

- jako problem etyczny:

1. Zagrożenie dla płodu wynikające z inwazyjności techniki pobierania materiału do badań (w przypadku amniocentezy ryzyko powikłań wynosi około 0,5%) sprawia iż nie podlega dyskusji, że badań prenatalnych nie należy przeprowadzać wyłącznie w celu ustalenia ojcostwa. Dlatego uważamy, że do czasu opracowania bezpiecznych dla płodu technik pobierania materiału badania te można wykonywać tylko wówczas, gdy do pobrania komórek płodu dochodzi ze wskazań medycznych, a jedynie niewielka część materiału biologicznego zostanie wykorzystana do ustalenia spornego ojcostwa.
2. Zagrożenie aborcją. Wydaje się, że ten aspekt jest szczególnie trudny do oceny. W przedstawionym przypadku pacjentka nie brała pod uwagę aborcji w żadnym przypadku, niezależnie od wyniku badania. Chciała jedynie dokonać wyboru właściwego (biologicznego) ojca dla dziecka. Należy jednak liczyć się z możliwością że mogą zdarzyć się przypadki, w których wykonanie przedurodzeniowego ustalenia ojcostwa przyniesie wynik, skłaniający matkę do nieakceptowanego społecznie postępowania. Z drugiej jednak strony, w przypadku podejrzenia zajścia w ciążę w wyniku zgwałcenia kobiety, która oprócz tego utrzymuje dobrowolne stosunki seksualne, wykonanie takiego badania może ratować życie płodu poprzez rozwianie wątpliwości co do ojcostwa.

## PIŚMIENNICTWO

1. Mayr W., Brinkmann B., Rand S.: Paternity testing: Quo vadis. Blood Reviews 1991, 5, 51-52. - 2. Turowska B.: Badania grupowe krwi w sprawach spornego ojcostwa przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej w Krakowie w latach 1926-1996. Arch. Med. Sąd. Krym. 1997, 47, 139-145. - 3. Jeffreys A., Wilson U., Thein S.: Hypervariable „minisatellite” regions in human DNA. Nature 1985, 314, 67. - 4. Schneider V., Epplen J.T., Póche H.: Paternity testing with the simple oligonucleotide probe GTG<sub>n</sub>(CAC)<sub>n</sub> immediately *post partum*. Proceedings of First International Conference on DNA Fingerprinting. Bern, 1990, 29. - 5. Lobbiani A., Nocco A., Vederietti P., Colucci G.: Application of DNA fingerprinting to prenatal paternity testing. Proceedings of First International Conference on DNA Fingerprinting, Bern, 1990, 31. - 6. Walsch P., Metzger D., Higuchi R.: Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. Biotechniques 1991, 10, 506-513.

Adres pierwszego autora:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM  
ul. Mikulicza-Radeckiego 4  
50-368 Wrocław

**Renata Jacewicz, Stefan Szram, Wiesława Dudek**

## Pozorne wyłączenie macierzyństwa w lokus D1S80\*

### The maternity pseudoexclusion in the D1S80 locus.

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Łodzi  
Kierownik: prof. dr hab. med. S. Szram

Podczas wykonywania rutynowej analizy w sprawie dochodzenia ojcostwa ujawniono rzadki przypadek mutacji w lokus D1S80 - widocznej jako ubytek dwóch jednostek sekwencji repetatywnej.

After examining routine paternity cases the rare event of mutation in the D1S80 locus in the shape of the loss of two numbers of repeat units was observed.

Słowa kluczowe: lokus D1S80, analiza AmpFLP, przypadek mutacji, sądowe badania DNA.

**Key words: D1S80 locus, Amp-FLP analysis, mutation event, forensic DNA typing.**

## WSTĘP

Lokus D1S80 należy do sekwencji VNTR (variable number repeat) typu minisatelitarnego. Zlokalizowany jest na krótkim ramieniu pierwszego chromosomu człowieka (6). Podstawowa 16 nukleotydowa sekwencja powtarza się w lokus zwykle od 14 do 41 razy, co warunkuje występowanie ok. 30 różnych alleli w populacji w przedziale wielkości 387-814 pz.

Układ D1S80 należy do chętnie i często wykorzystywanych w badaniach ojcostwa oraz w identyfikacji śladów biologicznych z uwagi na swoistość gatunkową dla człowieka, łatwość amplifikacji, wysokie wskaźniki: heterozygotyczności, siły dyskryminacji, szansy wyłączenia (1, 5, 10, 14, 15) oraz niski poziom mutacji (3, 7, 8, 11)

\* Temat opracowany w ramach prac własnych uczelni w. 502-11-465 (54).

