

- 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.

WSTĘP

Zastosowanie polimorfizmu DNA w badaniach genetycznych przy ustalaniu pokrewieństwa (dochodzenie ojcostwa, testy imigracyjne) stworzyło bardzo wysoką „szansę wykluczenia” oraz możliwość wypowiedzenia się w kategoriach uprawdopodobniających ojcostwo, macierzyństwo, pokrewieństwo (4, 7, 9, 11). W sprawach „o ustalenie ojcostwa” ekspertyza DNA odgrywa szczególną rolę z uwagi na fakt, że jest to najbardziej obiektywny dowód, pozwalający sądom na uznanie biologicznego ojcostwa pozwanego lub wykluczenie.

Wartość ekspertyzy DNA zależy od ilości oznaczonych lokusów oraz przydatności poszczególnych markerów do badań genetycznych (2, 3, 8). Przy ustalonym zakresie badań uzyskuje się w różnych sprawach różny stopień pewności wnioskowania o ojcostwie pozwanego. Specyfikę polskiego ustawodawstwa rodzinnego, która praktycznie uniemożliwia „pluorum concubinatum” sprawia, że koniecznym jest wykazanie bardzo wysokiego poziomu pewności ojcostwa. Powszechnie uznanym kryterium oceniającym wartość przeprowadzonych badań genetycznych są obliczenia prawdopodobieństwa ojcostwa (1, 2, 5, 14, 15). Zgodnie z ustaleniami Komisji Hemogenetyki Sądowej PTMSiK z 1998 roku do potwierdzenia ojcostwa w oparciu o badania DNA wymaga się obecnie wykazania prawdopodobieństwa ojcostwa > 99,999%.

Gdy znane są fenotypy matki, dziecka i pozwanego, obliczenie prawdopodobieństwa ojcostwa nie nastręcza większych problemów. Natomiast w sytuacji, gdy nie możemy ustalić fenotypu matki (osoba nie żyje lub nie znane jest miejsce jej pobytu) lub gdy z podobnych przyczyn nieznanym jest fenotyp pozwanego - ustalamy je w oparciu o badania krewnych, a wykonanie analizy statystycznej komplikuje się. Szczególnie trudna sytuacja powstaje wówczas, gdy zrekonstruowany fenotyp pozwanego zawiera szereg alternatywnych możliwości.

Celem pracy była ocena probabilistyczna wyników badań w sprawie alimentacyjnej w sytuacji, gdy fenotyp pozwanego ustalony został w oparciu o badania jego dzieci urodzonych w związku małżeńskim oraz ich matki.

MATERIAŁ I METODY

Zgodnie ze zleceniem Sądu Rejonowego w R. w sprawie alimentacyjnej 1233/99 Zakład Medycyny Sądowej AM w Lublinie wykonał badania genetyczne materiału (krwi), pobranego od: 1/ rodziny pozwanego tj. córki (D1), dwóch synów (D2, D3) oraz żony (Ż) matki dzieci D1, D2 i D3, 2/ powódki (P) i jej dziecka (D4).

Z próbek krwi wyizolowano DNA techniką organiczną a następnie wykonano badania polimorfizmu 4 układów RFLP(VNTR): D4S139, D5S110, D7S21, D11S12 oraz 9 układów STR:

FGA, TPOX, D8S1179, VWA, Penta E, D18S51, D21S11, TH01, D3S1358.

Układy RFLP oznaczano metodą hybrydyzacji fragmentów restrykcyjnych (uzyskanych po trawieniu enzymem Hinf I) z komercyjnymi sondami molekularnymi oraz z użyciem chemiluminescencyjnej techniki detekcji (9, 10). Fenotypowanie wykonano w oparciu o pomiar wielkości fragmentów restrykcyjnych

a grupowanie alleli zgodnie z zakresem wielkości ($\pm 2.4\%$ pz) przyjętym w laboratorium genetycznym Zakładu Medycyny Sądowej AM w Lublinie. Częstości alleli ustalone zostały zgodnie z metodą „floating bin” w oparciu o znane fenotypy nie spokrewnionych osób, oznaczane w Zakładzie w latach 1993-1999 (10).

