

Kornelia Drożdżiak, Jadwiga Kabiesz, Czesław Chowaniec

Trudności opiniodawcze w ustalaniu ojcostwa spowodowane brakiem informacji o pokrewieństwie biologicznego i domniemanego ojca

Opinion-forming difficulties in establishing paternity resulting from the lack of data on the relationship between biological and putative father

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
p.o. Kierownik: dr med. C. Chowaniec

Wśród wielu wykonywanych w Katedrze Medycyny Sądowej w Katowicach ekspertyz, dotyczących spornego ojcostwa, zdarzają się przypadki, gdy rutynowo stosowany zestaw 15 *loci* autosomalnych (AmpFISTR Identifiler) jest niewystarczający do wydania jednoznacznej opinii. W opisywanym przypadku badanie spornego ojcostwa wykonane w systemie AmpFISTR Identifiler wykazało u dziecka brak dziedziczenia odojcowskiego w dwóch *loci*. Układ alleli nie wykluczał mutacji. Badania rozszerzono o kolejne markery genetyczne. Zastosowano zestaw PowerPlex ESX i FFFL uzyskując trzy wykluczenia. Badanie *loci* z chromosomu X przeprowadzone testem Mentype ARGUS X8 potwierdziło wykluczenie ojcostwa w kolejnych czterech *loci*.

Among a large number of expert opinions concerning disputed paternity cases prepared in the Chair of Forensic Medicine and Medico-Legal Toxicology, Silesian University of Medicine, Katowice, there were those in which the use of a standard 15 autosomal *loci* AmpFISTR Identifiler kit was not sufficient to give an unequivocal opinion. The authors report a case of disputed paternity, in which the analysis done by applying an AmpFISTR Identifiler kit showed no paternity heredity in 2 *loci* in the child. As allele distribution did not exclude mutation, further genetic markers were determined using PowerPlex ESX and FFFL kits and further three exclusions were found. Moreover, X-chromosome *loci* were determined using a MentypeAngusX8

test, which confirmed the exclusion of paternity in further 4 *loci*.

Słowa kluczowe:

dochodzenie spornego ojcostwa,
trudności opiniodawcze,
pokrewieństwo domniemanych ojców

Key words:

disputed paternity,
opinion-forming difficulties,
relationship between putative fathers

WSTĘP

W Katedrze Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo Lekarskiej w Katowicach w sprawach o ustalenie spornego ojcostwa rutynowo wykorzystuje się zestaw multipleksowy AmpFISTR Identifiler (Applied Biosystems, USA) [1, 2, 3]. W zdecydowanej większości pozwala on na wydanie kategoriowej opinii.

W przedstawionym przypadku badanie spornego ojcostwa w zakresie 15 *loci* Identifiler wykazało brak wspólnych alleli u dziecka i domniemanego ojca jedynie w dwóch *loci*.

W związku z tym zaistniała konieczność rozszerzenia badania o kolejne markery genetyczne. Wyniki z 10 *loci* zawartych w multipleksie SGM wykorzystano do sprawdzenia siły dyskryminacji tego zestawu.

MATERIAŁ I METODA

Materiał do badań stanowiła krew matki, dziecka płci żeńskiej i pozwanego, którzy zgłosili się do Zakładu Medycyny Sądowej w celu ustalenia spornego ojcostwa. DNA genomowe izolowano zestawem Genomic Mini AX Blood firmy A&A Biotechnology.

Do badań polimorfizmu DNA wykorzystano zestawy odczynników: AmpFISTR Identifiler, Mentype ARGUS X8 (Biotype) [4, 5], zestaw PowerPlex ESX17 (Promega) [6], FFFL (Promega), AmpFISTR SGM Plus (Applied Biosystems) [7, 8]. Amplifikację wykonano zgodnie z rekomendacją producentów zestawów.

Produkty amplifikacji rozdzielano drogą elektroforezy kapilarnej przy użyciu analizatora genety-

cznego 3130 ABI Prism (Applied Biosystems), genetyковано stosując program GeneMapper Id v.3.2 software. Do obliczeń prawdopodobieństwa ojcostwa i szansy ojcostwa (PI) wykorzystano program DNASTat wersja 2.1 [9].

WYNIKI

U dziecka stwierdzono w badanych *loci* DNA allele nieobecne u matki i pozwanego D13S317 12, D1S1656 16, SE3318. W locus D7S820 u dziecka i pozwanego nie stwierdzono wspólnych alleli.

We współpracy z Katedrą Medycyny Sądowej – Pracownią Ustalania Ojcostwa i Identyfikacji Osobniczej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego badania polimorfizmu DNA zostały poszerzone o przedstawione w poniższych tabelach układy.

