

H. (red): Sfinks. Tajemnice historii, 1, Videograf II. Katowice 1996. -10. Kopaliński W.: Słownik mitów i tradycji kultury. PIW Warszawa 1985, PIW. Warszawa 1973.

11. Kołodziej J., Kunz J., Gross A.: Samobójstwa w Krakowie. Studium porównawcze materiału sekcyjnego z lat 1881 - 1975. Fol. Med. Crac. 1978, 1, 19-30, 12) Kubiak Z.: Mitologia Greków i Rzymian. Świat Książki. Warszawa 1999, -13. Kunz J., Gross A.: Samobójstwa kombinowane (opis 5 przypadków). Arch. Med. Sąd i Krym. 1994, 3, 339-347, -14. Lanning M. L.: 100 największych dowódców wszechczasów. Świat Książki. Warszawa 1998, -15. Loretta S.: Asissi. Plurigraf, Narn - Terni, Italy, 1991, -16. Marseille J., Laneyrie-Dagen N.(red): Larousse. Dzieje ludzkości. Największe wydarzenia w historii sztuki. Oficyna Wydawnicza MAK.1999, -17. Masom C, Alexander P., Miliard A.: Świat Biblii. Arkady. Warszawa, 1996, -18. Markiewicz H., Romanowski A.: Skrzydlate słowa. Seria druga. PIW 1998, -19. Milroy C: The epidemiology of homicide - suicide (Dyadic death). Forensic Sci. Int. 1995, 71, 117-122, -20. Mittelestadt K.: Eugene Delacroix. Wydawnictwo Arkady. Warszawa 1980,

21. Oksfordzki słownik biograficzny. Świat Książki. Warszawa, 1999, -22. Oliphant M.: Antyczny Świat. Wielkie cywilizacje przeszłości. Muza SA, Warszawa 1995, -23. Stadler H.: Hannibal u bram Rzymu (w:). Huf H. (red): Sfinks. Tajemnice historii, 1, Videograf II. Katowice 1996, -24. Swarczewski Z.: Samobójstwo we Lwowie w latach 1925 - 1934 Czasopismo Sądowo-Lekarskie. 1937, 4, 310-337, -25. Tazbir J.: Okrucieństwo w nowożytnej Europie. Wydawnictwo Sic!. Warszawa 1999, -26. Toynebee A., Mant A., Smart N. i in.: Człowiek wobec śmierci. PIW. Warszawa 1973, -27. Unterman A.: Żydzi. Wiara i życie. Wydawnictwo Łódzkie. Łódź. 1989, -28. Watanabe T., Kobayashi Y., Hata S.: Harakiri and suicide by sharp instruments in Japan. Forensic Sci. 1973, 2, 191 - 199, -29. Wielcy malarze. Ich życie, inspiracje i dzieło. Lucas Cranach Starszy. Eaglemoss Polska sp. z o.o.(wyd.) Siechnice. 1999, -30. Wielcy malarze. Pieter Brueghel. Eaglemoss Polska sp. z o.o.(wyd.). Siechnice, 1999,

31. Winniczuk L. (red): Słownik kultury antycznej. Grecja. Rzym. Wiedza Powszechna. Warszawa, 1989, -32. Vogt J.: Wędrowki czarnej śmierci (w: Huf H. Tragedie z dziejów ludzkości. Videograf II. Katowice, 1999.

Adres autora:

Katedra Medycyny Sądowej CM UJ
31-531 Kraków
ul. Grzegórzecka 16.

Ewa Rzepecka-Woźniak, Barbara Próchnicka

Próba oceny przydatności oznaczania apoptozy kardiomiocytów w nagłych zgonach sercowych

Usefulness of apoptosis marking in sudden cardiac death investigation

Z Katedry Medycyny Sądowej CM UJ w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. B. Turowska

Liczne badania doświadczalne wskazują na obecność apoptozy we wczesnych fazach zawału mięśnia sercowego. Praca stanowi sprawozdanie z pilotażowej serii badań z zastosowaniem metody immunohistochemicznej oznaczania apoptozy w kardiomiocytach w nagłych zgonach sercowych. Badania objęły 12 przypadków nagłych zgonów, których wyniki sekcji zwłok wskazywały na sercowy mechanizm śmierci. Wyniki badań potwierdzając doniesienia z piśmiennictwa światowego, wskazują na związek zaprogramowanej śmierci komórki z niedotlenieniem.