Układy STR oznaczano techniką PCR z użyciem zestawów PowerPlex 2.1 Fluorescent STR firmy Promega. Produkty multipleksowej amplifikacji rozdzielano na żelach denaturujących PAA, detekcję fragmentów wykonano przy użyciu skanera laserowego FMBIO II firmy Hitachi. Fenotypy odczytywano porównując fragmenty z drabiną alleli oraz w oparciu o pomiar wielkości w obecności wewnętrznego markera CXR 40-600. Częstości alleli 9 układów STR pochodzą z bazy danych Zakładu Medycyny Sądowej AM w Lublinie, którą ustalono w oparciu o badania 370 nie spokrewnionych osób.

Obliczenia prawdopodobieństwa ojcostwa wykonano w oparciu o wzór Bayes'a przy założeniu „a priori”=0.5 wg. własnego programu („Father II” - A.Krajka, P.Kozioł)

Założenia i sposób przeprowadzenia analizy statystycznej alternatywnych hipotez odnośnie ojcostwa pozwanego w stosunku do czwórki badanych dzieci przedstawiono w tej pracy. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono przykładów statystycznej analizy badań genetycznych w tego typu sprawach.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki fenotypowania 4 układów VNTR oraz 9 układów STR żony pozwanego, trójki dzieci z małżeństwa oraz powódki wraz z dzieckiem przedstawiono w tabeli I.

W oparciu o segregację alleli między żoną pozwanego a trójką jej dzieci w obrębie 8 z 13 przebadanych układów (D4S139, D5S110, D7S21, Penta E, D18S51, D21S11, TH01 i D3S1358) ustalono taki zestaw alleli których obecność u mężczyzny pozwalałaby na uznanie go za biologicznego ojca dzieci D1, D2, D3. Natomiast w przypadku układów TPOX, D8S1179 oraz VWA możliwe były dwa alternatywne fenotypy pozwanego, „pasujące” zarówno do dzieci małżeńskich jak i do dziecka powódki. W związku z tym należało założyć, że pozwany posiadał fenotyp homozygotyczny w układzie TPOX (8-8) i D8S1179 (11-11) albo heterozygotyczny TPOX (8-?) i D8S1179 (11-?) co generuje różne wartości prawdopodobieństwa ojcostwa. W tabeli I zaznaczono więc dwie, skrajne jego wartości. W obliczeniach wartości PI pominięto układy D12S11 i FGA. W układzie D12S11 nie ma bowiem wspólnego allelu między dzieckiem powódki i dziećmi z małżeństwa, a w układzie FGA istnieje możliwość wystąpienia u pozwanego dwóch fenotypów (23-25 lub 22-25), przy czym przyjęcie się miał fenotyp 22-25 prowadzi do wykluczenia ojcostwa lub świadczy o pojawieniu się mutacji. W oparciu o tak zrekonstruowany fenotyp pozwanego dla 11 układów DNA obliczono dwie skrajne wartości PI. Wynosiły odpowiednio 5.7×10^6 oraz 2.2×10^7 i w obu przypadkach odpowiadały bardzo wysokiemu prawdopodobieństwu ojcostwa pozwanego (>99.9999%) w stosunku do dziecka (D4) powódki.

Tabela I. Rekonstrukcja fenotypu pozwanego w oparciu o wyniki badań jego rodziny oraz wartości indeksu ojcostwa (PI) dla dziecka powódki.

Table I. The defendant's phenotype reconstruction based on the results of his family tests and paternity index(PI) values for the plaintiff's child.