Locci STR	Matka Mother	Dziecko Child	Pozwany Defendant
	6/258/10	6/259/10	6/260/10
D8S1179	10-15	15-16	13-16
D21S11	30-30	28-30	28-30
D7S820	8-9	8-9	10-11
CSF1PO	10-11	10-10	10-11
D3S1358	15-17	16-17	16-16
TH01	6-9.3	6-7	7-9.3
D13S317	9-11	9-12	10-11
D16S539	12-13	9-12	9-12
D2S1338	17-17	17-18	18-25
D19S433	14-14.2	14-16	14-16
VWA	15-18	15-16	15-16
TPOX	8-11	8-8	8-11
D18S51	16-17	12-16	12-16
AMEL	XX	XX	XY
D5S818	11-12	11-12	12-12
FGA	23-23	21-23	21-25
D10S1248	16-17	14-16	14-14
D1S1656	17.3-17.3	16-17.3	12-13
D22S1045	15-17	15-17	14-15
D2S441	11-14	11-14	10-11
D12S391	18-22	20-22	16-20
SE33	14-27.2	18-27.2	24.2-24.2

Tabela I. Wyniki badania *loci* DNA zestawem AmpFISTR Identifiler i PowerPlex ESX.

Table I. Results of DNA *loci* typing with the use of AmpFISTR Identifiler and PowerPlex ESX kits.

Tabela II. Zestawienie wyników badania loci DNA zestawem FFFL.

Table II. Results of DNA loci typing with the use of FFFL kit.

Loci STR	Matka Mother	Dziecko Child	Pozwany Defendant
	6/258/10	6/259/10	6/260/10
LPL	9-11	9-10	12-13
F13B	10-10	8-10	6-8
FES/FPS	11-12	12-13	10-13
F13A01	6-7	6-7	5-6

U dziecka w locus LPL stwierdzono allel 10 nieobecny u matki i pozwanego.
The child showed allele 10 at locus LPL that was absent in the mother and defendant

Tabela III. Zestawienie wyników badania loci DNA zestawem Mentype ARGUS X8.

Table III. Results of DNA loci typing with the use of Mentype ARGUS X8 kit.

Loci STR	Matka Mother	Dziecko Child	Pozwany Defendant
	6/258/10	6/259/10	6/260/10
DXS8378	11-11	11-11	11
HPRTB	13-14	12-14	12
DXS7423	15-15	15-15	16
DXS7132	14-14	13-14	13
DXS10134	34-42.3	36-42.3	37
DXS10074	16-17	16-16	17
DXS10101	31-32	31-31.2	28.2
DXS10135	25-28	26-28	26

U dziecka stwierdzono w badanych loci DNA allele nieobecne u matki i pozwanego DXS10134 **36**, DXS10101 **31.2**. W loci DXS7423 i DXS10074 u dziecka i pozwanego nie stwierdzono wspólnych alleli. Analiza polimorfizmu DNA (PCR-VNTR) dała podstawy do wyłączenia ojcostwa pozwanego w stosunku do dziecka.

In the investigated DNA loci, the child showed alleles DXS10134 **36**, DXS10101 **31.2** that were absent in the mother and defendant. No common alleles were found in loci DXS7423 and DXS10074 of the child and defendant. DNA polymorphism analysis (PCR-VNTR) allowed for excluding paternity of the defendant.

DYSKUSJA

Wieloletnie doświadczenie w badaniu polimorfizmu DNA w sprawach spornego ojcostwa dowodzi, że zbadanie 15 loci autosomalnych z zastosowaniem zestawu AmpFISTR Identifiler pozwala na wykluczenie ojcostwa mężczyzny, który nie jest ojcem biologicznym dziecka. Wymóg braku wspólnej cechy między dzieckiem i pozwanym w czterech loci, wystarczający dla wykluczenia ojcostwa jest niemal zawsze przekroczony. W ekspertyzach wykonywanych w naszej Katedrze mieści się on w granicach od pięciu do trzynastu. W opisywanym przypadku zbadanie 26 autosomalnych loci wykazało niezgodność w zaledwie pięciu markerach genetycznych. Tak duża ilość niewykluczających układów sugerowała pokrewieństwo między badanym mężczyzną a ojcem biologicznym [10, 11, 12]. Dziecko w opisywanej sprawie było płci żeńskiej, ale nasuwa się również spostrzeżenie o bardzo ostrożne posiłkowanie się przy badaniu spornego ojcostwa oraz badaniach identyfikacyjnych markerami z chromosomu Y.

W celu sprawdzenie siły dyskryminacji 10 loci zestawu AmpFISTR SGM Plus (Applied Biosystems) w nietypowej sprawie spornego ojcostwa, wykorzystano wyniki badania loci znajdujących się w tym zestawie do obliczeń prawdopodobieństwa ojcostwa. W żadnym z badanych loci nie uzyskano wykluczenia. Wartość prawdopodobieństwa ojcostwa wyliczona w układzie matka-dziecko-pozwany z zastosowaniem programu DNASTat wersja 2.1 wyniosła 99.999998% a szansa ojcostwa $PI=54\ 095\ 045$. Wartość prawdopodobieństwa ojcostwa przy uwzględnieniu w obliczeniach niewykluczających układów Identifiler wyniosła 99.9999990%, i $PI=100\ 655\ 433$. Analogicznie dla multipleksu ESX17 wartości te wynoszą 99.9999996% i $PI=312\ 895\ 342$.

