

**Jerzy Janica¹, Witold Pepiński¹, Anna Niemcunowicz-Janica¹, Małgorzata Skawrońska¹,
Ireneusz Softyszewski², Jarosław Berent³**

Polimorfizm loci Y-STR wśród ludności Polski północno-wschodniej w aspektach zróżnicowania etnicznego i przydatności w badaniach medyczno-sądowych

Ethnic variation and forensic usefulness of Y-STR loci in inhabitants of northeastern Poland

¹ Z Zakładu Medycyny Sądowej UM w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. J. Janica

² Z Zakładu Kryminalistyki i Medycyny Sądowej UW-M w Olsztynie

Kierownik: prof. dr hab. B. Młodziejowski

³ Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UM w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. J. Berent

Celem pracy było obliczenie wskaźników biostatystycznych i parametrów przydatności w ekspertyzie medyczno-sądowej oraz wzbogacenie wiedzy o strukturze genetycznej populacji w aspekcie tła historycznego i składu etnicznego. Polimorfizm loci Y-STR oznaczano w próbkach populacyjnych obejmujących ogółem 718 mężczyzn narodowości polskiej, mniejszości narodowych białoruskiej i litewskiej, mniejszości etnicznej Tatarów Polskich i mniejszości religijnej Starowierców. Analiza loci Y-STR przy użyciu metod statystycznych wskazuje na ich przydatności w charakteryzowaniu społeczności i grup etnicznych w Polsce północno-wschodniej. Różnice rozkładów częstości haplotypów w populacji Polski północno-wschodniej powinny być brane pod uwagę w ocenie prawdopodobieństwa zgodności profili genetycznych na potrzeby ekspertyz medyczno-sądowych.

The objective of the investigation was the calculation of biostatistical indices and parameters of medicolegal usefulness and extension of the knowledge on the genetic structure of the population in view of its historical background and ethnic composition. Polymorphism of Y-STR loci was determined in population samples including the total of 718 males of Polish nationality and belonging to the minorities of Byelorussians, Lithuanians, Polish Tatars and the religious

minority of the Old Believers. Statistical analysis of genetic polymorphisms indicated their usefulness in characterizing populations and ethnic groups. The variations in haplotype distribution in northeastern Polish populations should be taken into consideration while evaluating probability of genetic profile matching in medicolegal expert opinions.

Słowa kluczowe: loci Y-STR, medycyna sądowa, dane populacyjne, Polska północno-wschodnia
Key words: Y-STR loci, forensic medicine, population data, northeastern Poland

WSTĘP

Wschodnia część obszaru wchodzącego obecnie w skład województwa podlaskiego została włączona do państwa polskiego dopiero w XX wieku. Obecnie region, w którym spotykają się trzy religie stanowiące trzy kultury: katolicyzm, prawosławie i islam, charakteryzuje się największym w kraju zróżnicowaniem struktury narodowościowej i wysokim odsetkiem mniejszości narodowych i etnicznych kultywujących swoje tradycje [1, 2]. Jak wynika z raportu Narodowego Spisu Powszechnego Ludności i Mieszkań,

przeprowadzonego w 2002 roku, województwo podlaskie zamieszkiwało ponad 1,2 mln ludności, z których 4,6% deklarowało pochodzenie inne niż polskie. Liczne badania wykazały, że analizy markerów polimorficznych u osób należących do różnych grup etnicznych mają istotne znaczenie w kontekście różnicowania międzypopulacyjnego. Dotychczasowe prace dotyczące genetyki populacyjnej dotyczyły zazwyczaj wybranych regionów kraju lub traktowały populację polską jako integralną jednostkę wskazując na znaczną homogenność pod względem rozkładu częstości cech i haplotypów.

Przydatnym narzędziem stosowanym od kilku lat w genetyce sądowej są polimorficzne loci zlokalizowane na chromosomie Y. Chromosom ten dziedziczy się wyłącznie w linii męskiej. Skuteczność loci Y-STR została wykazana dla specjalnych aplikacji, takich jak np. badanie spornego ojcostwa u potomstwa płci męskiej w przypadku zmarłego ojca. Analiza układów Y-STR ma duże znaczenie w przypadku śladów, które zawierają mieszaninę DNA kilku osób. Loci Y-STR są stosowane do selektywnego identyfikowania DNA mężczyzn, zwłaszcza w wymazach z dróg rodnych zawierających mieszaniny DNA kobiety i mężczyzny, a szczególnie w przypadkach gwałtów zbiorowych (określenie liczby podejrzanych, których DNA znajduje się w mieszaninie).

