobb stabilitást mutat, ami részben a szerkezetbeli különbséggel, részben pedig a környezetben megtalálható RNáz enzimek aktivitásával magyarázható.

Setzer és munkatársai vér, nyál és ondó foltokban, illetve hüvelyi törletekben vizsgálták az RNS detektálhatóságát. Tapasztalataik szerint szobahőmérsékleten, fénytől és nedvességtől elzártan tartott minták némelyikéből akár 547 nap elteltével is lehetséges volt a pozitív PCR reakcióhoz elegendő mennyiségű RNS-t izolálni. Azonban a környezeti hatásoknak kitett mintákban az RNS stabilitása drasztikusan lecsökkent.

Sampaio-Silva és munkatársai egér harántcsíkt izom modellben vizsgálták a PMI hatását az RNS degradációjára. Általánosan kifejeződő, ún. housekeeping génekről (*Actb*, *Gapdh*) és harántcsíkt izomszövetre specifikus génekről átíródó mRNS molekulák mennyiségének változását mérték kvantitatív real-time PCR segítségével. A legstabilabb *Rps29* mRNS (riboszómális fehérjét kódoló) Ct értékével normalizálva a többi géntermék Ct értéke a PMI növekedésével egyenesen arányosan növekedett. A felállított matematikai modell nagy

pontossággal becsülhetővé tette a PMI-t, azonban csak a halál beállta után kilenc óráig. Gyakorlati alkalmazás szempontjából az ennyire rövid időintervallum használhatósága limitált.

A PMI meghatározásával párhuzamosan több RNS alapú igazságügyi kutatási terület is nyílt az elmúlt évtizedben. A legtöbb eredményt a különböző szövetek, biológiai minták azonosításában publikálták. Ezek a módszerek azon alapulnak, hogy, egy szervezeten belül a különböző szövetek sejtjei azonos genommal rendelkeznek, de a transzkriptomjuk jelentősen különbözik. Az mRNS profil felállítása általában reverz transzkripciót követően PCR vagy real-time PCR segítségével történik.

PMI becslése fogak alapján

A fogakban posztmortem lejátszódó folyamatokról kevés irodalmi adat található. Holttestekből eltávolított fogak mikroszkópos vizsgálata alapján elmondható, hogy a vitális odontoblastok száma nullára csökkent 5 nap elteltével.

Élő személyekből eltávolított, egészséges fogak esetében vizsgálták a rövid távú tárolás hatását a fogpulpa RNS degradációjára. A vizsgált fogakból vagy azonnal, vagy 6 óra (4 °C-on való tárolás), vagy 24 óra (-20 °C ,illetve -80 °C-on történő tárolás) elteltével eltávolították a pulpát, és izoláltak RNS-t. Az RNS integritást agaróz gélelektroforézissel vizsgálva a fenti körülmények mellett nem volt degradáció detektálható.

Young és munkacsoportja sertés fogakon végeztek PMI becslésére irányuló vizsgálatokat. Kvantitatív real-time PCR-rel hasonlították össze a β -aktin mRNS molekula 70 és 300 bp hosszúságú szakaszainak arányát az idő függvényében. Eredményeik alapján a hosszabb mRNS szakasz degradációja gyorsabb volt a rövidebb szakaszénál. A két termék arányának változása nem volt lineáris. A PMI becslés pontosságát a pulpaszövet degradációjának kolorimetriás mérésével javították.

Összefoglalás

- Az igazságügyi orvostan egyik legfontosabb feladata a halál beállta óta eltelt idő meghatározása.
- Az ókortól kezdve számos módszert dolgoztak ki erre a célra. Ezek a módszerek:
 - Csak becslést tudnak adni a PMI-re.
 - Csak egy bizonyos időintervallumon belül használhatóak (órák – napok: klasszikus hullajelenségek, napok – hónapok: entomológia, hónapok – évtizedek: antropológia).
- Számos vizsgálat irányult az RNS degradáció kvantifikációjára és abból PMI becslésére.
- A fogak igazságügyi alkalmazása széleskörű.
- A fogak nagyfokú fizikai, mechanikai ellenálló képességgel rendelkeznek, ami bizonyos mértékig függetlenítheti őket a környezeti körülményektől.
- A fogak széleskörű igazságügyi felhasználását bizonyítják a fent ismertetett módszerek. Tehát egy, a fogak vizsgálatán alapuló PMI becslési módszer kifejlesztése esetén az igazságügyi szakértők építhetnek már használatban lévő metodikákra.

Célkitűzések

Munkám során az RNS potenciális igazságügyi alkalmazásait vizsgáltam. Célul tűztem ki egy, az RNS degradációján alapuló eljárás kidolgozását a posztmortem intervallum becslésére. Az alábbi részproblémákat vizsgáltam:

- Metodológia kidolgozása, mely alkalmazható igazságügyi mintákban RNS degradációjának mérésére.
- Különböző eredetű minták vizsgálata révén kiválasztani a fenti kérdésnek megfelelő mintákat.
- Mintavételi protokoll kidolgozása.
- Meghatározni az RNS degradáció mérésével történő becslés által megítélhető időintervallumot, illetve a becslés pontosságát.