W niniejszym opracowaniu przedstawiono rzadki przypadek mutacji w układzie D1S80, gdzie różnica między allelem wyjściowym i zmutowanym przekracza jedną jednostkę repetatywną.

## OPIS PRZYPADKU I OMÓWIENIE

DNA z pobranych prób krwi od pozwanego, matki i dziecka w sprawie o dochodzenie spornego ojcostwa (nr 36 *DI* 96) izolowano stosując metodę solną (9). Amplifikację prowadzono przy użyciu zestawu Ampli FLP D1S80 firmy Perkin Elmer. Fragmenty D1S80 rozdzielano metodą wertykalnej elektroforezy w buforze 0,5 x TBE w poliakrylamidowym żelu natywnym Gene Amp™ Detection firmy Perkin Elmer oraz poliakrylamidowym żelu denaturującym Gene Page Plus firmy Amresco. Żele barwiono metodą srebrową (2, 12, 13). Wielkość fragmentów oceniano w porównaniu z firmowym markerem wielkości - Allelic Ladder.

Oznaczenia systemów MLP i SLP przeprowadzono z zastosowaniem trawienia restryktazą Hinf I oraz hybrydyzacji z próbkami molekularnymi firmy Cellmark Diagnostics. Po chemiluminescencyjnej detekcji uzyskane wielkości fragmentów DNA obliczano w odniesieniu do wzorca Nice DNA Analysis firmy Gibco BRL. Zastosowano do tego celu oprogramowanie komputerowe BIO 1D firmy Vilber Lourmat.

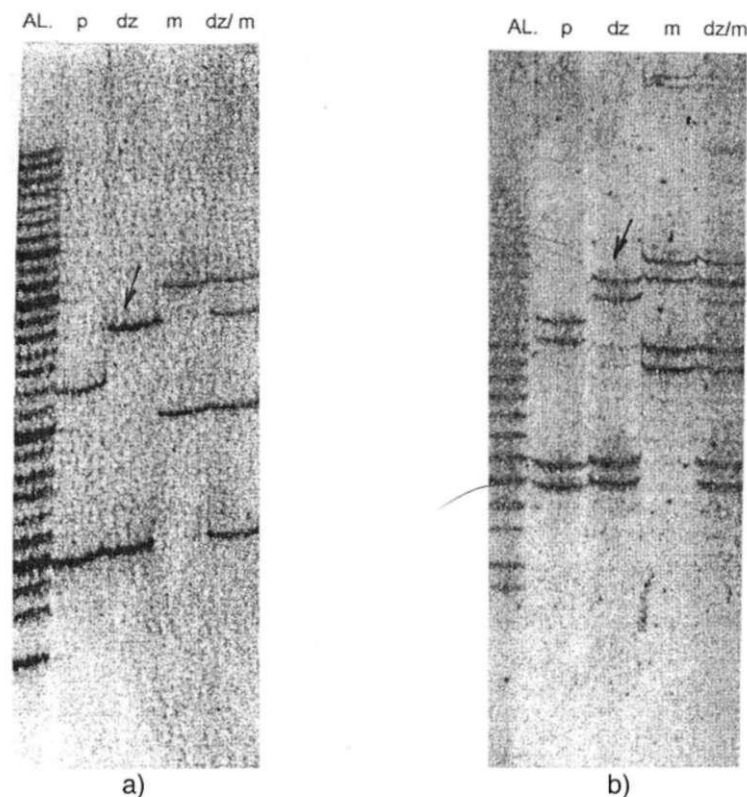
W analizie locus D1S80 stwierdzono brak segregacji fragmentów DNA między matką a dzieckiem (Ryc. 1). Różnica dwu jednostek repetatywnych między najbliższymi od siebie położonymi fragmentami dziecka i matki wskazywała na wyłączenie macierzyństwa.

Dalsze badanie w tej sprawie zostało przeprowadzone w oparciu o układ multilokusowy: 33,15 oraz układy jednolokusowe: D7521, D12S11, D1S7, D5S110, D2S44i D7S22.

Badanie MLP przy użyciu sondy molekularnej 33.15 oraz enzymu restrykcyjnego Hinf I przedstawiono na rycinie 2, a wielkości fragmentów zmierzonych dla poszczególnych układów SLP podano w tabeli I.

Analiza dziedziczenia fragmentów DNA, przeprowadzona w wysoce polimorficznych regionach VNTR, wskazuje na to, że badana kobieta jest biologiczną matką badanego dziecka.

Opisany przypadek mutacji w układzie D1S80 jest drugim, uzyskanym po przeanalizowaniu 174 spraw spornego ojcostwa, w populacji centralnej Polski.