Celem pracy było obliczenie dla badanych systemów populacyjnych wskaźników biostatystycznych, parametrów przydatności w ekspertyzie medyczo-sądowej oraz wzbogacenie wiedzy na temat struktury genetycznej ludności, zamieszkującej obszar Polski północno-wschodniej, w aspekcie tła historycznego i składu etnicznego.

MATERIAŁ I METODY

Polimorfizm loci STR autosomalnych i zlokalizowanych na chromosomie Y oceniano w próbkach populacyjnych obejmujących ogółem 718 mężczyzn, w tym: narodowości polskiej (n=186), mniejszości narodowych białoruskiej (n=156) i litewskiej (n=124), mniejszości etnicznej Tatarów Polskich (n=125) i mniejszości religijnej Starowierców (n=127). Kryteria klasyfikacji osób do danej grupy etnicznej obejmowały pisownię nazwiska rodowego oraz wywiad indywidualny zakończony ustną deklaracją przynależności. DNA izolowano metodą z cheleksem-100 i proteinazą K z próbek krwi obwodowej lub wymazów nabłonka jamy ustnej. DNA amplifikowano przy użyciu zestawów badawczych Powerplex Y (Promega) oraz DysPlex I, DysPlex II (Biotype AG) zgodnie z instrukcjami producentów. Oznaczany zakres loci Y-STR obejmuje tzw. „minimalny haplotyp” zalecany przez SWGDAM oraz dodatkowo systemy DYS 437, DYS 438, DYS 439.

Dla wszystkich loci stosowano nomenklaturę według Kaysera i wsp. oraz zaleceń Komisji DNA przy ISFG [3]. Wskaźniki różnicowania genowego/haplotypowego, odpowiadające sile dyskryminacji, obliczano ze wzoru $GD=1-\sum p_i^2$, gdzie p_i odpowiada częstości kolejnego haplotypu lub allele. Wskaźnik dyskryminacji haplotypowej obliczano jako $DC=H/N$, gdzie H jest sumą różnych haplotypów, zaś N jest liczebnością próbki populacyjnej. Analizę wariacji molekularnej (AMOVA) przeprowadzono według Roewera i wsp. [4] stosując test Monte-Carlo zawarty w oprogramowaniu Arlequin v.2.000. Macierz standardowych odległości genetycznych [5] uzyskano przy pomocy programu Neighbor z pakietu Phylip v.3.63 (<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>). Filogram został zrekonstruowany stosując algorytmy UPGMA [6] oraz neighbor-joining [4] wykorzystując program Drawtree z pakietu Phylip v.3.63 oraz program TreeView v.0.5.0 (<http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/treeview.html>).

WYNIKI I OMÓWIENIE

W próbie populacji polskiej liczącej 186 niespokrewnionych mężczyzn narodowości polskiej, obserwowano 168 różnych kombinacji w zakresie minimalnego haplotypu. Łączna wartość wskaźnika GD dla minimalnego haplotypu wyniosła 0,9836 przy $DC=0,9032$. Po uwzględnieniu rozszerzonego haplotypu, obejmującego trzy dodatkowe loci, obserwowano wzrost wartości GD o 2,07% do 0,9973 w następującym porządku: DYS437 (0,46%), DYS438 (0,70%) i DYS439 (0,90%), zaś całkowita liczba różnych haplotypów wzrosła do 181. W próbie populacyjnej białoruskiej mniejszości narodowej liczącej 156 niespokrewnionych mężczyzn, obserwowano 134 różne kombinacje w zakresie minimalnego haplotypu. Łączna wartość wskaźnika GD wyniosła 0,9754 przy $DC=0,8590$. W próbie populacyjnej litewskiej mniejszości narodowej liczącej 124 niespokrewnionych mężczyzn, obserwowano 110 różnych kombinacji minimalnego haplotypu. Łączna wartość wskaźnika GD wyniosła 0,9750 przy $DC=0,8871$. Po uwzględnieniu haplotypu rozszerzonego, obejmującego trzy dodatkowe loci, obserwowano wzrost wartości GD o 2,07% (do 0,9952) w następującym porządku: DYS439 (0,73%), DYS438 (1,07%) i DYS437 (1,38%), zaś całkowita liczba różnych haplotypów wzrosła do 121. W próbie populacyjnej mniejszości etnicznej Tatarów Polskich liczącej 125 niespokrewnionych mężczyzn, obserwowano 101 różnych kombinacji minimalnego haplotypu. Łączna wartość wskaźnika GD wyniosła 0,9638 przy $DC=0,8080$. W próbie populacyjnej mniejszości religijnej Starowierców liczącej 127 niespokrewnionych mężczyzn, obser-