Anyagok és módszerek

Vérminták gyűjtése, tárolása

Egészséges önkéntesektől teljes körű tájékoztatás után vénás vért vettünk BD natív vérvételi csövekbe. A vérvétel után azonnal cellulóz szűrőpapírra 50 mikroliternyi teljes vért pipettáztam. Száradás után a minták az RNS izolálásig fénytől elzárva, szobahőmérsékleten tárolva.

Fogminták gyűjtése, tárolása, feltárása

Az ép őrlő és előőrlő fogakat egészséges önkéntesek ajánlották fel tudományos vizsgálatokhoz, akiknél a fogak fogszabályozás céljából lettek eltávolítva. Az eltávolított, de még nem feltárt fogak szobahőmérsékleten (20 °C – 25 °C-on), fénytől védett helyen voltak tárolva.

Az inkubációs idő letelte után a fogakat folyamatos vízűtés mellett gyémánt vágófejű fogorvosi turbinával (15 000 rpm) tártuk fel. Az eltávolított pulpát steril Eppendorf csőbe helyeztük és jégben szállítottuk. A további felhasználásig -70 °C-on tárolva.

RNS izolálás és reverz transzkripció

RNS izoláláshoz minden esetben az RNeasy Micro Plus (Qiagen) kitet alkalmaztam, bizonyos változtatásokkal az gyártói protokollhoz képest. Mintákat minden esetben oszlopon történő DNáz emésztésnek vettem alá.

A reverz transzkripció (cDNS szintézis) High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific) segítségével történt, a gyártó protokollja alapján.

Polimeráz láncreakció (PCR)

Kísérleteimhez alkalmazott iProof High-Fidelity DNA Polymerase (Bio-Rad) egy Sso7d nevű kettős szálú DNS-kötő doménnel fuzionált, *Pyrococcus* eredetű DNS polimeráz enzim. A reakciók összeállítása a gyártó előírása alapján történt.

RNS integritás mérése

Az izolált RNS integritásának meghatározására Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent) készüléket alkalmaztam RNA 6000 Pico Total Eukaryotic mikrofluidikus (Agilent) chippel. A mérések kiértékelése a 2100 Expert (Agilent) szoftverrel történt.

Eredmények

Vércsepp korának meghatározása

Az első kísérletsorozatban vércsepp korának meghatározását tűztem ki célul. Kezeletlen szűrőpapírra cseppenttem ki friss, natív, önkéntesektől származó vércseppeket. A mintákat szobahőmérsékleten hagytam beszáradni.

A PCR-ral humán β -aktin mRNS és 28S rRNS átíródott cDNS-ének 200 bázispár hosszúságú szakasza volt amplifikálva. Munkahipotézisnek azt tettem fel, hogy a riboszómális RNS másodlagos szerkezete és nagyobb mennyisége miatt kevésbé degradálódik, mint a messenger RNS, tehát a két molekula típus arányának változása becslést adhat a vércsepp korára.

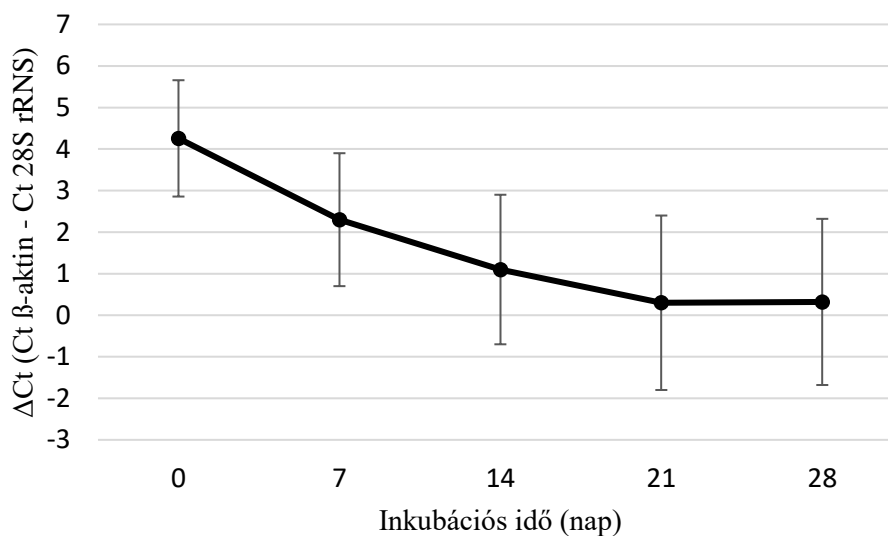
Első kísérletként több önkéntestől vett vércseppből a beszáradás után azonnal RNS-t izoláltam, majd a cDNS szintézist követően meghatároztam a β -aktin és a 28S rRNS Ct értékeit.