Ryc. 1. Amplifikowane fragmenty układu D1S80 w sprawie 36D/96 po wybarwieniu srebrem: a) żel natywny PAA, b) żel denaturujący PAA.

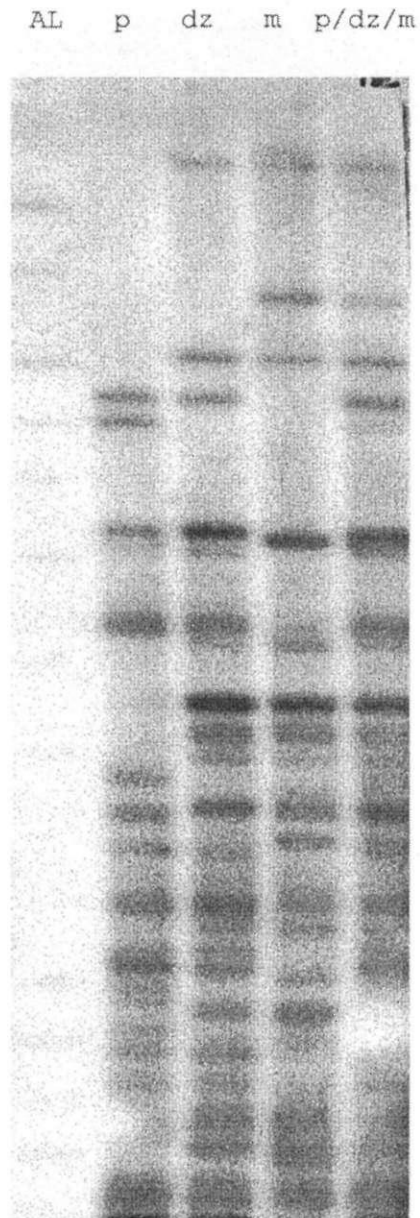
AL - wzorzec wielkości  
p - domniemany ojciec : 18-26  
dz-dziecko : 18-29  
m - matka : 24-31

Zmutowany allel sugerujący wyłączenie macierzyństwa oznaczono strzałką.

Fig. 1. Amplified fragments of the locus D1S80 in paternity case 36D/96 after silver staining : a) native PAA gel, b) denaturing PAA gel.

AL - allelic ladder,  
p - putative father : 18-26  
dz-child : 18-29  
m - mother : 24-31

Mutated allele suggesting maternity exclusion is marked by arrows.



Ryc. 2. Badanie MLP - 33.15/Hinf I w sprawie 36D/96

AL - wzorzec wielkości, p - domniemany ojciec, dz - dziecko, m - matka

Fig. 2. MLP - 33.15/Hinf I investigation in paternity case 36D/96

AL - allelic ladder, p - putative father, dz - child, m - mother

Tabela I. Segregacja fragmentów DNA w sprawie 33D/96 w poszczególnych układach SLP.

Table I. Segregation of DNA fragments in paternity case 33D/96 in different SLP systems.

Lokus Locus	Próba/enzym Probe/enzyme	Wielkości fragmentów (kpb) Fragment sizes (kb)		
		matka mother	dziecko child	domniemany ojciec putative father
D7S21	MS31/Hinf I	8.040/6.855	8.040/5.587	8.058/5.587
D12S11	MS43A/Hinf I	8.352/5.001	8.819/5.001	8.819/5.357
D1S7	MS1/Hinf I	8.922/1.326	8.922/7.034	9.323/7.034
D5S110	MS621/Hinf I	4.648/3.489	5.600/4.648	5.600/4.362
D2S44	YNH24/Hinf I	2.892/2.425	2.740/2.425	2.740/-
D7S22	G <sup>2</sup> /Hinf I	7.200/6.990	6.990/5.547	5.547/1.689

O fakcie, że mutacje w lokus D1S80, sugerujące fałszywe wyłączenia rodzicielstwa, nie są zjawiskiem odosobnionym, świadczy również inne doniesienie w piśmiennictwie polskim (4).

Opracowania te, zdaniem autorów, skłaniają do zachowania szczególnej ostrożności przy wykorzystywaniu układu D1S80 w badaniach sądowych przeprowadzanych w Polsce.