Many experimental works suggest appearance of apoptosis in the initial phase of myocardial infarction. Authors present a „pilot” series of research using an immunohistochemical method of apoptosis marking of cardiomyocytes in sudden cardiac deaths. 12 cases of such deaths were investigated in which autopsy results show a cardiac mode of death. The results of research are compatible with previous results published in scientific papers, and suggest the relationship between programmed cell death and hypoxia.

Słowa kluczowe: zawał mięśnia sercowego, apoptoza, immunohistochemia.

Key words: myocardial infarction, apoptosis, immunohistochemistry.

W praktyce sądowo-lekarskiej diagnostyka nagłych zgonów w następstwie wczesnego zawału mięśnia sercowego nadal stanowi poważny problem i stale prowadzone są badania mające na celu znalezienie metody jak najbardziej pewnej, mogącej być podstawą ustalenia przyczyny śmierci.

Zawał mięśnia sercowego - to pierwotnie skrzepowa, ogniskowa martwica kardiomiocytów i zrębu. Najczęstszą przyczyną zawału jest zakrzep w tętnicy wieńcowej powstały na podłożu zmian miażdżycowych. Z innych, rzadziej występujących należy wymienić: zator (zwykle materiałem skrzeplinowym

z zastawek lewego serca), skurcz tętnic wieńcowych, agregację płytek. Opisuje się także zawały mięśnia sercowego w przebiegu masywnego krwotoku czy też po operacjach, podkreślając wpływ takich czynników jak spadek ciśnienia tętniczego krwi oraz niedokrwistość, szczególnie przy współistniejącej miażdżycy tętnic wieńcowych. Zawał może wystąpić w każdym wieku, jednak jego częstość znamienne wzrasta z wiekiem.

Zamknięcie światła tętnicy wieńcowej zapoczątkowuje ciąg kolejnych procesów prowadzących do martwicy obszaru zaopatrywanego przez dane naczynie. Pierwotnie odwracalne procesy biochemiczne, zachodzące w komórkach, wraz z upływem czasu stają się nieodwracalne, przesądzając o losie objętego procesem obszaru. Upływ czasu - od momentu wystąpienia niedokrwienia do zgonu - determinuje morfologiczny obraz stwierdzanego zawału i możliwość jego oceny.

Makroskopowo pierwsze zmiany widoczne są dopiero po 18-24 godzinach. Strefa zawału wyróżnia się wówczas zblednięciem. Następnie pojawia się obwodowo przekrwienie zaś centrum przedstawia się jako matowe, żółtawe (żółtawobrazowawe) ognisko o obniżonej konsystencji (3-7 dzień choroby). W dalszym etapie „poszerza” się wiśniowa strefa obwodowa. Później od obwodu do centrum zaczyna postępować bliznowacenie jako biaława, sprężysta tkanka.

Mikroskopowo w rutynowym barwieniu H-E pierwsze oznaki martwicy skrzepowej włókien można zaobserwować między 4 a 12 godziną od momentu niedokrwienia, pierwsze granulocyty obojętnochłonne zaczynają pojawiać się w rejonie martwicy po ok. 6-ciu godzinach. Ich ilość wzrasta do około 5-tego dnia zawału, by stopniowo maleć od 6-7-mego dnia. Makrofagi widoczne są w obszarze zawału około 4-tego dnia (rozpoczynają wówczas resorpcję martwiczo zmienionych kardiomiocytów). W tym samym czasie w obrzeżu zawału pojawiają się fibroblasty, rozpoczynające syntezę kolagenu (jego obecność można wykazać już w 9-tym dniu). Od obwodu martwicy rozpoczyna się wrastanie bogato unaczynionej tkanki ziarninowej. Limfocyty w ognisku zawałowym obecne są od 2-go dnia, około 6-go są stwierdzane w 100% przypadków. Komórki plazmatyczne pojawiają się około 4-tego dnia. Bliznowacenie trwa około 3 miesiące (4, 16). Tak zatem im wcześniejsza faza zawału, tym trudniejsze jego rozpoznanie. Ograniczona wydolność metod rutynowych w diagnostyce wczesnego zawału mięśnia sercowego determinuje rozwój wielokierunkowych „poszukiwań” skutecznych technik diagnostycznych. Vargas, Sampson i Schoen wśród metod stosowanych lub będących w opracowaniu wymieniają: barwienia specjalne całych fragmentów serca (np. metoda z zastosowaniem błękitu tetrazolu) czy też preparatów mikroskopowych (barwienie paS, trichrom, metoda Nielsena), fluorescencję, techniki immunohistochemiczne, mikroskopię elektronową (14). Szczęólnego znaczenia nabrały w ostatnich latach techniki immunohistochemiczne m. in. wykrywanie fibronektyny (glikoproteiny obecnej w osoczu i w substancji pozakomórkowej) w kardiomiocytach strefy zawału, czy oznaczanie troponiny I (proteiny swoistej dla komórek mięśnia sercowego; jej stężenie osocze stanowi swoisty laboratoryjny marker wczesnego zawału) (7, 8). Uwaga wielu naukowców skupiła się też na zjawisku apoptozy we wczesnym zawałe mięśnia sercowego. Opisany po raz