Az 1. táblázatban látható, hogy már az azonnal izolált minták esetében is nagyok a különbségek. Az egyedi Ct értékek varianciája mellett, a két housekeeping gén aránya, a két Ct érték különbsége 1,7 és 6,04 között változott.

Ct β -aktin	Ct 28S rRNS	Δ Ct (Ct β -aktin - Ct 28S rRNS)
32.25	28.11	4.14
33.79	28.55	5.24
32.84	29.8	3.04
33.06	27.79	5.27
33.65	31.95	1.7
35.91	31.6	4.31
25.78	19.74	6.04
26.55	20.59	5.96
28.41	25.8	2.61

1. táblázat. 0 napos vércseppekből kapott eredmények

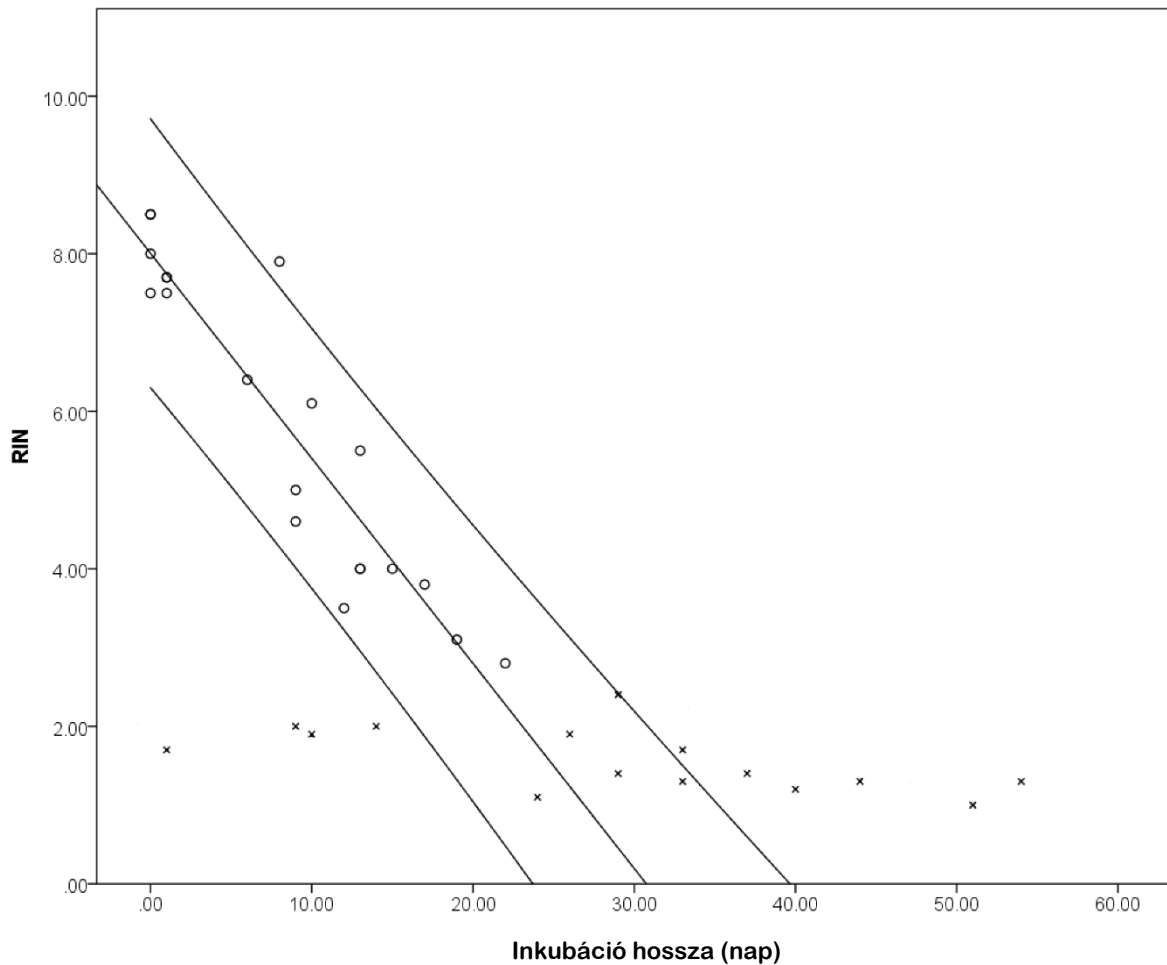
A vércseppek szobahőmérsékleten, fénytől elzárt körülmények között voltak inkubálva 1-4 hétig. Reverz transzkripciót követően, meghatároztam a β -aktin és a 28S rRNS-hez tartozó Ct értékeket. A két Ct érték különbségét a fenti, 1. ábra mutatja be. Azt a trendet figyelhetjük meg, miszerint három hétig a különbség csökken, viszont a nagyon nagy szórás miatt ez a differencia nem tekinthető statisztikailag szignifikánsnak (ANOVA). Csupán a Ct értékek különbségéből ezek alapján nem határozható meg a vércseppek kora.



