

PRACE POGLĄDOWE
REVIEWS

M. Śliwka

Ciężar dowodu w procesach medycznych - między domniemaniami faktycznymi a dowodem prima facie. I. Ciężar dowodu
Burden of proof in medical cases - presumption of fact and prima facie evidence I. Burden of proof.....45

M. Śliwka

Ciężar dowodu w procesach medycznych - między domniemaniami faktycznymi a dowodem prima facie. II. Domniemania faktyczne a dowód prima facie
Burden of proof in medical cases - presumption of fact and prima facie Evidence II. Presumption of fact and prima facie evidence.....53

S. M. Teleśnicki, F. Bolechała

Medyczne i prawne aspekty niezdolności do brania udziału w czynnościach procesowych oraz odbywania kary pozbawienia wolności wynikające z obecności choroby psychicznej
Medical and legal aspects of inability to participate in legal proceedings and the execution of imprisonment resulting from the mental illness.....65

PRACE KAZUISTYCZNE
CASE REPORTS

K. Galer, M. Krzyżanowski

Przypadek śmiertelnego zatrucia tramadolem w przebiegu interakcji z innymi lekami
Death attributed to the toxic interaction of tramadol and other drugs:73

T. Konopka

Śmiertelne obrażenia w wyniku nadziania się na ostre przedmioty
Lethal injuries caused by sharp tools.....79

Anita Dettlaff-Kąkol, Ryszard Pawłowski'**Polimorfizm locus DYS438 w populacji polskiej****Polymorphism of the DYS438 locus in a Polish population**

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Gdańsku

Kierownik: dr hab. Z. Szczerkowska - profesor AM

"Z Instytutu Ekspertyz Sądowych w Krakowie

Dyrektor: A. Głazek

Praca przedstawia badanie polimorfizmu locus DYS 438 w próbce populacyjnej 249 mężczyzn z obszaru Polski. W analizowanej próbce populacyjnej stwierdzono 5 z 9 dotychczas opisanych alleli (6-14). Najczęstszym allelem był allel, 11 który wystąpił w badanej populacji z częstością 0,5502. W naszej populacji nie stwierdziliśmy bimodalnego rozkładu alleli DYS438, jaki obserwowano w innych populacjach europejskich. Obliczony współczynnik różnorodności dla locus DYS438 wynosi 0,53 i jest wyższy w naszej populacji od obserwowanego dla DYS391, DYS389I, DYS392 i DYS393 a niższy od obserwowanego dla loci DYS385I/II, DYS19, DYS389II, DYS439. Analizie poddano homogenność rozkładu alleli pomiędzy populacją polską a innymi populacjami. Stwierdzono bardzo znamienne statystycznie różnice ($p < 0,0000$) pomiędzy rozkładem alleli pomiędzy populacją polską a czterema innymi populacjami europejskimi (Włochy, Portugalia, Hiszpania i Dania).

This paper describes polymorphism of a new locus DYS438 in a Polish population sample of 249 males. In an analyzed population sample 5 of 9 alleles, to date identified, were found (6-14). The most frequent allele was 11 with a frequency of 0,5502. In our population bimodal frequency distribution of DYS438 alleles contrary to the other European populations was not observed. The calculated gene diversity value for DYS438 locus is 0,53 and is higher than observed for DYS391, DYS389I, DYS392 i DYS393 and lower than observed for DYS385I/II, DYS19, DYS389II, DYS439 i DYS390 Y-STR loci analyzed to date in our population. Moreover comparison of homogeneity distribution of DYS438 alleles between different populations was analyzed. Very significant statistical differences ($p < 0.0000$) were observed between our population and three other European population samples (Italy, Portugal, Spain and Denmark).