	RFLP					STR							
	D4S139	D5S110	D7S21	D12S11	FGA	TPOX	D8S117	VWA	PentaE	D18S51	D21S11	TH01	D3S1358
Z	5.67-9.36	2.84-3.22	6.05-7.17	8.95-10.07	22-23	8-8	14-15	17-18	13-15	14-17	31-33.2	9.3-9.3	14-17
D-1	5.49-5.87	2.84-8.74	5.94-7.17	8.52-8.95	23-25	8-8	11-14	17-18	12-15	14-19	30.2-33.2	6-9.3	14-18
D-2	9.36-10.34	2.84-8.74	6.05-6.25	8.52-8.95	22-23	8-8	11-15	17-18	12-15	14-19	30.2-31	6-9.3	14-18
D-3	5.49-9.36	2.84-3.26	6.05-6.25	8.52-10.12	22-25	8-8	11-14	16-18	11-13	14-16	31-32.2	9-9.3	15-17
O	5.49-10.34	3.26-8.74	5.94-6.25	8.52-?	25-22	8-?	11-?	16-17	11-12	16-19	30.2-33.2	6-9	15-18
D4	3.22-10.34	3.26-3.38	5.94-9.24	4.64-9.41	(25-23)	(8-8)	(11-11)	(16-18)					
P	3.22-9.41	3.38-4.62	6.37-9.24	9.41-10.18	19-25	8-11	11-15	15-16	5-12	16-17	28-32.2	6-9.3	14-18
PI	33.472	9.916	8.499			0.880	3.088	2.400	2.435	10.274	6.998	0.963	1.860
						(1.761)	(6.139)						

$$\sum PI = 5.7 \times 10^6 (2.2 \times 10^7)$$

Ż – żona pozwanego(the defendant's wife); D-1, D-2, D-3 dzieci z małżeństwa(legitimate children); O – pozwany (the defendant), P powódka(mother of D4 child), D4 – dziecko powódki(the plaintiff's child), PI – współczynnik ojcostwa(paternity index)

Inna możliwość oceny wyników badań genetycznych może polegać na statystycznej analizie alternatywnych hipotez odnośnie ojcostwa mężczyzny (lub mężczyzn) w stosunku do każdego z czworga dzieci. Wymaga to jednak ustalenia czego jesteśmy pewni, a co jest wątpliwe. Ponadto hipotezy muszą być tak skonstruowane by się wzajemnie wykluczały oraz by najbardziej prawdopodobna z nich mogła stanowić rozwiązanie analizowanego problemu. W naszym przykładzie za pewne przyjęliśmy, że matką trójki dzieci małżeńskich D1, D2, D3 jest żona pozwanego Ż, oraz że matką dziecka D4 jest powódka P. Nie istniały bowiem uzasadnione wątpliwości, zobowiązujące nas do stworzenia hipotez weryfikujących również macierzyństwo. 15 przyjętych przez nas hipotez zawiera tabela II. Hipoteza 1 (H₁) zakłada na przykład, że mężczyzna 01 jest ojcem dziecka D1, D2, D3 i D4 natomiast 14 dalszych hipotez przyjmuje, że więcej jak jeden mężczyzna może być ojcem tych dzieci a w skrajnej 15 hipotezie zakładamy, że każde dziecko pochodzi od innego ojca. Każda z postawionych hipotez weryfikowana jest przy tym w stosunku do wszystkich pozostałych.

Tabela II. Hipotezy odnośnie ojcostwa 3 dzieci małżeńskich i dziecka powódki.
Table II. Paternity hypotheses in the cases of 3 legitimate children and the plaintiff's child.