1. ábra. Vércseppek szobahőmérsékleten történő tárolását követő változás a β -aktin és a 28S rRNS Ct értékek különbségében. Az adatpontok a Ct értékek különbségének átlagát, a hibasávok pedig a szórást (SD) ábrázolják.

RNS integritás mérése Agilent Bioanalyzerrel fogpulpából

RNS integritás méréséhez az Agilent 2100 Bioanalyzer platformot használtam, a mérő készülék elektródákat és egy fluoreszcens detektort tartalmaz, maga az elválasztás egyszer használatos mikrofluidikus chipen történik.



2. ábra. RNS integritás változása az inkubációs idő függvényében. Az adatpontokra legjobban illeszkedő egyenest és a 95%-os konfidencia intervallumot ábrázoltam. A cut-off érték alatti ($RIN < 2,4$) minták a statisztikai analízisből ki lettek zárva, ezek az adatpontok x-szel vannak jelölve.

Az RNS integritás mérés eredményeit a 2. ábra mutatja be. Leolvasható hogy, a napok számának emelkedésével a RIN értékek lineárisan csökkennek.

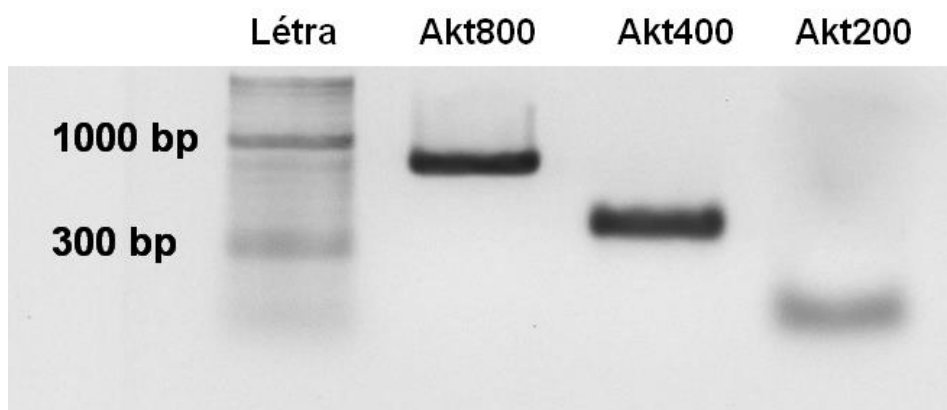
Valamennyi 25 vagy annál több napig inkubált minta esetében az RNS teljes degradációja volt tapasztalható. Ezek alapján meghatároztam egy úgynevezett cut off értéket (RIN <2,4), ami alatti mintákat a statisztikai analízisből kizártam.

A következő, mérési eredményekből kiszámolt, egyenlet alapján adható becslés az inkubáció idejére $Y=8,005-0,26X$, ahol Y az inkubációs idő napokban, X pedig a RIN értéke. Az egyenlet által meghatározott egyenes illeszkedése $R^2=0,859$. A két érték közötti korreláció $P < 0,001$. A 95%-os konfidencia intervallum (CI) alsó és felső határát az alábbi képletekkel lehet meghatározni: $Y=7435-0,313X$ és $Y=8,575-0,208X$.

