

Case Report

REJECTING PATERNITY WITH X STR ANALYSIS: A CASE REPORT

X STR analizi ile babalığı reddedilen bir olgu

Ramazan Emre^{1*}, Kemal Murat Cantürk¹, Bünyamin Başpınar¹, Muhammed Doğan², İlhami Kömür¹
Ömer Müslümanoğlu¹

¹ Adli Tıp Kurumu Başkanlığı, İstanbul, Türkiye

² Adli Tıp Kurumu Trabzon Grup Başkanlığı, Trabzon, Türkiye

ABSTRACT

Objective: In this study, we reported two biological brothers whose paternity cannot be excluded based on 21 STR loci without including mother. Though mother adjoined to the test; furthermore paternity of one father candidate was rejected with X STR analysis.

Results: Two father candidate brothers, mother and the child (girl) were firstly analyzed by a commercial kit which includes 15 STR loci. While between child and father candidate 1 was determined a single incompatibility at D21S11 loci. The father candidate 2 was determined full compatibility in all loci. Furthermore, although tested by the usage of a commercial kit which covers 5 different STR loci and another one covering an additional locus, between child and father candidate 1 was determined a single incompatibility at D21S11 loci again. Then X STR analysis was performed to two father candidate brothers, mother and the child. According to the results of X STR analysis; paternity of father candidate 1 was rejected on DXS10135, DXS10146, DXS10148, DXS7423 and DXS8378 loci. The father candidate 2 was detected as the biologic father with the 99,99999999% probability and the paternity index was calculated as 471.740.740.363,371.

Conclusion: As seen, in paternity cases where individuals are brothers, it may not be enough to determine the biological father studying with a single kit. Thus, in such cases, it may be necessary to evaluate mother, father and child together and more than one STR kits must be used.

Keywords: Paternity; Forensic Genetics; X STR

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, eğer anne dahil edilmezse iki biyolojik baba için babalık testi yapıldığında 21 STR bölgesi ile yapılan değerlendirmede baba ayırımının yapılamayacağını bildirmekteyiz. Anne çalışmaya dahil edildiği zaman bile, ancak X STR analizi yapılarak bir baba adayının babalığının dışlanması mümkün olabilmektedir.

Bulgular: Öncelikle baba adayı olan iki kardeş, anne ve çocuk 15 STR bölgesi içeren bir ticari kit ile analiz edildi. Çocuk ve 1. baba adayı arasında D21S11 bölgesinde eşleşme tespit edildi. Bu kit 2. baba adayı ile çocuk arasında tan bir eşleşme gösterdi. 6 ilave bölge içeren iki farklı kitin daha kullanılmasıyla 1. baba adayı ile çocuk arasındaki D21S11 bölgesindeki eşleşme tekrar gösterildi. Sonrasında iki baba adayı ile anne ve çocuk X STR bölgeleri kullanılarak karşılaştırıldı. X STR analizi sayesinde DXS10135, DXS10146, DXS10148, DXS7423 ve DXS8378 bölgelerinde 1. baba adayının babalığı reddedildi. Aynı kit ile 2. baba adayı % 99,99999999 olasılıkla ve 471.740.740.363,371 paternite indeksiyle biyolojik baba olarak belirlendi.

Sonuç: Görüldüğü gibi, babalık tayininde erkek kardeşlerin karşılaştırıldığı durumlarda sadece bir kit kullanarak biyolojik babanın belirlenmesi mümkün olmayabilmektedir. Bu gibi durumlarda anne, baba adayı ve çocuğun birlikte değerlendirilmesi ve birden fazla kit kullanılması gerekebilmektedir.