pierwszy w 1972 roku przez australijskiego patologa J. Kerr'a pod nazwą apoptoza model „śmierci” komórki, stanowi przedmiot wielu badań (11). Apoptoza zwana jest także zaprogramowaną śmiercią komórki, programem biologicznego „samobójstwa” komórki dla podkreślenia jej odrębności od „zwykłej” martwicy. Apoptoza stanowi zjawisko uporządkowane, jest procesem wymagającym energii, przebiega ściśle według informacji zawartej w materiale genetycznym. To wszystko pozwala na wyróżnienie jej swoistych cech morfologicznych a mianowicie: jako pierwszą i podstawową - kondensację jądrowej chromatyny (związaną z fragmentacją nici DNA), a dalej - zmniejszenie rozmiarów komórki (jej „skurczenie się”, zagęszczenie cytoplazmy i organelli, „gęstsze upakowanie”). W następnym etapie wytworzenie cytoplazmatycznych pęcherzy czy w efekcie rozpadu - tzw. „ciałek apoptotycznych”. Pozostałości po obumarłej komórce zostają uprzątnięte w drodze fagocytozy przez sąsiadujące komórki podścieliska lub makrofagi. Apoptoza może dotyczyć zarówno pojedynczej komórki bądź skupisk komórek. W przeciwieństwie do martwicy nie wywołuje odczynu zapalnego. Jej udział obserwuje się w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych. Wymienił tu można za podręcznikami: procesy embriogenezy, inwolucję hormono-zależnych narządów (fizjologiczną i patologiczną), regulację w populacjach proliferujących komórek, obumieranie komórek w nowotworach, patologiczny zanik narządów mięszzowych. Na drodze apoptozy może przebiegać także śmierć komórek narażonych na działanie rozlicznych szkodliwych czynników, by wymienić choćby niedotlenienie czy promieniowanie, ale działających w dawkach poniżej zdolności wywołania martwicy.

Właściwości biochemiczne apoptozy tj. fragmentacją DNA, zostały wykorzystane dla opracowania metod jej identyfikacji. Najczęściej stosowaną metodą jest elektroforeza DNA na żelu agarozowym, inną cytometria przepływowa czy wreszcie metody immunohistochemiczne pozwalające na wykazanie apoptozy in-situ np. w rutynowo utrwalonych skrawkach parafinowych. Ostatnie z metod pozwalają na ocenę topograficzną komórek apoptotycznych.

Obecnie stosuje się dwie techniki immunohistochemiczne, obie polegają na wbudowaniu do rozfragmentowanej nici DNA nukleotydów. Pierwsza metoda (TUNEL) wykorzystuje w tym celu terminalną transferazę, druga (ISEL) DNA-polimerazę (4, 5).

Fragmentacją jądrowego DNA kardiomiocytów w zawałe mięśnia sercowego została opisana przez Itoh i współpracowników. W badaniach wykazali oni silnie dodatni odczyn immunohistochemiczny na obecność fragmentacji DNA (potwierdzony elektroforezą na żelu agarozowym) w preparatach, w których obecne były cechy histologiczne wczesnego zawału (m. in. obecność węzłów skurczu) (9).