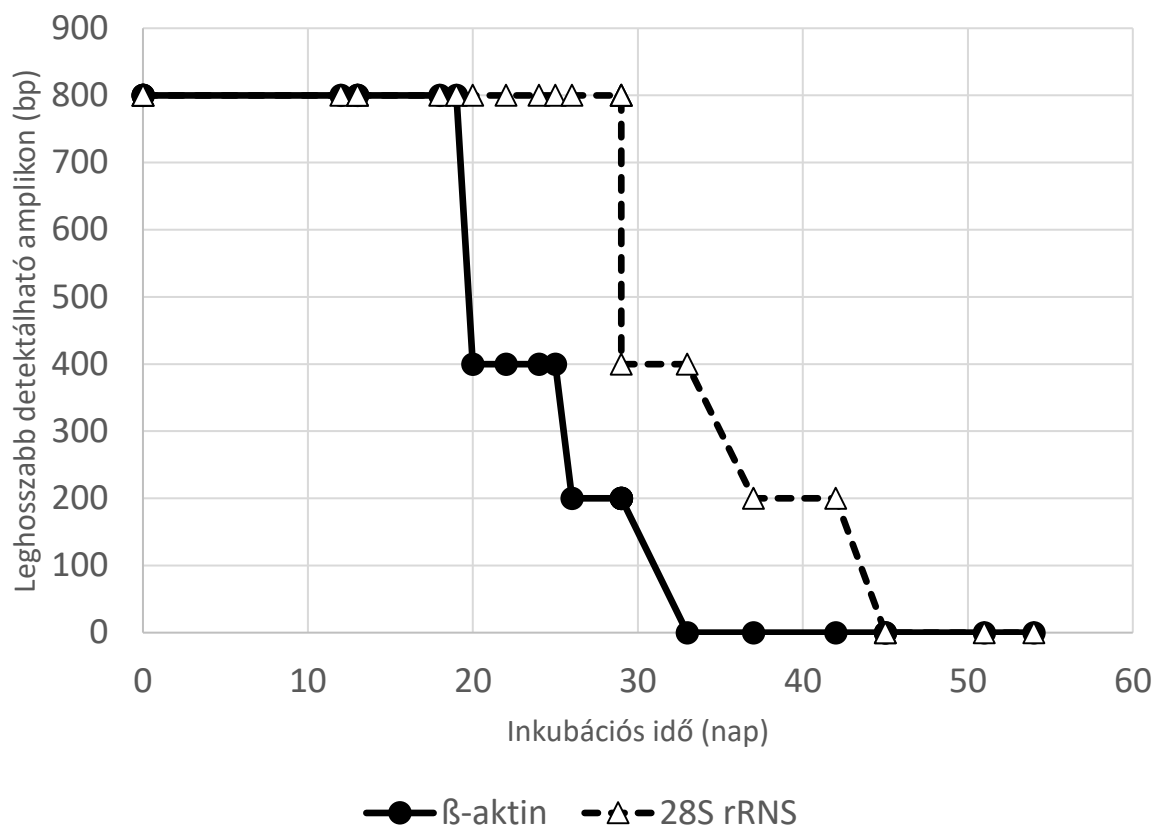
Fogbél RNS RT-PCR

PCR segítségével a kisszámú, töredezett RNS-ből származó cDNS is kimutatható. Hipotézisem szerint a rövidebb termékek akkor is amplifikálhatóak, mikor a hosszabb szakaszok már nem.

Célpontként a humán β -aktin messenger RNS és a 28S riboszómális RNS 800, 400 és 200 bázispár hosszúságú szakaszát választottam. Mivel ezek a gének housekeeping gének, a kísérletben kimutathatóságuk változása csak a degradációval magyarázható.



3. ábra. 800, 400 és 200 bázispár hosszúságú PCR amplikonok gélképe



4. ábra. A megfelelő RNS-ek cDNS-éből detektálható PCR ampliconok ábrázolása az inkubációs idő arányában. A kör alakú jel a β -aktin mRNA termékeket, a háromszög alakú jel a 28S rRNA termékeket mutatja.

A 4. ábra foglalja össze a különböző hosszúságú PCR termékek detektálhatóságát az inkubációs idő függvényében.

A fogpulpából kapott eredmények validálása

Validálás céljából az együttműködő fogorvosok hat fogat gyűjtöttek, azzal a különbséggel, hogy a fog kihúzásának dátuma, így az inkubációs idő a vizsgálat előtt számomra ismeretlen volt.

A hat fogból egy esetben nem kaptam mérhető RIN értéket, egy másik fog esetében pedig, bár a fog RIN értéke mérhető volt (2,1), ez a szám a korábban meghatározott alsó limitnél alacsonyabb, ezért az analízisből ez az érték ki lett zárva.

A vizsgálatok eredményeit összefoglalva elvégeztem a fogak inkubációs idejére a becsléseket. A RIN értékek alapján kiszámítottam a becsült inkubációs időt, illetve annak 95%-os konfidencia intervallumát. A PCR termékek hosszának alapján szintén megadtam egy-egy intervallumot. Azon mintáknál, ahol rendelkezésünkre álltak a RIN alapú becslések, azt a PCR minden esetben megerősítette. A kalkulált inkubációs időket a valós inkubációs időekkel egybevetve az mind a négy esetben a 95%-os konfidencia intervallumon belül esett.

Fogminta	RIN	Detektált PCR termék		Inkubációs idő becslése napokban (95%-os konfidencia intervallum)	Inkubációs idő (nap)
		β -aktin mRNS	28S rRNS		
1. minta	3.1	800 bp	800 bp	18.8 (14-26)	17
2. minta	7.5	800 bp	800 bp	1.9 (0-5)	5
3. minta	2.1	200 bp	800 bp	26-29	26
4. minta	6.4	800 bp	800 bp	6.2 (3-10)	7
5. minta	3.4	800 bp	800 bp	17.7 (13-25)	15
6. minta	n.d	n.d.	200 bp	33-42	38

2. táblázat. A becsült és a valós fog inkubációs idők összehasonlítása. n.d.: nem detektálható

Patológias fogak vizsgálata

Felmerült a kérdés, hogy a fogakat érintő különböző betegségek és elváltozások mennyire befolyásolják a pulpa RNS tartalmának mennyiségét és minőségét.

A kísérletek során 20 db patológias fogat vizsgáltam. Tíz fog esetében a feltárás során nem volt lehetséges elegendő mennyiségű fogbél eltávolítása. Ezen fogak közül 2 db akut periodontitis, 3 db krónikus parodontitis miatt lett eltávolítva. Öt fog esetében pedig a szuvasodás elérte a pulpakamrát.