Trudności opiniodawcze w przedstawionym przypadku skłoniły nas do zwrócenia się do sądu z prośbą o przestanie nam akt sprawy. Analiza tych akt pozwoliła na potwierdzenie domniemania, że ojcem dziecka nie jest pozwany, ale jego rodzony brat. Informacji takiej nie posiadaliśmy przystępując do wykonania ekspertyzy.

WNIOSKI

Trudności opiniodawcze w sprawach spornego ojcostwa pojawiają się przy bliskim pokrewieństwie ojca biologicznego z mężczyzną pozwanym w tej sprawie. W takich przypadkach rutynowo stosowane markery genetyczne (AmpFISTR Identifier) nie dają jednoznacznego rozstrzygnięcia.

Informacja z Sądu o możliwości pokrewieństwa między domniemanymi ojcami spowodowałaby za-

stosowanie w pierwszym badaniu szerokiego zakresu markerów genetycznych i skróciłaby czas sporządzenia opinii.

Potwierdzono, że zakres 10 *loci* zestawu AmpFISTR SGM Plus (Applied Biosystems) jest niewystarczający do rozstrzygnięcia w sprawach spornego ojcostwa i ustalania tożsamości na podstawie badań rodzinnych.

Wykazano dużą przydatność zestawu Mentype ARGUS X8 w badaniu pokrewieństwa.

PIŚMIENICTWO

1. Szczerkowska Z., Karpińska L., Wysocka J., Cybulska L.: Northern Polish population data and forensic usefulness of 15 autosomal STR *loci*. *Forensic Sci. Int.* 2004, 144: 227-232.

2. Jacewicz R., Bąbol K., Berent J., Prośniak A., Szram S.: Praktyczna przydatność systemu Identifier w badaniach ojcostwa w populacji Polski centralnej. *Arch. Med. Sąd. Kryminol.* 2005, LV: 151-153.

3. Drożdżiok K., Kabiesz J., Nowak A., Chowaniec Cz., Nowicka J.: The Upper Silesia (Poland) population and forensic usefulness of 15 autosomal STR *loci*. *Forensic Sci. Int. Supplement Series* 2009, 1: 101-103.

4. Łuczak S., Rogalla U., Malyarchuk B. A., Grzybowski T.: Diversity of 15 human X chromosome microsatellite *loci* in Polish population. *Forensic Sci. Int.: Genetics* 2011, 5 (3): e71-e77.

5. Pepiński W., Niemcunowicz-Janica A., Skawrońska M., Janica J., Koc-Żurawska E.: Polimorfizm czterech *loci* X-STR wśród ludności Polski północno-wschodniej w aspekcie przydatności w badaniach medyczno-sądowych. *Arch. Med. Sąd. Kryminol.* 2007, LVII: 252-255.

6. Poetsch M., Bayer K., Ergin Z., Milbrath M., Schwark T., von Wurmb-Schwark N.: First experiences using the new Powerplex ESX17 and ES17 kits in casework analysis and allele frequencies for two different regions Germany. *Int.*

J Legal Med. 2010, doi: 10.1007/s00414-010-0480-2.

7. Sołtyśzewski I., Pepiński W., Skawrońska M., Koc-Zorawska E., Niemcunowicz-Janica A., Janica J.: STS data for the AmpFISTR SGM Plus *loci* from Warmia and Mazury (NE Poland). *Forensic Sci. Int.* 2004, 141: 69-71.

8. Tucholska-Lenart A., Wujec J., Samborski J., Jakubowska E.: Allele frequency for 10 STR *loci* in a population from central Poland. *Forensic Sci. Int.* 2002, 129: 131-133.

9. Berent J.: DNA Stat wersja 1.2 - Program do obsługi bazy danych profili genetycznych oraz do obliczeń biostatystycznych. *Arch. Med. Sąd. Kryminol.* 2007, LVII: 322-325.

10. Berent J., Jacewicz R., Szram S.: Effect on paternity index of substituting a brother for the true father. *Problems of Forensic Sciences* 2006, LXVII: 273-278.

11. Czarny M., Janiszewska H., Kwiatkowska J., Chlebowska H., Siemieniako B., Słomski R.: Czy analiza DNA jest zawsze skuteczna: problemy w dochodzeniu spornego ojcostwa w przypadku bliskiego prawdopodobieństwa domniemanych ojców. *Arch. Med. Sąd. Kryminol.* 1995, 45: 287-295.

12. Czarny M., Kwiatkowska J., Chlebowska H., Siemieniako B., Słomska M., Słomski R.: Skuteczność analizy DNA w dochodzeniu spornego ojcostwa w przypadku bliskiego prawdopodobieństwa rodziców. *Arch. Med. Sąd. Kryminol.* 1996, 46: 289-297.

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Kornelia Drożdżiak

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej

i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej

Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

w Katowicach

ul. Medyków 18

40-752 Katowice

e-mail: kdrozdzio@slam.katowice.pl