Słowa kluczowe: Locus DYS 438, genetyka populacyjna, populacja polska

Key words: DYS 438 Locus, population genetics, Polish population

WSTĘP

Z wielu polimorficznych loci typu Y-STR opisanych do tej pory do najczęściej stosowanych do identyfikacji śladów biologicznych i dochodzenia spornego ojcostwa stosowane są DYS19, DYS392, DYS390, DYS393, DYS385I/II, DYS391, DYS389I i DYS389II. Ich częstości między innymi w populacji europejskiej dostępne są od stosunkowo niedawna w internecie (<http://vstr.charite.de>) i wykazują duże różnice w rozkładzie dla poszczególnych populacji. Ostatnio dalsze loci typu Y-STR opisano i zastosowano w genetyce sądowej. Należą do nich DYS434, DYS435, DYS436, DYS437, DYS438 i DYS439 opisane przez Ayub i wsp. (1) oraz DYS460, DYS461, GATA A10, GATA C4 i GATA H4 opisane przez White i wsp. (13). Locus DYS 438 wykazuje złożony polimorfizm pięcionukleotydowych jednostek repetytywnych. Struktura sekwencji powtarzalnej dla tego locus może zostać zapisana następująco: - (TTTTC)T (TTTTC)_n, I (TTTTC)_n (12). Do tej pory w locus tym zidentyfikowano 9 alleli (6-14) zawartych w przedziale wielkości od 201-241 pz.

W niniejszej pracy przedstawiamy badania populacyjne nad locus DYS438 w populacji polskiej, którego polimorfizm, podobnie jak DYS439 niedawno przez nas opisany (3), nie był dotychczas analizowany w naszej populacji.

MATERIAŁY I METODY

Badaniom poddano próbki materiału biologicznego (krew i wymazy z jamy ustnej) pochodzące od 249 niespokrewnionych mężczyzn z obszaru populacji Polski Północnej. Izolację DNA i pomiar jego stężenia przeprowadzano metodami uprzednio opisanymi (9, 10).

Amplifikację locus DYS438 prowadzono stosując warunki amplifikacji podane przez Ayub wsp. (1), stosując startery wyznakowane znacznikiem fluorescencyjnym 6-FAM. Produkty amplifikacji rozdzielano metodą elektroforezy kapilarnej stosując automatyczny sekwenator ABI310 przy zastosowaniu wewnętrznego standardu wielkości CXR Fluorescent Ladder (Promega).

W celu skonstruowania drabiny alleli dla badanego locus sekwencjonowaniu poddano wybrane allele różniące się pomiędzy sobą wielkościami fragmentów. Sekwencjonowanie alleli prowadzono stosując zestaw BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 3.1 (Applied Biosystems).

Współczynnik różnicowania dla genów (D) obliczano wg Nei (7).

WYNIKI I DYSKUSJA

W zastosowanych warunkach amplifikacji i rozdzielenia produktów PCR dla locus DYS438 uzyskano czytelne i niebudzące wątpliwości wyniki. Żaden z sekwencjonowanych alleli służących do skonstruowania drabiny alleli dla locus

DYS438 nie wykazał złożonego polimorfizmu a wyłącznie obecność alleli zawierających pięcionukleotydowe powtórzenia (TTTTC)_n, bez inkluzji sekwencji TTTTA. Przy zastosowaniu starterów opisanych przez Ayub i wsp. (1) i rozdzieleniu alleli na sekwenatorze ABI310 przy zastosowaniu standardu wewnętrznego CXR-Fluorescent Ladder (Promega) wielkości alleli od 9 do 13 mieszczą się w zakresie wielkości od 210 do 230pz, czyli należą do fragmentów DNA o średniej wielkości w porównaniu do innych powszechnie badanych w genetyce sądowej.