Hipotezy Hypotheses	Opis hipotez Description
H ₁	01-> D1, 0 1 - * D2, 0 1 - * D3, 0 1-> D4
H ₂	0 1 - * D1, 01-> D2, 0 1 - * D3, 0 2 ^ D4
H ₃	01 ^ D1, 01-> D2, 02-> D3, 01-> D4
H ₄	0 1 ^ D1, 02-* D2, 01-> D3, 0 1 ^ D4
H ₅	02-* D1, 01-> D2, 01-> D3, 0 1 - * D4
H ₆	0 1 - ^ D1, 0 1 - * D2, 02-* D3, 0 2 ^ D4
H ₇	01-> D1, 02-> D2, 0 1 - * D3, 0 2 ^ D4
H ₈	0 1 - * D1, 02-> D2, 02-* D3, 0 1 ^> D4
H ₉	0 1 - ^ D1, 02-> D2, 03-> D3, 03-> D4
H ₁₀	0 1 - * D1, 0 1 ^ D2, 03-* D3, 0 1 - * D4
H ₁₁	0 1 ^ D1, 02-> D2, 02-> D3, 0 3 ^ D4
H ₁₂	0 1 ^ D1, 02-* D2, 03-> D3, 0 1-> D4
H ₁₃	01-> D1, 02-> D2, 01-> D3, 03-> D4
H ₁₄	01-> D1, 01-> D2, 02-^ D3, 03-* D4
H ₁₅	01 > D1, 02 > D2, 03 > D3, 04 > D4

Prawdopodobieństwo hipotezy pierwszej (PIHTIN/]), że pozwany jest ojcem czworga dzieci przy warunku że otrzymano wyniki badań (V)- w naszym przypadku opisanych w tabeli I, zgodnie ze wzorem Bayes'a przyjmuje postać:

$$P[H_1 | V] = \frac{1}{1 + \frac{1}{LR(H_1)}}$$

gdzie, iloraz największej wiarygodności hipotezy 1 wynosi:

$$LR(H_1) = \frac{P[V | H_1]P[H_1]}{\sum_{i=2}^{15} P[V | H_i]P[H_i]}$$

a $P[H_j]$ oznacza prawdopodobieństwo zaistnienia hipotezy H_i , $1 < i < 15$, (jest to tak zwane prawdopodobieństwo a'priori), natomiast $P[V|H_j]$ oznacza prawdopodobieństwo otrzymania wyników V przy założeniu słuszności hipotezy H_j , $1 < i < 15$.

Zazwyczaj przyjmuje się, że prawdopodobieństwa a'priori są jednakowe. Jednak przy rozważaniu 15 hipotez i obliczaniu PIH^N] możemy założyć, że albo wszystkie 15 hipotez jest jednakowo prawdopodobnych albo że hipoteza H_1 i jej zaprzeczenie są jednakowo prawdopodobne (a w obrębie tego zaprzeczenia jednakowo prawdopodobnych jest 14 składowych hipotez). Dalsze obliczenia możemy zatem wykonać w dwóch wersjach A i B.

W wersji (A) przyjmujemy, że hipoteza H_1 i każda ze składowych zaprzeczenia tej hipotezy (H_2, \dots, H_{15}) jest jednakowo prawdopodobna, wtedy:

$$P[H_i] = \frac{1}{15}, 1 \leq i \leq 15,$$

a zaletą tej wersji jest fakt że otrzymane prawdopodobieństwa sumują się do 1 i spełniony jest III postulat Bayes'a, ponadto takie podejście do obliczeń zaleca Hummel (6).

W wersji (B) zakładamy, że przy rozważaniu hipotezy możemy przyjąć, że jest ona równie prawdopodobna jak wszystkie hipotezy przeciwne razem tzn. prawdopodobieństwo H_j wynosi 1/2 a prawdopodobieństwo wszystkich hipotez przeciwnych H_2, \dots, H_{15} wynosi również 1/2, wtedy:

$$P[H_1] = \frac{1}{2}, P[H_i] = \frac{1}{28}, 2 \leq i \leq 15,$$

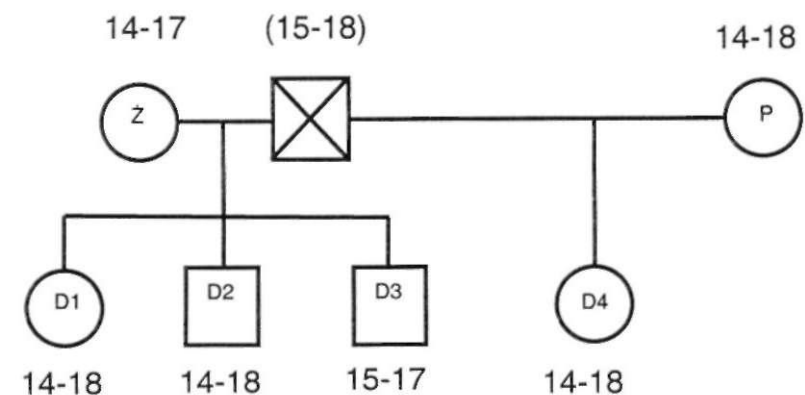
W tabeli III przedstawiamy wyniki obliczeń prawdopodobieństwa dla wszystkich postawionych hipotez z uwzględnieniem wersji A i B prawdopodobieństwa a'priori.

Pozostaje do wyjaśnienia w jaki sposób obliczamy wartość $P[V|H_j]$. Prawdopodobieństwa te oblicza się w zależności od przyjętej hipotezy i wyników badań uzyskanych dla pojedynczego lokus oraz częstości alleli odziedziczonych od ojca. Dla przykładu rozważyć można jak obliczyć te prawdopodobieństwa dla układu D3S1358 przy założeniu hipotezy H_1 . Sytuację tę graficznie przedstawia rycina 1.

Tabela III. Prawdopodobieństwa hipotez odnośnie ojcostwa dzieci małżeńskich i dziecka powódki.

Table III. Probabilities of paternity hypotheses in the cases of legitimate children and the plaintiffs child.

Hipotezy Hypotheses	Prawdopodobieństwo hipotez $H_1 \dots H_{15}$, w stosunku do pozostałych hipotez rozpatrywanych łącznie Probability of $H_1 \dots H_{15}$ hypotheses in relation to other hypotheses considered together	
	Wersja (A) Version(A)	Wersja (B) Version(B)
H_1	0.9999793689595	0.9999985263260
H_2	0.000002267343	0.0000031742712
H_3	0.0000203981194	0.0002854979642
H_4	0.0000000000691	0.000000009670
H_5	0.0000000000373	0.000000005225
H_6	0.0000000044536	0.000000623510
H_7	0.0000000000042	0.000000000582
H_8	0.0000000000000	0.0000000000002
H_9	0.0000000000000	0.0000000000000
H_{10}	0.0000000000002	0.0000000000023
H_{11}	0.0000000000000	0.0000000000000
H_{12}	0.0000000000000	0.0000000000002
H_{13}	0.0000000000000	0.0000000000000
H_{14}	0.000000016224	0.000000227140
H_{15}	0.0000000000000	0.0000000000000



Ryc. 1. Schemat dziedziczenia alleli układu D3S1358 w analizowanej sprawie przy założeniu hipotezy H_1 (Symbole i fenotypy jak w tabeli I).

Fig. 1. A diagram of allele inheritance of the D3S1358 system in the analysed case when the H_1 hypothesis is assumed. (Symbols and phenotypes as in table I).

Przedstawiony schemat dziedziczenia alleli układu D3S1358 przy założeniu hipotezy H_1 stanowi podstawę do obliczenia $LR_{(i,D3S1358)}$ przy czym fenotyp pozwanego nie jest znany, wiemy natomiast, że jedynie mężczyzna o fenotypie 15-18 może być ojcem 4 dzieci. Ze względu na to, że istnieje możliwość mutacji w tym lokus, powinniśmy dodatkowo uwzględnić każdy inny możliwy fenotyp ojca oraz prawdopodobieństwo odziedziczenia allelu przez któreś z dzieci. Dla uproszczenia nasze rozważania przeprowadzimy jednak przy założeniu braku mutacji, chociaż ostateczne wzory użyte w obliczeniach uwzględniają taką możliwość.