GİRİŞ

Babalık testlerinde Kısa Ardışık Tekrar (STR) analizi uzun bir süredir kullanılmaktadır. STR analizi Identifiler ve PowerPlex 16 gibi STR kitler kullanılarak yapılmaktadır (1-3). Kullanılan STR kitleri çok yüksek Rastgele Eşleşme Olasılığı (RMP) değerlerini sağlamalarına rağmen bazı durumlarda yetersiz kalabilmektedir. Bu durumlardan ilki; ebeveynlerden sadece birinin mevcut olduğu vakalardır. Bu vakalarda çalışılan 15 STR bölgesi

bazen baba adayını veya anne adayını dışlamak için yeterli veri sağlayamayabilir (4). Bir diğer durum ise baba ve/veya anne adayının birbirleriyle yakın akraba

***Correspondence:** Ramazan Emre, Çobançeşme Mahallesi, Kımız Sokak, Adli Tıp Kurumu, Yenibosna 34196 Bahçelievler / İstanbul / TÜRKİYE
Telefon: +90 212 454 15 00
E-mail: dremramazan@yahoo.com

	Baba 1	Baba 2	Anne	Çocuk
AM	XY	XY	XX	XX
THO1	6-9.3	6-9.3	6-9.3	6-9.3
D3S1358	15-15	15-17	15-16	15-15
vWA	17-17	17-17	14-15	14-17
D21S11	31.2-32.2	28-32.2	31.2-32.2	28-32.2
D16S539	12-12	11-12	12-13	12-12
D1S1656	11-13	11-11	16-18.3	11-16
D19S433	13-13	13-13	15-16.2	13-16.2
D8S1179	12-13	13-13	11-12	11-13
D2S1338	22-26	22-26	17-19	19-26
D10S1248	15-17	15-17	12-13	12-17
D22S1045	11-14	11-14	15-15	11-15
D12S391	19.3-20	20-21	15-19	19-20
FGA	22-25	22-22	20-22	22-22
D2S441	10-14	11.3-14	10-11	10-14
D18S51	15-15	15-15	12-14	14-15
D7S820	11-12	8-12	9-9	9-12
CSF1PO	10-11	10-11	10-11	11-11
D13S317	11-12	11-12	8-13	12-13
TPOX	8-11	8-11	8-8	8-8
D5S818	11-11	11-11	12-12	11-12
SE33	28.2-29.2	28.2-29.2	17-20	17-28.2

Tablo 1. İki baba adayı, anne ve kız bebeğe ait Essplex, Identifiler, Globalfiler DNA profilleri

olduğu kardeş, teyze çocuğu, amca çocuğu, yeğen gibi vakalardır. Yakın akrabalarında şahıslar arasındaki ortak alel paylaşımı toplumdaki herhangi iki kişiye göre daha fazla olduğu için çalışılan tek STR kiti ile baba

ve/veya anne tespit edilemeyebilir (5-7). Bu sıkıntıları aşmak ve sonuçların güvenilirliğini arttırmak için en iyi yol; çalışılan STR bölgesi sayısının artırılmasıdır (1). Ancak bazı vakalarda birden fazla STR kiti

	Baba 1	Baba 2	Anne	Çocuk
AM	XY	XY	XX	XX
DXS10074	17	17	8-17	17-17
DXS10079	20	20	17-20	20-20
DXS10101	33	33	28-30.2	30.2-33
DXS10103	19	19	16-20	19-20
DXS10134	36	36	35-38.3	36-38.3
DXS10135	25	33	22-30	30-33
DXS10146	25	26	28-43.2	26-43.2
DXS10148	23.1	26.1	24.1-25.1	24.1-26.1
DXS7132	12	12	14-15	12-14
DXS7423	15	13	14-15	13-14
DXS8378	12	11	10-10	10-11