Doświadczalne prace prowadzone w wielu ośrodkach wskazały na rolę hipoksji oraz reperfuzji w patogenezie apoptozy (6). Kajstura i współpracownicy w badaniach na szczurach oceniali obecność apoptozy i martwicy w zależności od „wieku” zawału. Wykazali, że apoptoza stanowi podstawową formę obumierania komórek w pierwszych godzinach (2-4h) zawału, podczas gdy martwica pojawia się dopiero po 6-ciu godzinach, osiągając maksimum po 1 dobie. Prace tego zespołu obejmowały także odcinki mięśnia sercowego przylegające do

strefy zawału i od niej odległe. W tych badaniach wykazano, że w obszarze prawidłowego mięśnia graniczącego z zawałem już po 3 godz. od wystąpienia niedokrwienia znamiennie wzrasta ilość komórek ulegających apoptozie. Trend wzrostowy utrzymywał się do około 2-giej doby, po czym od 7-mej stopniowo malał. Odleglejsze rejony mięśnia sercowego charakteryzowała prawie stała liczba komórek apoptotycznych zarówno w pierwszych godzinach zawału jak i po upływie 1 miesiąca czasu. Wy tłumaczeniem dla tych zależności mają być zaburzenia mechanicznego obciążenia mięśnia w okresie dokonującego się zawału jak i w momencie przebudowy - w okresie gojenia się z tworzeniem blizny (3,10).

Badania przeprowadzone na mięśniach sercowych osób zmarłych z powodu klinicznie potwierdzonego zawału mięśnia sercowego potwierdziły obecność apoptotycznych kardiomiocytów w strefie zawału (15) głównie w obszarze granicznym (13). Bardales i wsp. zastosowali metodę oceny apoptozy in-situ w celu wykazania jej przydatności do weryfikacji zawału mięśnia sercowego i niedokrwienia jako przyczyny śmierci komórek mięśnia sercowego.

Uzyskane wyniki wykazały związek apoptozy z niedokrwieniem mięśnia sercowego. W przypadkach potwierdzonego zawału, dodatni odczyn immunohistochemiczny był widoczny w preparatach nawet makroskopowo. W przypadkach wątpliwych, dodatni odczyn na obecność apoptozy komórki obserwowano ogniskowo lub w postaci rozsianej i przyjęto go za wykładnik śmierci komórki mięśnia sercowego w mechanizmie niedokrwienia (2, 1).

W praktyce klinicznej rozpoznaje się zawał mięśnia sercowego na podstawie objawów, w oparciu o diagnostykę enzymatyczną oraz wynik badania ekg. W praktyce medyczo-sądowej dysponujemy zwykle jedynie informacją o objawach, podczas gdy badań nie zdołano jeszcze przeprowadzić a już doszło do zgonu pacjenta.

W naszym Zakładzie w przypadkach sekcji osób zmarłych nagle z podejrzeniem wczesnego zawału mięśnia sercowego stosuje się celem rozpoznania histopatologicznego zmian niedokrwienych w mięśniu sercowym metodę Nielsena (oceny fuksynochłonności włókien) (12). Ogniskowa fuksynochłonność włókien opisywana była we wczesnych fazach zawału mięśnia sercowego. Niestety wieloletnie obserwacje potwierdzają brak swoistości tego odczynu dla ogniskowego niedokrwienia. Rozpoczęliśmy zatem badania mające na celu ocenę walorów diagnostycznych metody wykrywania apoptozy we wczesnych fazach zawału mięśnia sercowego. Pierwsze pilotażowe badania obejmowały wyselekcjonowane 14 przypadków zgonów nagłych osób, których sekcje zwłok, przeprowadzone w naszym Zakładzie, wskazywały z dużym prawdopodobieństwem na wczesny zawał mięśnia sercowego jako przyczynę zgonu. (Ostatecznie w ocenie zostało ujętych 12 przypadków).

Wybraliśmy metodę opracowaną dla skrawków parafinowych rutynowo utrwalonych, wykorzystującą terminalną transferazę. W każdym przypadku preparaty z mięśnia sercowego barwione były rutynowo H-E oraz metodą Nielsena.