Układy dzieci D1, D2, D3 i D4 są zdeterminowane fenotypami rodziców. Przy obliczaniu PIA/IHT] mamy więc do czynienia z trzema losowo spotykającymi się osobami Z, O, P (o fenotypach 14-17, 15-18 i 14-18) z prawdopodobieństwem $v(14,17)v(15,18)v(14,18)$, gdzie v oznacza częstość fenotypu (f_1-f_2) oraz z czterema osobami, które otrzymały swoje geny od odpowiednich rodziców z prawdopodobieństwem $1/4$ każde. Na tej podstawie otrzymujemy:

$$P[V | H_1] = \left(\frac{1}{4}\right)^4 v(14,17)v(15,18)v(14,18).$$

Podobnie obliczamy pozostałe prawdopodobieństwa $P[V|H_i]$, $2 < i < 15$ w układzie D3S1358 i wstawiliśmy je do wzoru na $LR(H_{j,si358})$. Po wykonaniu analogicznych obliczeń z pozostałymi układami DNA uzyskaliśmy (przez przemnożenie poszczególnych wartości LR), ostateczną wartość $LR(H_i)$. Identyczne obliczenia wykonaliśmy dla każdej z hipotez przedstawionych w tabeli II a otrzymane wyniki, które określały ich prawdopodobieństwo przedstawiliśmy w tabeli III z uwzględnieniem wersji (A) i (B) prawdopodobieństwa a priori.

Istnieje szereg doniesień o celowości badań genetycznych DNA krewnych nie żyjącego rodzica w sprawach sądowych „o ustalania ojcostwa” (3, 12, 13). W oparciu o analizę proporcji wspólnych fragmentów w zakresie polimorfizmu RFLP (oznaczanego przy użyciu sond wielo-lokusowych) można wykazywać pokrewieństwo dziecka powódki z członkami rodziny pozwanego lub jego brak, przy czym założenia matematyczne tych obliczeń są bardzo dyskusyjne (3, 7, 9) Natomiast wyniki badań pojedynczych lokus (VNTR i STR) dostarczają precyzyjnych informacji o tych allelach dziecka które są wspólne z badaną rodziną oraz o ich częstościach w populacji, co może być podstawą do bardziej precyzyjnej oceny prawdopodobieństwa ojcostwa (1,2, 11, 13).

Rekonstrukcja fenotypu pozwanego w oparciu o badania jego rodziny stwarza jednak nadal szereg problemów. Po pierwsze brak jest ciągłości dowodowej, że allele otrzymane przez dziecko od biologicznego ojca obecne są w fenotypie pozwanego, gdyż taką ciągłość zapewnia jedynie bezpośrednie pobranie materiału biologicznego od pozwanego. Jeżeli pozwany nie żyje i znane jest miejsce jego pochówku, istnieje możliwość uzupełnienia przerwanej ciągłości dowodowej przez pobrania w trakcie ekshumacji fragmentów tkanek ale zdegradowane tkanki nie zawsze nadają się do badań polimorfizmu DNA. Po drugie w tego typu ekspertyzach powstaje pytanie ilu krewnych należy zbadać oraz ile układów należy oznaczyć, aby uzyskać wiarygodny wynik pozwalający na wykluczenie lub potwierdzenie ojcostwa pozwanego. Stosunkowo prosta wydaje się sytuacja jeżeli żyją rodzice pozwanego a wyniki badań genetycznych

pobranego od nich materiału wykażą obecność wspólnych alleli u nich i dziecka. Potwierdzenie ojcostwa pozwanego wydaje się wówczas uzasadnione gdy pokrewieństwo między dzieckiem a dziadkami jest wysoce prawdopodobne, pozwany nie miał brata oraz gdy segregacja cech wyklucza ojcostwo dziadka. W podobnych sytuacjach bardziej problematyczne jest opiniowanie wykluczające. Brak wspólnych cech dziecka z dziadkami nie wyklucza bowiem możliwości biologicznego ojcostwa ich syna ze względu na to, że ojcem pozwanego może być inny mężczyzna niż dziadek. Zatem nawet w najprostszych sprawach gdzie fenotyp rodzica jest rekonstruowany, należy uwzględnić różne możliwości dziedziczenia wspólnych alleli.