Tablo 2. İki baba adayı, kız bebek ve anneye ait X STR DNA profilleri

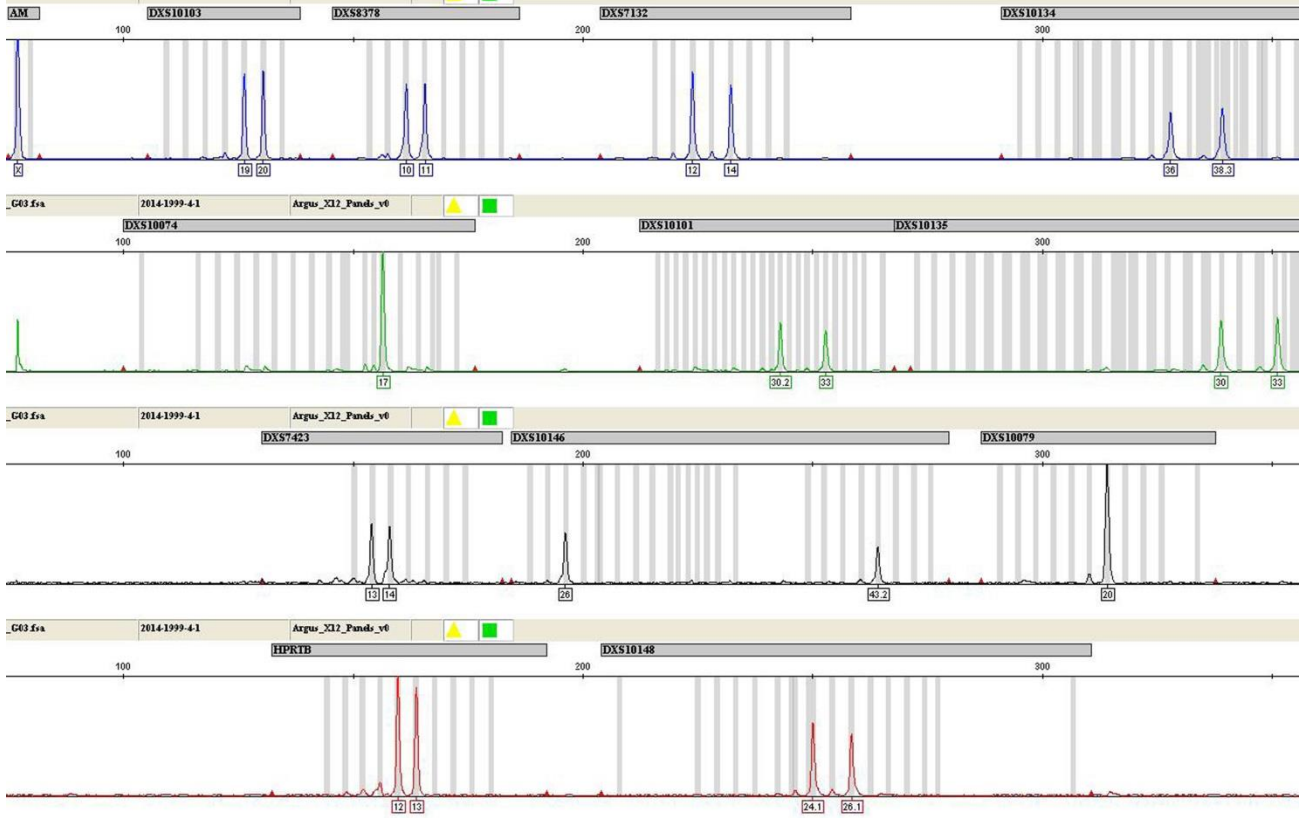
kullanılarak STR lokus sayısının artırılması ile de problem çözülemeyebilir. Olgumuzda babalık testlerinde kullanılan otozomal STR analizleriyle babalık reddedilemeyince gonozomal X STR analizi

yapılarak baba adaylarından birinin babalığı reddedildi.