wowano 100 kombinacji minimalnego haplotypu. Łączna wartość wskaźnika GD wyniosła 0,9638 przy $DC=0,7874$. Na podstawie porównań rozkładów częstości haplotypów Y-STR między grupami etnicznymi zamieszkującymi obszar Polski północno-wschodniej wykazano statystycznie istotne różnice w wartościach F_{ST} , co wskazuje na występowanie zróżnicowania genetycznego (tabela I). Szczególnego znaczenia omawianym wynikom dodaje fakt, że istotna część tego zróżnicowania (3,54%) jest skutkiem zróżnicowania międzypopulacyjnego (tabela II). W sumie oznaczono 613 różnych haplotypów. Wykazano znaczną liczbę haplotypów specyficznych przy niskim poziomie częstości haplotypów wspólnych dla poszczególnych populacji. Biorąc pod uwagę 20 najczęstszych haplotypów w poszczególnych populacjach, liczba wspólnych haplotypów dla par populacji wynosiła od 1 do 11 (rycina 1). Na podkreślenie zasługuje fakt, że minimalny haplotyp posiada znaczną siłę dyskryminacji wśród mężczyzn należących do populacji polskiej, mniejszości białoruskiej i litewskiej, jak również odmiennych kulturowo Tatarów Polskich i Starowierców. Podczas analizy filogramu UPGMA

(rycina 2) zwraca uwagę niewielka odległość między populacją mniejszości litewskiej i populacją Tatarów Polskich oraz znaczne oddalenie populacji Starowierców zajmującej miejsce na oddzielnej gałęzi, co prawdopodobnie jest konsekwencją ich odmiennej historii, przynależności religijnej i zakorzenionych norm społecznych. Otrzymane dane są zgodne z ideą pokrewieństwa genetycznego między Białorusinami, Litwinami i Polakami wskutek wspólnego pochodzenia słowiańskiego i kontaktów historyczno-politycznych. Na podstawie wyników analizy AMOVA nie stwierdzono różnic w rozkładach częstości haplotypów Y-STR między polską populacją Podlasia a populacjami narodowości polskiej innych regionów kraju ($-0,0036 < F_{ST} < 0,0018$ przy $0,2816 < p < 0,8487$) [7, 8, 9], natomiast istotne statystycznie różnice wykazano między badaną populacją a sąsiadującymi populacjami Litwy, Łotwy i Estonii (odpowiednio, $F_{ST}=0,0384, 0,0422$ i $0,0842$ przy $p=0,0004, 0,0000$ i $0,0000$) [10, 11]. Na podstawie analizy rozkładów częstości haplotypu obejmującego 18 loci Y-STR Rębała i wsp. [12] wykazali znaczne różnice między populacjami Polski i Białorusi, a także heterogenność wewnątrz populacji

Tabela I. Macierz standardowych odległości genetycznych pięciu populacji zamieszkujących region Polski północno-wschodniej.

Table I. Matrix of standard genetic distances among five populations inhabiting northeastern Poland.

	Polacy	Starowiercy	Białorusini	Tatarzy	Litwini
Polacy Poles	-	0,0000	0,0000	0,0180	0,0180
Starowiercy Old Believers	0,0698	-	0,0000	0,0000	0,0000
Białorusini Belorussians	0,0180	0,1150	-	0,0090	0,0000
Tatarzy Polish Tatars	0,0127	0,0486	0,0207	-	0,8198
Litwini Lithuanians	0,0162	0,0266	0,0276	0,0000	-