A 3. táblázatban látható, hogy a tíz vizsgált fogból mindössze három esetében sikerült RT-PCR-ral a β -aktin mRNS-t kimutatni. A fogeltávolítás indikációja és a PCR-ral kapott eredmények között nem találtam összefüggést.

Kihúzás indikációja	RIN érték	200 bp amplikon	400 bp amplikon	800 bp amplikon
akut periodontitis	1,3	Pozitív	Pozitív	Negatív
protetikai	1	Negatív	n.a.	n.a.
periostitis, cysta	1	Negatív	n.a.	n.a.
radikuláris,				
akut periodontitis	n.d.	Negatív	n.a.	n.a.
akut periodontitis	2,4	Pozitív	Pozitív	Negatív
protetikai	3,2	Pozitív	Pozitív	Negatív
protetikai	n.d.	Negatív	n.a.	n.a.
akut parodontitis	n.d.	Negatív	n.a.	n.a.
akut periodontitis	n.d.	Negatív	n.a.	n.a.
protetikai	n.d.	Negatív	n.a.	n.a.

3. táblázat. A patológiás fogakból kapott PCR és RIN eredmények összefoglalása. A leghosszabb, még detektálható β -aktin mRNS fragmensek az egyes mintákban. n.a.: nincs adat, a mérést nem végeztük el n.d: nem detektálható.

Összefoglalás

- Vércseppek esetében a PCR eredmények és a PMI között nem találtam szignifikáns korrelációt.
- Az RNS integritás csökkenés szoros lineáris korrelációt mutatott a fogminták inkubációs idejével az inkubáció 25. napjáig.
- Különböző hosszúságú PCR termékek detektálása alapján becslés adható az inkubáció 42. napjáig.
- Az eljárás belső validációja megtörtént hat fogminta vizsgálatával.
- Patológiás elváltozást mutató fogak esetében a vizsgálat nem adott értékelhető eredményt, vagy előrehaladott degradációt mutatott.

Megbeszélés

Vércsepp korának meghatározása RNS degradáció alapján

Az eredmények fejezetben láthattuk, hogy a vércseppek korának meghatározása az általunk alkalmazott módszerekkel nagyon nagy szórást mutatott.

A vérből izolált RNS mennyisége ideális körülmények között is alacsony. Azokban a mintákban is, melyekből kicseppentést követő beszáradás után azonnal megtörtént az RNS izolálás, a kinyert RNS koncentrációja 3 ng/μl alatt volt. Nagyon alacsony templát koncentrációnál a PCR sztochasztikája megnő. Kvantitatív real-time PCR-nál a 30 fölötti Ct értékeknél már tapasztalható a variabilitás emelkedése. A 35 feletti értékeket a legtöbb analizáló szoftver kizárja az értékelésből, a fenti okok miatt. A legtöbb inkubált vércseppben, a β-aktinhoz tartozó Ct értékek meghaladták ezt a cut-off értéket.

A vér látszólag egyszerű és homogén szövet, ismert, hogy a fehérvérsejtek összetétele, sejten belüli folyamataik kifejezetten dinamikusan változnak, ezzel válaszolva a fertőzésekre, gyulladásos állapotokra. Ennek megfelelően donor és donor között is nagy különbségeket találhatunk a vérből izolálható RNS mennyiségét és minőségét tekintve.

Annak ellenére, hogy a kísérleteket kontrollált körülmények között végeztem számos tényezőben történhetett kismértékű változás, például a hőmérsékletben, páratartalomban.

Valószínűleg a fenti okokra visszavezethetően a kísérleti eredmények nagy fluktuációt mutattak. Ez alapján jelenleg ez a módszer nem alkalmas vércseppek korának meghatározására.

PMI meghatározása fogból RNS degradációjának mérésével

RNS integritás mérése

Szervezetünk legellenállóbb szövetei közé tartozik a fogakat alkotó dentin és az azt borító zománc. Mivel ez a két réteg nagyfokú izolációt biztosít a külső környezeti tényezőktől és mechanikus behatásoktól, ezért a fogból ígéretes kísérleti anyagnak tűnt a posztmortem intervallum meghatározásához.

Az RNS degradáció meghatározásának egyik leggyorsabb módszere a mikrofluidikus chip alkalmazásán alapuló Agilent Bioanalyzer. Az RNS minősége és mennyisége „hagyományos” módszerekkel (pl. UV spektrum felvétele, RNS agaróz gélelektroforézis) is meghatározható, azonban ezek az eredmények nem konzisztensek. Real-time PCR mérésekkel a mikrofluidikus platformok mutatták a legjobb korrelációt.

Az RNS integritás szám szoros korrelációt mutatott a fogak inkubációs idejével. A következő egyenlet alapján adható becslés az inkubáció idejére: $Y=8,005-0,26X$, ahol Y az inkubációs idő napokban, X pedig a RIN értéke. Az egyenlet által meghatározott egyenes illeszkedése $R^2=0,859$. A 25 napnál hosszabb ideig inkubált minták esetében a RIN nem változott lineárisan az inkubációs idővel.