Rozkład częstości 249 alleli locus DYS438 zaobserwowany w próbkach populacyjnej z obszaru Polski przedstawia tabela I. W badaniach populacyjnych stwierdzono, 5 z 9 do tej pory zidentyfikowanych alleli, wśród których najczęściej występował allel 11, który pojawił się w ponad połowie badanych próbek. W odróżnieniu od danych publikowanych dla innych populacji europejskich (2, 4, 6) nie zaobserwowano bimodalnego rozkładu częstości alleli locus DYS438. Rozkład w naszej populacji wykazuje typowy obraz modalnego rozkładu. Co jest warte podkreślenia, inny locus, a mianowicie DYS392 wykazujący praktycznie we wszystkich europejskich populacjach rozkład bimodalny w przeciwieństwie do DYS438, wykazuje go jednak i w naszej populacji (5, 10).

Tabela I. Rozkład alleli locus DYS 438 w próbkach populacyjnej z obszaru Polski (N=249).

Table I. Distribution of DYS 438 alleles in a Polish population sample (N = 249).

Allel Allele	Ilość zaobserwowana Number observed	Częstość Frequency
9	5	0,0201
10	71	0,2852
11	137	0,5502
12	34	0,1365
13	2	0,0080

Te różnice w rozkładzie częstości alleli pomiędzy populacją polską a innymi czterema populacjami europejskimi rzutują na brak homogenności rozkładu alleli DYS438 pomiędzy nimi. We wszystkich porównaniach zaobserwowano wartości P poniżej 0,0000 (tab. II), co zdecydowanie wskazuje na konieczność opierania wszelkich obliczeń częstości haplotypów na częstościach zaobserwowanych we własnych próbkach (8, 11).

Dla alleli stwierdzonych w analizowanej populacji 249 mężczyzn obliczono współczynnik różnorodności D, którego wartość ($D=0,5329$) jest niższa od innych trzech uprzednio badanych loci typu Y-STR (DYS385I/II (0.84), DYS 19 (0.76), DYS 389II (0.72) a wyższa od pozostałych DYS 390 (0.68), DYS 391 (0.50), DYS 389I (0.40), DYS 392 (0.36) i DYS 393 (0.36) (10). Wartość ta czyni locus

DYS438 średnio przydatnym do celów identyfikacyjnych w naszej populacji. W porównywanym populacjach jedynie populacja duńska wykazuje niższą wartość współczynnika różnorodności od naszej, a pozostałe trzy mają wyższe wartości z bardzo wysoką dla populacji włoskiej (tab. II).

Tabela II. Porównanie rozkładu alleli locus DYS438 pomiędzy czterema populacjami europejskimi.

Table II. Comparison of DYS438 locus alleles distribution between four European population samples.

Allele Alleles	Polska (Poland)	Włochy (Północno-Zachodnia) North-West Italy (4)	Portugalia (Centralna) Central Portugal (6)	Hiszpania (Galicja) Spain (Galicja) (6)	Dania (Danmark) (2)
	Częstość frequency	Częstość frequency	Częstość frequency	Częstość frequency	Częstość frequency
8	0,0000	0,0080	0,0000	0,0109	0,0000
9	0,0201	0,2060	0,0094	0,1087	0,0000
10	0,2852	0,2980	0,1085	0,2717	0,3871
11	0,5502	0,0610	0,3774	0,0435	0,0968
12	0,1365	0,3740	0,3915	0,5543	0,4677
13	0,0080	0,053	0,1085	0,0109	0,0484
D*	0,5329	0,7223	0,6238	0,6116	0,4753
G-statistic Chi*		120,6832 (P=0,0000)	107,7160 (P=0,0000)	103,5645 (P=0,0000)	57,0376 (P=0,0000)
		134,9735 (P=0,0000)	111,4250 (P=0,0000)	113,8209 (P=0,0000)	59,8384 (P=0,0000)

Legenda: * - Homogenność rozkładu alleli pomiędzy populacją polską a innymi populacjami z Europy obliczana za pomocą programu G. Carmodi'ego

Legend: Homogeneity alleles distribution between polish and other European populations calculated with Carmody program. * - Współczynnik różnorodności (gene diversity)

PIŚMIENNICTWO

1. Ayub, Q., Mohyuddin, A., Qamar, R., Mazhar, K., Zerjal, T., Mehdi, S. Q., Tyler-Smith, C: Identification and characterisation of novel human Y-chromosomal microsatellites from sequence database information. *Nucleic Acids Res.* 28(2), e8. - 2. Bosch E., Rosser ZH., Norby S., Lynnerup N., Jobling MA.: Y-chromosomal STR haplotypes in Inuit and Danish population samples.