OLGU SUNUMU

Babalık testi istenen ve kardeş olan iki baba adayı ile anne ve çocuk çalışmaya dahil edildi. Alınan kan örnekleri Adli Tıp Kurumu Biyoloji İhtisas Dairesinde çalışıldı. Örneklerin DNA izolasyonu kolon filtrasyon tekniğini kullanan biorobot universal otomatik DNA izolasyon robotu (Qiagen) kullanılarak yapıldı. Örnekler için DNA miktar tayini için insan DNA'sına spesifik Quantifiler Duo PCR Reaksiyon kiti

kullanılarak 7500 Real Time PCR cihazı (Applied Biosystems) ile yapıldı. Miktar tayini yapılan örnekler Identifiler STR (Applied Biosystems), AmpFI investigator ESSplex (Qiagen) ve Globalfiler (Applied Biosystems) kiti ve Argus X12 (Qiagen) kiti kullanılarak amplifiye edildi. Ardından ABI 3130 genetic analyser (Applied Biosystems) kullanılarak analizi ve GeneMapper v3.5 programı kullanılarak veri analizi yapıldı.



Şekil 1. Çocuğa ait X STR profilleri

TARTIŞMA

Ess-plex, Identifiler ve Globalfiler kitlerine ait analiz sonuçları Tablo 1' de görülmektedir. Tablo 1 incelendiğinde 21 farklı STR lokusu ile yapılan analizlerde 1 nolu baba adayı ile çocuk arasında sadece D21S11 lokusunda uyumsuzluk tespit edildi. 2 nolu baba adayının çocuk ile tüm STR lokuslarının uyumlu olduğu görüldü. Laboratuvarımızda babalığı ve/veya anneliği reddetmek için iki ve üzeri STR lokuslarında uyumsuzluk olması baz alınmaktadır. Bu nedenle 1 nolu baba adayının babalığı dışlanamamıştır. Bunun üzerine şahısların X STR analizi yapıldı (Tablo 2). X STR analizinde Tablo 2 'de görüldüğü gibi 1 nolu baba adayının DXS10135, DXS10146, DXS10148, DXS7423 ve DXS8378 bölgelerinde çocuk ile uyumsuzluk tespit edildi ve biyolojik babalığı reddedildi. 2 nolu baba adayının ise 21 STR bölgesine ek olarak X STR bölgesinde de çocuk ile uyumlu alel kalıtımı tespit edilmiştir (Şekil 1). Bu bölgeler itibarıyla babalık indeksi

471.740.740.363,371 ve baba olma ihtimali %99,999999999 olarak hesaplanmıştır.

Borsting ve ark. 2011 yılında yaptıkları çalışmada sadece baba ve çocuğun olduğu bir vakada 15 STR lokusunun analizinde baba adayının babalığı kabul edilmiştir. Daha sonra aynı şahıslara SNP analizi yapılmış ve önce babalığı kabul edilen baba adayının biyolojik babalığı reddedilmiştir (8). Bizim vakamızda SNP analizine ihtiyaç duyulmadan X STR analizi ile vaka aydınlatılmıştır. Borsting ve ark. vakasında olduğu gibi bizim vakamızda da anneye ulaşmak mümkün olmasaydı, üç kit çalışması ile iki baba adayının da çocuk için babalığı reddedilemeyecekti.

Ayrıca Gonzalez-Andrade ve ark. 2009 yılında iki baba adayı ile çocuğun bulunduğu vakada; 19 otozomal STR lokusu analiz edilmiş olmasına rağmen iki baba adayının da babalığı reddedilememiş ve babalığı netleştirmek için gonozomal Y-STR analizi yapılmıştır (9). Bizim çalışmamızda ise çocuk kız olduğu için Y-STR analizi problemi çözemeyecektir.

Bizim vakamızda X STR analizi babalığı netleştirmemizi sağlamıştır.