W omawianym przypadku rekonstrukcję fenotypu pozwanego przeprowadziliśmy na podstawie wyników badań DNA trójki jego dzieci małżeńskich oraz dziecka powódki. Przedstawiliśmy jednocześnie taką analizę statystyczną która pozwoliła na weryfikację wszystkich możliwych hipotez pochodzenia tych dzieci. W trakcie analizy wykazaliśmy, że hipoteza wg. której „ojcem 3 dzieci małżeńskich oraz dziecka powódki jest ten sam mężczyzna” jest najbardziej prawdopodobna 99,99999% oraz że pozostałe hipotezy są bardzo mało prawdopodobne na podstawie czego mogliśmy wydać opinię pozwalającą na rozstrzygnięcie problemu ojcostwa pozwanego.

Podobną analizę można przeprowadzić w każdym przypadku konieczności rekonstrukcji fenotypu rodzica (zarówno ojca jak i matki) na podstawie wyników badań rodzinnych, a na jej podstawie można dokonać oceny czy przeprowadzone badania są wystarczające do wydawania opinii w kategoriach odpowiadającej pewności. Jeżeli takiej pewności nie osiągniemy należy oznaczyć dodatkowe markery genetyczne zabezpieczonego materiału dowodowego lub wnioskować o konieczności przebadania dalszych członków rodziny.

PIŚMIENNICTWO

1. Berent J.A., Miścicka-Śliwka D.: Algorytm do obliczeń prawdopodobieństwa ojcostwa dla układów dyskretnych i jego praktyczna realizacja. Postępy Med. Sąd. i Krym., 1997, 3, 301-314.
2. Czarny J., Miścicka-Śliwka D., Berent J.A., Grzybowski T., Woźniak M.: Ocena praktycznej przydatności multipleksowej analizy 12 loci STR zawartych w systemach „GenePrint PowerPlex 1.2 Fluorescent STR System” i „GenePrint FFFL Fluorescent STR System” w dochodzeniu ojcostwa. Arch. Med. Sąd. Krym., 1999, XLIX, 225-231, -3.
3. Czarny M., Kwiatkowska J., Chlebowska H., Siemieniako B., Słomska B., Słomski R.: Skuteczność analizy DNA w dochodzeniu spornego ojcostwa, w przypadkach bliskiego pokrewieństwa rodziców. Arch. Med. Sąd. Krym., 1996, XLVI, 289-297.
4. Czarny M., Kwiatkowska J., Słomska M., Siemieniako B., Słomski R.: Możliwości badawcze polimorficznych loci DNA człowieka i ich wykorzystanie w badaniach medyczo sądowych. Arch. Med. Sąd. Krym., 1995, XLV, 3-4, 257-269.
5. Henke J., Fimmers R., Baur M.P., Henke L.: DNA-minisatellite mutations: recent investigations concerning distribution and impact on parentage testing. Int J. Leg. Med. 1993, 105, 217-222.
6. Hummel K.: The