PCR alapú vizsgálat

A fentiek illusztrálták, hogy körülbelül 25 napig a mikrofluidikus chip segítségével jó közelítéssel megbecsülhető a fogminta kora. A PCR alapú módszerrel viszont a posztmortem intervallum becslése lehetséges a 42. napig.

A riboszómális és a messenger RNS típus kimutathatósága 19 nap inkubáció után egymástól eltérően alakul, ami javítja a PMI becslés pontosságát. A különbség hátterében két mechanizmus állhat. Egyrészt a riboszómális RNS-ekre jellemző, hogy bonyolult másodlagos szerkezetet alkotnak, ami csökkenti az RNáz enzimek hatékonyságát. Másrészt hosszú távú detektálásukat elősegíti a riboszómális RNS-ek nagy mennyisége is.

A PCR alapú vizsgálatok elvégzése a RIN meghatározása mellett mindenképpen ajánlott egyrészt a becslés időlimitjének kitolása érdekében, másrészt a Bioanalyzerrel kapott eredmények ellenőrzése végett. Tehát egy eredményt akkor tekinthetünk technikailag hibamentesnek, ha mind a két módszerrel egyező becslés adható.

Fogbél vizsgálatok limitációi

A modellkísérletekben kihúzott fogakat használtunk, amelyek nem feltétlenül mutatják a holttestben lejátszódó valamennyi folyamat jellegzetességeit. A fogbél nagymértékű izolációja reményt ad a mindennapi gyakorlatban történő alkalmazhatóságra, de ennek alátámasztására további kísérletek elvégzése szükséges.

A modellkísérletekben nem volt lehetőség figyelembe venni a hőmérséklet hatását az RNS degradációra, pedig ismert, hogy az alacsony hőmérséklet lelassítja a biológiai bomlást. Ennek vizsgálata nagyon megnehezítette volna az eredmények statisztikai kiértékelését, mivel a limitált számú fogmintát alcsoportokba kellett volna sorolni az inkubációs hőmérséklet alapján. Az ilyen, kisszámú mérésen alapuló adatsor viszont nem tette volna lehetővé a megfelelő statisztikai analízist. Nagyobb mintaszámmal viszont lehetséges és kívánatos a hőmérséklet hatásának vizsgálata.

Az egyik objektív faktor, amely akadályozhatja a módszer elterjedését az a lakosság nagyon rossz foghigiéniai állapota. A magyar társadalom DMFT indexe nagyon magas: 16,04. A DMFT index a szúvas (decayed), hiányzó (missing), tömött (filled) fogak (teeth) átlagos számát jelzi a populációban. Az idősebb, 75 év fölötti lakosok 38,7%-a elvesztette valamennyi természetes fogát. Ezek a számok nem mutatnak eltérést a világlágtól.

Patológiás fogakkal végzett előkísérletekből az a következtetés vonható le, hogy a fogakat érintő elváltozások jelentősen befolyásolják a fogbél állapotát is. A degradáció mértéke és a kóros elváltozás típusa között nem találtam összefüggést, kivéve az olyan előrehaladott cariesnél, ahol a pulpakamra megnyílt a szájüreg felé.

A posztmortem intervallum becslésére a fogpulpában található RNS tartalom degradációjának mérése, a limitációkat is figyelembe véve, a kifejlesztett módszer alapján alkalmas lehet. Egy módszer sem képes abszolút pontossággal megállapítani posztmortem intervallumot, viszont ha több vizsgálattal kapott eredmény együttesen használható fel, az jelentősen növelheti a PMI becslés precizitását, megbízhatóságát.

Új eredmények összefoglalása

- Vércsepp korának becslésére a tesztelt módszer nem alkalmas. Ennek okai lehetnek:
 - Alacsony RNS koncentrációból adódó szórás
 - Minták közötti variabilitás
 - Inkubálás körülményei
- Fogpulpából izolált RNS integritásának mérése alapján nagy pontossággal lehetséges az inkubációs időtartam becslése.
- PCR alapú módszerrel:
 - Az inkubációs időre történő becslés kiterjeszhető a 42. napig
 - Ellenőrizhető a mikrofluidikus módszerrel kapott eredmény
- A módszer belső validációja hat, számunkra ismeretlen inkubációs idejű foggal megtörtént. Mind a hat esetben a valós inkubációs idő belül esett a becslés 95%-os konfidencia intervallumán.
- A patológiás elváltozással érintett fogak esetében a módszer nem vezetett eredményre.
 - Amennyiben lehetséges, célszerű fogorvos szakértő bevonása a vizsgálatba.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani témavezetőmnek dr. Sipos Katalinnak.

A mintagyűjtésben és feltárásban végzett munkájáért Dr. Lukács Dénesnek.