Wurmb-Schwark ve ark. 2005 yılında yaptığı çalışma da birbirleri ile yakın akraba olan bireylerin yer aldığı ikili babalık testlerindeki (annenin bulunmadığı) yanlış babalık verme olasılığını araştırmışlardır. İdentifiler kit ile 164 kişinin dâhil olduğu çalışmada 93 çocuk hem kendi babalarıyla (biyolojik babalarıyla) çaprazlanmış hem de amcasıyla/amcalarıyla olası baba/çocuk ilişkisi açısından çaprazlanmışlardır. 125 çaprazlamanın (biyolojik baba/çocuk çaprazlamaları hariç) 5'inde amca/çocuk arasında alel aktarımı yönünden uyumlu olduğu görülmüş (6). Wurmb-Schwark ve ark. yakın akrabaların olduğu babalık testlerinde annenin de çalışılması gerektiği, babalık/annelik tayinin netleştirilmesi için ek markırlarla da yapılan çalışmaların desteklenmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Vakamızda anne dâhil edilmeseydi 3 STR kiti ile iki baba adayının da babalıkları reddedilemeyecekti. Babalık tayini analizi yapılan kişiler yakın akraba ise; akraba olan iki şahıs arasındaki ortak alel paylaşımı toplumdaki herhangi iki kişiye göre daha fazla olduğu için, bu tip vakaları değerlendirirken daha dikkatli olunmalıdır.

Doğan ve ark. 2014 yılında yaptıkları çalışmada kardeş iki baba adayı, anne ve çocuğun İdentifiler kit ile yapılan çalışmasında; iki baba adayının babalığı dışlanamayınca beş farklı STR lokusu içeren ESSplex kit ile yapılan analiz sonucunda D12S391 ve D1S1656 lokuslarında amcaı reddedebilmişlerdir (10). Bizim vakamızda üç ayrı STR kiti ile annenin varlığında bile babalık netleştirilemedi. Ancak gonozomal X STR analizi ile biyolojik baba tespit edildi.

Sonuç olarak, yakın akrabalar arasındaki babalık testlerinde yanlış pozitif sonuçlar vermemek için; baba, anne ve çocuğun üçü de çalışmaya dahil edilmelidir. Babalık tayini için çalışılan polimorfik otozomal STR lokusların sayısı artırılmalı ve gerektiğinde gonozomal X STR ve Y STR analizleri yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Thomsen AR., Hallenberg C, Simonsen BT, Langkjær RB, Morling N. A report of the 2002–2008 paternity testing workshops of the English speaking working group of the International Society for Forensic Genetics. *Forensic Science International: Genetics*, 2009; 3.4: 214-221.
2. Butler JM. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing, *Biotechniques*, 2007; 43 October (4): 2–5 (review).
3. Butler JM. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing, *J. Forensic Sci*, 2006 51 March (2): 253–265.
4. Poetsch M, Lüdcke C, Repenning A, Fischer L, Mályusz V, Simeoni, E. et al. The problem of single parent/child paternity analysis—practical results involving 336 children and 348 unrelated

men. *Forensic science international*, 2006, 159.2: 98-103.

5. Fung WK, Wong DM, Hu YQ. Full siblings impersonating parent/child prove most difficult to discredit with DNA profiling alone. *Transfusion*, 2004; 44(10): 1513-1515.
6. von Wurmb-Schwark N, Mályusz V, Simeoni E, Lignitz E, Poetsch M. Possible pitfalls in motherless paternity analysis with related putative fathers. *Forensic science international*, 2006; 159.2: 92-97.
7. Phillips C, Fondevila M, García-Magariños M, Rodríguez A, Salas A, Carracedo, et. al. Resolving relationship tests that show ambiguous STR results using autosomal SNPs as supplementary markers. *Forensic Science International: Genetics*, 2008; 2. 3: 198-204.
8. Børsting C, Morling N. Mutations and/or close relatives? Six case work examples where 49 autosomal SNPs were used as supplementary markers. *Forensic Science International: Genetics*, 2011; 5.3: 236-241.
9. González-Andrade, Sánchez D, Penacino G, Martínez Jarreta BM. Two fathers for the same child: a deficient paternity case of false inclusion with autosomic STRs. *Forensic Science International: Genetics*, 2009, 3.2: 138-140.
10. Dogan M, Kara U, Emre R, Fung WK, Canturk KM. Two brothers' alleged paternity for a child: who is the father?. *Mol Biol Rep* 2014; Nov 22. [Epub ahead of print]