Forensic Sci. Int. 2003, 132(3), 228-232. - 3. Dettlaff-Kąkol A., Pawłowski R.: Locus DYS439-polimorfizm w populacji polskiej. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2003, 53(3), 203-207. - 4. Grignani P., Peloso G., Fattorini P., Previdere C: Highly informative Y-chromosomal haplotypes by the addition of three new STRs DYS437, DYS438 and DYS439. *Int. J. Legal. Med.* 2000, 114(1-2), 125-9. - 5. Gusmao L., Krawczak M., Sanchez-Diz P., Alves C., Lopes A., Beleza S., Carracedo A., Amorim A.: Bimodal allele frequency distribution at Y-STR loci DYS392 and DYS438: no evidence for a deviation from the stepwise mutation model. *Int. J. Legal Med.* 2003, 117(5), 287-90. - 6. Gusmao L., Sanchez-Diz P., Alves C., Quintans B., Garcia-Poveda E., Geada H., Raimondi E., Silva de la Fuente S.M., Vide M.C., Whittle M.R., Zarrabeitia M.T., Carvalho M., Negreiros V., Prieto Solla L., Riancho J.A., Campos-Sanchez R., Vieira-Silva C., Toscanini U., Amorim A., Carracedo A.: GEP-ISFG. Results of the GEP-ISFG collaborative study on the Y chromosome STRs GATA A10, GATA C4, GATA H4, DYS437, DYS438, DYS439, DYS460 and DYS461: population data. *Forensic Sci. Int.* 2003; 135(2), 150-7. - 7. Nei M.: Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1973, 70, 3321-3323. - 8. Pascali V.L., Dobosz M., Brinkmann B.: Coordinating Y-chromosomal STR research for the Courts. *Int. J. Legal Med.* 1999, 112(1), 1. - 9. Pawłowski R., Branicki W., Kupiec T.: Y-chromosomal polymorphic loci DYS19, DYS390, DYS393 in a population sample from northern Poland. *Electrophoresis* 1999, 20, 1702-1706; - 10. Pawłowski R., Dettlaff-Kąkol A.: Population data of nine Y-chromosomal STR loci in northern Poland. *Forensic Sci. Int.* 2003, 131(2-3), 209-13.

11. Płoski R., Woźniak M., Pawłowski R., Monies D.M., Branicki W., Kupiec T., Kloosterman A., Dobosz T., Bosch E., Nowak M., Lessig R., Jobling M.A., Roewer L., Kayser M.: Homogeneity and distinctiveness of Polish paternal lineages revealed by Y chromosome microsatellite haplotype analysis. *Hum Genet.* 2002, 110(6), 592-600. - 12. Sanchez-Diz P., Gusmao L., Beleza S., Benitez-Paez A., Castro A., Garcia O., Solla LP., Geada H., Martin P., Martinez-Jarreta B., de Fatima Pinheiro M., Raimondi E., Silva de la Fuente S.M., Vide M.C., Whittle M.R., Zarrabeitia M.T., Carracedo A., Amorim A.: GEP-ISFG: Results of the GEP-ISFG collaborative study on two Y-STRs tetraplexes: GEPY I (DYS461, GATA C4, DYS437 and DYS438) and GEPY II (DYS460, GATA A10, GATA H4 and DYS439). *Forensic Sci. Int.* 2003; 135(2), 158-62. - 13. White P.S., Tatum O.L., Deaven L.L., Longmire J.L.: New, male-specific microsatellite markers from the human Y chromosome. *Genomics* 1999, 57, 433-437.

Adres pierwszego autora:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM
ul. Dębinki 7
80-210 Gdańsk