A kéziratához fűződő hasznos tanácsaiért Dr. Kozma Zsoltnak.

Dömse Angélának a vérvételben nyújtott segítségéért.

Volt és jelenlegi kollégáimnak: Nagy Juditnak, Pandur Edinának, Dudás Rékának, Varga Editnek, Rácz Evelinnek és Tamási Kittinek.

TDK hallgatóimnak: Rapp Juditnak, Takács Amandának és Varga Rékának.

Tudományos közlemények és kongresszusi összefoglalók jegyzéke

Összesített impakt faktor: 21,379

Összes hivatkozás: 34

Független hivatkozás: 29

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemény

V.S. Poór, D. Lukács, T. Nagy, E. Rácz, K. Sipos: The rate of RNA degradation in human dental pulp reveals post-mortem interval

International Journal of Legal Medicine. 130(3):615-619. 2016 IF: 2,714

További tudományos közlemények

E. Rácz, F. Könczöl, D. Tóth, Z. Patonai, Z. Porpáczy, Z. Kozma, **V.S. Poór**, K. Sipos.: PCR-based identification of drowning: four case reports

International Journal of Legal Medicine. 130(5):1303-1307. 2016 IF: 2,714

E. Rácz, F. Könczöl, H. Mészáros, Z. Kozma, M. Mayer, Z. Porpaczy, **V.S. Poór**, K. Sipos: Drowning-related fatalities during a 5-year period (2008-2012) in South-West Hungary - A retrospective study

Journal of Forensic and Legal Medicine 31():7-11 2015 IF: 0,76

A. Miseta, J. Nagy, T. Nagy, **V.S. Poór**, Z. Fekete, K. Sipos: Hepcidin and its potential clinical utility

Cell Biology International 39(11):1191-1202 2015 IF: 1,933

T. Nagy, D. Frank, E. Kátai, R.K.K. Yahiro, **V.S. Poór**, G. Montskó, Z. Zrínyi, G.L. Kovács, A. Miseta: Lithium induces ER stress and N-glycan modification in galactose-grown Jurkat cells

PLoS ONE 8(7):e70410. 2013 IF: 3,354

E. Pandur, K. Sipos, L. Grama. J. Nagy, **V.S. Poór**, G. Sétáló, A. Miseta, Z. Fekete: Prohepcidin binds to the HAMP promoter and autoregulates its own expression

The Biochemical Journal 451(2):301–311 2013 IF: 4,779

J. Nagy, L. Lakner, **V. S. Poór**, E. Pandur, G. Mózsik, A. Miseta, K. Sipos: Serum prohepcidin levels in chronic inflammatory bowel diseases

Journal of Crohn's and Colitis 4(6):649-653 2010 IF: 1,729

E. Pandur, J. Nagy, **V. S. Poór**, Á. Sarnyai, A. Huszár, A. Miseta, K. Sipos: Alpha-1 antitrypsin binds prohepcidin intracellularly and prohepcidin in the serum

FEBS Journal 276(7):2012-2021 2009 IF: 3,396

Konferencia előadások

Pediastrum (Chlorophyceae) in the diagnosis of drowning - case report

Viktor S. Poór, Katalin Sipos, Zsolt Kozma

2017.09.11-15. 10th International Symposium Advances in Legal Medicine (Düsseldorf)

Nukleinsav izolálás igazságügyi mintákból: nehézségek és lehetőségek

Sipos Katalin, **Poór Viktor Soma**

2016.04.23. Igazságügyi szakértői kötelezően szinten tartó továbbképző tanfolyam (Pécs)

Új generációs szekvenálás az igazságügyben

Sipos Katalin, **Poór Viktor Soma**

2016.04.21. Igazságügyi szakértői kötelezően szinten tartó továbbképző tanfolyam (Pécs)

In vino cocto veritas

Poór Viktor Soma, Mayer Mátyás

2016.05.26-28. Fiatal Igazságügyi Orvosszakértők Fóruma (Szeged)

Vízbefulladás? - Új diagnosztikai módszerek bemutatása egy eseten keresztül

Poór Viktor Soma, Rác Evelin, Simon Gábor, Heckmann Veronika, Sipos Katalin, Kozma Zsolt

2016.01.15. Magyar Igazságügyi Orvosok Társasága (MIOT) kazuisztikai tudományos nap (Budapest)

RNS igazságügyi alkalmazásai

Poór Viktor Soma, Lukács Dénes, Sipos Katalin

2015.09.04 Magyar Igazságügyi Orvosok Társasága (MIOT) XV. kongresszusa (Debrecen)

Posztmortem intervallum becslése RNS degradáció alapján fogból

Poór Viktor Soma, Lukács Dénes, Sipos Katalin

2014.10.03. Ifjúsági MIOT gyűlés (Hosszúhetény)

Bort iszik és vizet aspirál

Poór Viktor Soma, Sipos Katalin

2012.10.16. PTE Orvostudományi Szakosztály ülése (Pécs)