Wycinki z wybranych przypadków były poddane procedurze stosownej dla metody opracowanej dla skrawków parafinowych z zastosowaniem zestawu

ApopTag Peroxidase Kits. Każdorazowo w kolejnych barwieniach dla oceny poprawności odczynu jako kontrolę, barwiono preparat z jelita cienkiego. (W tkankach takich jak jelito cienkie czy migdałki, apoptoza zachodzi w normalnych warunkach i obejmuje do około 5 procent komórek (1).)

Badana grupa obejmowała wiekowo:

4 przypadki w wieku pomiędzy 30 a 40 rokiem życia, (34cT, 36^, 36o, 36\$),
4 przypadki w wieku pomiędzy 40 a 50 rokiem życia, (42ó\ 446", 466\ 47\$),
4 przypadki w wieku pomiędzy 50 a 60 rokiem życia, (532, 53\$, 53r?, 55o*).

Były to 3 kobiety i 9-ciu mężczyzn. Sekcje wykonywano w 24-48h od chwili zgonu bądź znalezienia zwłok.

W sześciu przypadkach uzyskano dodatni odczyn na obecność apoptozy, czy to w pojedynczych komórkach, czy w skupiskach (nawet do 90% komórek w polu widzenia). We wszystkich tych przypadkach wynik badania metodą Nielsena był ujemny. W jednym z preparatów w barwieniu rutynowym H-E zaobserwowano rozpoczynający się odczyn komórkowy, w pozostałych preparatach poza ogniskowym zwyrodnieniem mięszowym włókien nie było zmian.

W sześciu przypadkach odczyn immunohistochemiczny na obecność fragmentacji DNA oceniono jako ujemny. W trzech z nich wobec wysokiego poziomu alkoholu we krwi za przyczynę śmierci uznano ostre zatrucie alkoholem etylowym. W tych przypadkach barwienie met. Nielsena było dodatnie: w jednym przypadku fuksynochłonność włókien widoczna była we wszystkich preparatach, w dwóch przypadkach tylko ogniskowo w jednym z preparatów. W barwieniach H-E poza zwyrodnieniem mięszowym włókien nie było zmian. W trzech pozostałych barwienie metodą Nielsena wypadło z następującym wynikiem: w jednym przypadku nie stwierdzono fuksynochłonności włókien w żadnym z preparatów, w drugim fuksynochłonność obserwowano we wszystkich preparatach, w trzecim tylko w jednym z preparatów fuksynochłonność widoczna była ogniskowo. W barwieniu H-E poza zwyrodnieniem mięszowym włókien w jednym z przypadków, zmian nie obserwowano.

Ta pierwsza próba wykrywania apoptozy włókien mięśniowych pozwoliła na nabycie doświadczenia w stosowaniu metody barwienia.

Ponadto potwierdzono dane z piśmiennictwa, iż w przypadkach wczesnego niedotlenienia, kiedy inne metody dają jeszcze wynik ujemny, można wykazać apoptozę kardiomiocytów w obszarze niedotlenienia.

PIŚMIENNICTWO

1. Bardales R.H., Hailey L.S., Xie S.S., Schaefer R.F., Hsu S.M.: In situ apoptosis assay for the detection of early acute myocardial infarction, Am J Pathol., 1996, 149(3), 821-829. - 2. Bardales R.H., Xie S.S., Hsu S.M.: In situ DNA fragmentation assay for detection of apoptosis in paraffin - embedded tissue sections, Am. J. Clin. Pathol., 1997, 107(3), 332-336. - 3. Cheng W., Kajstura J., Nitahara J.A., Li B., Reiss K., Liu Y., Clark W.A., Krajewski S., Reed J.C., Olivetti G., Anversa P.: Programmed myocyte celi death affects the viable myocardium after infarction in rats, Exp. Celi Research, 1996, 226(2), 316-327.