Essen-Moller method. Adv.in Forens. Haemogen., 1996, 1, 453-458., -7. Jeffrey A.J., Turner M., Debenham P.: The efficiency of multilocus DNA fingerprint probes for individualisation and establishment of family relationships, determined from extensive casework. Am. J. Hum. Genet., 1991, 48, 824-840., -8. Kozioł P., Ciesielka M.: Ocena przydatności badań VNTR lokus D1S80 w sprawach spornego ojcostwa. Arch. Med. Sąd. i Krym., 1994, XLIV, 4459-465., -9. Kozioł P., Tokarzewska J., Krajka A., Mądro R.: Polimorfizm lokus D5S110 w populacji Polski południowo-wschodniej i ocena przydatności w ekspertyzie genetycznej ojcostwa. Postępy Med. Sad i Krym 1997, III, 279-287., -10. Kozioł P., Krajka A., Mądro R.: Analiza segregacji fragmentów DNA wielolokusowej sondy MZ1.3 w badaniach genetycznych spornego ojcostwa. Postępy Med. Sad i Krym., 1997, III, 265-277.,

11. Morling N., Hansen H.E.: Paternity testing with VNTR DNA systems. Int. J. Leg. Med. 1993, 105, 189-196., -12. Raczek E., Kabiesz J., Drożdżiak K.: Opiniowanie w oparciu o badania DNA w nietypowych sprawach dochodzenia ojcostwa. Arch. Med. Sąd. Krym., 1997, XLVII, 321-325., -13. Szczotka H., Schlesinger D.: Tablice do obliczania prawdopodobieństwa ojcostwa w populacji polskiej. Materiały i Prace Antropologiczne 1980, 98, 3-51. -14. Słomski R., Dziechciowska K., Lisiecka D., Siemieniako B., Słomska M.: Dochodzenie spornego ojcostwa na podstawie analizy DNA po śmierci ojca lub matki. Arch. Med. Sąd. i Krym., 1997, XLVII, 307-314., -15. Weir B.S.: Genetic Data analysis II. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland 1996

Adres autorów:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM w Lublinie
20-706 Lublin
ul. Jaczewskiego 8

Jerzy Kunz

Błąd z bezduszości lekarskiej

Medical malpractice due do physiciarTs soullessness

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

Przedstawiono przypadek zgonu psychicznie chorego 59-letniego mężczyzny zaniedbanego, toczzonego zażyciowo przez larwy owadów. Chory parokrotnie badany przez lekarzy specjalistów przez żadnego z nich nie został zakwalifikowany, z uwagi na swój stan ogólny i miejscowy do leczenia szpitalnego. Obrona oskarżonych lekarzy dowodziła, iż w niniejszym przypadku nie dopuszczono się błędu diagnostycznego gdyż nic nie wskazywało na stan chorego mogący zagrażać jego życiu. W opiniach podkreśliliśmy nie tylko popełnienie błędu diagnostycznego i leczniczego ale także nieludzkie postępowanie lekarzy z krańcowo zaniedbanym pacjentem.

The fatal case of a mentally disabled 59 year old man found in a field, neglected and vitally infested with worms is presented. The diseased was examined by physicians of emergency service as well as in hospital and they refused to admit him arguing that „there were no medical indications for stationary treatment”. On the third day the patient died outside the hospital due to dehydration. In our opinions we assumed not only a medical - diagnostic error but we also placed an emphasis on the soullessness malpractice of medical staff in relations to an extremely neglected patient.

Słowa kluczowe: błąd lekarski, błąd decyzyjny.

Key words: medical malpractice, resoMng error.

Błąd medyczny i jego kategorie zostały dość dokładnie zdefiniowane na przestrzeni lat i opiniowanie interdyscyplinarne w tych sprawach stanowi codzienność w praktyce sądowo lekarskiej (1, 2, 3). Niesłuchanie rzadko jednak w praktyce krakowskiej Katedry spotykamy się z przypadkami błędu decyzyjnego (zarówno diagnostycznego jak i terapeutycznego) wynikającego z działania wbrew podstawowym zasadom etyki i deontologii lekarskiej, wręcz nieludzkiego potraktowania pacjenta przez lekarzy z którymi miał on kontakt.

Taki właśnie przypadek mieliśmy ostatnio okazję opiniować a następnie uczestniczyć w rozprawach przeciwko oskarżonym lekarzom.