## PIŚMIENICTWO

1. Alonso A., Martin P., Albarran C, Sancho M.: Amplified fragment length polymorphism analysis of the VNTR locus D1S80 in central Spain. *Int. J. Leg. Med.*, 1993, 105, 311-314.
2. Budowle B., Chakraborty R., Giusti A.M., Eisenberg A.J., Allen R.C.: Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. *Am. J. Hum. Genet.*, 1991, 48, 137-144.
3. Deka R., De Croo S., Jin L, Mc Carvey S., Rothhammer F., Ferrel R.E., Chakraborty R.: Population genetic characteristics of the D1S80 locus in seven human populations. *Hum.*

Genet., 1994, 94, 252-258. - 4. Dobosz T., Dmochowska G., Kowalczyk E., Szczepaniak M., Jagielski J.: Przypadki „wewnętrznej sprzeczności” poszczególnych elementów ekspertyzy DNA w sprawach o ustalenie spornego ojcostwa. Post.Med.Sąd. i Krym. Red. B. Świątek, Z. Parkitna-Cegła, Wrocław 1997, 323-327. - 5. Hochmeister M., Budowle B., Borer U.V., Dirrhofer R.: Swiss population data on the loci HLA-DQa, LDLR, GYPA, HBG, D7S8, Gc and D1S80, For. Sci. Int., 1994, 175-184. - 6. Kasai K., Nakamura Y., White R.: Amplification of a variable number of tandem repeats (VNTR) locus (pMCT 118) by the polymerase chain reaction (PCR) and its application to forensic science. J. For. Sci. 1990, 35, 1196-1200. - 7. Kloosterman A.D., Budowle B., Daselaar P.: PCR amplification and detection of the human D1S80 VNTR locus. Int. J. Leg Med., 1993, 105, 257-264. - 8. Kozioł P., Ciesielka M.: Ocena przydatności badań VNTR lokus D1S80 w sprawach spornego ojcostwa. Arch. Med. Sąd. Krym., 1994, 44, 459-465. - 9. Lahiri D.K., Numberger Jr. J. I.: A rapid non enzymatic method for RFLP studies. Nucleic Acids. Res., 1991, 19, 5444. - 10. Pawłowski R.: Polimorfizm lokus D1S80 człowieka w populacji Polski Północnej, badany techniką PCR. Arch. Med. Sąd. Krym., 1995, 45, 247-256.

11. Sajantila A., Budowle B., Ström M., Johnsson V., Lukka M., Peltonen L., Ehnoholm Ch.: PCR amplification of alleles at D1S80 locus: comparison of a finish and a north american caucasian population sample and forensic casework evaluation Am. J. Hum. Genet. 1992, 50, 816-825. - 12. Sajantila A., Lukka M.: Improved separation of PCR amplified VNTR alleles by a vertical polyacrylamide gel electrophoresis. Int. J. Leg. Med., 1993, 105, 355-359. - 13. Sambrook J., Fritsh E.F., Maniatis T.: Molecular cloning. Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, NY, 1989, 11.23. - 14. Szczerkowska Z.: Celowość określania konwencjonalnych cech grupowych krwi w dochodzeniu ojcostwa w dobie badań molekularnych. Post. Med. Sąd. i Krym., Red. S. Szram, Łódź, 1999, V, 319-326, 1999. - 15. Thymann M., Nellesmann L.J., Masumba G., Irgens - Molier L., Morling N.: Analysis of the locus D1S80 by amplified fragment length polymorphism technique (Amp - FLPP). Frequency distribution in Danes. Intra and inter laboratory reproducibility of the technique. For. Sci. Int., 1993, 60, 47-56.

Adres pierwszego autora:  
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM  
ul. Sędziowska 18 a  
91-304 Łódź

## Erazm Baran

### Bibliografia polskich prac naukowych z zakresu medycyny sądowej, kryminologii i dziedzin pokrewnych za rok 1999

#### **Bibliography of the Polish papers on forensic medicine, criminology and related fields published in 1999**

#### **Spis czasopism i wybranych wydawnictw książkowych ujętych w bibliografii**

#### **Journals and selected books included in the bibliography**

1. Acta Poloniae Toxicologica
2. Animal Science Papers and Reports
3. Annales Academiae Medicae Gedanensis
4. Annales Universitatis Marie Curie-Skłodowska
5. Archivum Immunologie et Therapie Experimentalis
6. Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii
7. Biopharmaceutics and Drug Disposition
8. Blutalkohol
9. Case Reports & Practice Review
10. Clinical Hemorheology and Microcirculation
11. Dermatologia Kliniczna i Zabiegowa
12. Electrophoresis
13. Forensic Science International
14. Helicobacter
15. Human Heredity
16. International Journal of Legal Medicine
17. Journal of Hypertension
18. Kardiologia Współczesna
19. Nowiny Lekarskie
20. Nowiny Psychologiczne
21. Medical Science Monitor
22. Medicina Sportiva
23. Paragraf na Drodze
24. Palestra