- 4. Cotran R., Kumar V., Robbins S.: Pathologic basis of disease (Cellular injury and cellular death; The Heart), 1994 Saunders fifth edition, 17-20, 528-540. - 5. Cummings M., Winterford C, Walker N.: Apoptosis. Histology for pathologist, second edition, 1997 Lippincott-Raven, 3-21. - 6. Gottlieb R., Burleson K., Kloner R., Babio B., Engler R.: Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes, J. Clin. Invest., 1994, 94, 1621-1628. - 7. Hansen S.A., Rossen K.: Evaluation of cardiac troponin I immunoreaction in autopsy hearts: a possible marker of early myocardial infarction, For. Sc. Intern., 1999, 99, 189-196. - 8. Hu B.J., Chen Y.C., Zhu J.Z.: Immunohistochemical study of fibronectin for postmortem diagnosis of early myocardial infarction, 1996, 78, 209-217. - 9. Itoh G., Tamura J., Suzuki M., Suzuki Y., Ikeda H., Koike M., Nomura M., Jie T., Ito K.: DNA fragmentation of human infarcted myocardial cells demonstrated by the nick end labeling method and DNA agarose gel electrophoresis, Am. J. Pathol., 1995, 146(6), 1325-1331. - 10. Kajstura J., Cheng W., Reiss K., Clark W.A., Sonnenblick E.H., Krajewski S., Reed J.C., Olivetti G, Anversa P: Apoptotic and necrotic myocyte cell death are independent contributing variables of infarct size in rats, Lab. Invest., 1996, 74(1), 86-107.

11. Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Currie A.R.: Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics, BrJ Cancer, 1972, 26, 239-257. - 12. Marek Z.: Diagnostyka morfologiczna i biochemiczna w nagłych zgonach wieńcowych i w ostrej niewydolności mięśnia sercowego, Rozprawa habilitacyjna, Kraków, 1967 - 13. Saraste A., Pulkki K., Kallajoki M., Henriksen K., Parvinen M., Voipio-Pulkki L.M.: Apoptosis in human acute myocardial infarction, Circ, 1997, 95(2), 320-323. - 14. Vargas S.O., Sampson B.A., Schoen F.J.: Pathologic detection of early myocardial infarction: a critical review of the evolution and usefulness of modern techniques, Modern Pathol., 1999, 12(6), 635-645. - 15. Venoit J.P., Gattinger D.A., Fliss H.: Early apoptosis in human myocardial infarction, Human Pathol., 1997, 28(4), 485-492. - 16. Virnami R., Atkinson J.D., Fenoglio J.J.: Cardiovascular Pathology (Myocardial ischemia and infarction: anatomy and biochemical substrates for ischemic cell death and ventricular arrhythmias), 1991 Saunders, 61-98.

Adres pierwszego autora:

Katedra Medycyny Sądowej CM UJ
31-531 Kraków
ul. Grzegorzeczka 16

Piotr Koziół, Andrzej Krajka

Analiza statystyczna wyników badań genetycznych przy ustalaniu ojcostwa w przypadku rekonstrukcji fenotypu pozwanego

Genetic data analysis of paternity in cases requiring phenotype reconstruction

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. R. Mądro

Z Instytutu Matematyki Uniwersytetu M. Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. Z. Rychlik

W pracy zaproponowano obliczenia biostatystyczne przydatne do oceny wyników badań polimorfizmu DNA wówczas, gdy fenotyp pozwanego o ojcostwo mężczyzny jest rekonstruowany na podstawie wyników badań rodzinnych. W sprawie alimentacyjnej, w której pozwany mężczyzna już nie żył, jego fenotyp ustalono w oparciu o badania żony i trójki dzieci z tego małżeństwa. Następnie przeprowadzono analizę statystyczną hipotezy, że ten sam mężczyzna jest ojcem dziecka powódki oraz dzieci urodzonych w związku małżeńskim. Wyniki oznaczeń 13 układów DNA (4 VNTR i 9 STR) były wystarczające do potwierdzenia tej hipotezy oraz wykazania, że prawdopodobieństwo jego ojcostwa w odniesieniu do dziecka powódki wynosi > 99.9999%.

The paper presents a biostatistical analysis useful for evaluating the results of DNA polymorphism examinations when the defendant's phenotype is reconstructed on the basis of the results of family tests. In the alimony case, in which the defendant was already dead, his phenotype was determined basing on the tests of his wife and their 3 children. Then a hypothesis stating that the same man was the father of the plaintiffs child and the legitimate children was statistically analysed. The findings of the determinations of 13 DNA systems (4 VNTR and 9 STR) were sufficient to confirm this hypothesis and show that his paternity probability regarding the plaintiffs child was >99.9999%.

Słowa kluczowe: obliczenia biostatystyczne, dochodzenie ojcostwa, STR, VNTR.

Key words: biostatistical analysis, paternity test, STR, VNTR.