F_{ST} – poniżej przekątnej, P testu zróżnicowania – powyżej przekątnej

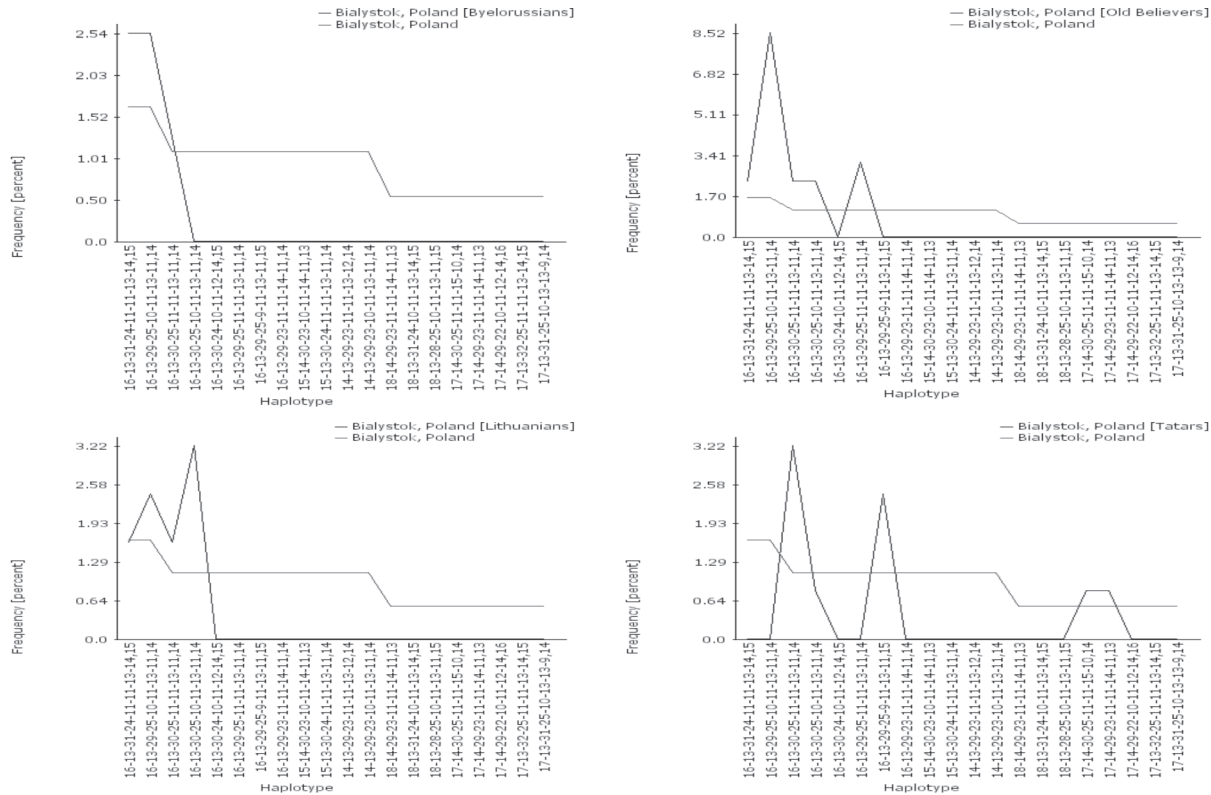
F_{ST} – below diagonal, P of variation test – above diagonal

Tabela II. Wyniki AMOVA dla pięciu populacji zamieszkujących region Polski północno-wschodniej.

Table II. AMOVA results for five populations inhabiting northeastern Poland.

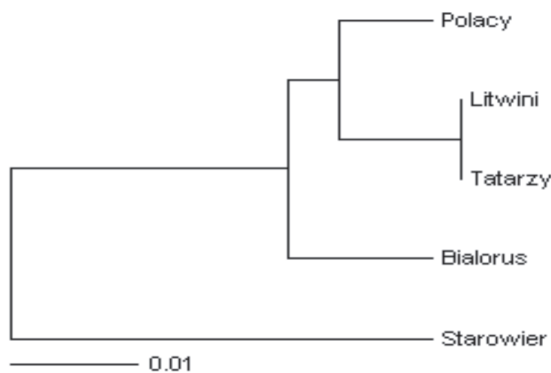
źródło zróżnicowania source of variation	st.sw. d.f.	suma kwadratów sum of squares	składowe wariancji variance components	% zróżnicowania % of variation
między populacjami among populations	4	114,642	0,18952 Va	3,54
wewnątrz populacji within populations	718	3173,242	5,15974 Vb	96,46
całkowite total	722	3287,884	5,34927	

Ryc. 1. Porównanie występowania 20 najczęstszych haplotypów w parach populacji.
Fig. 1. Pairwise comparisons of the 20 most frequent haplotypes.



Ryc. 2. Filogram UPGMA wykreślony na podstawie macierzy odległości F_{ST} pięciu populacjach zamieszkujących region Polski północno-wschodniej.

Fig. 2. The UPGMA tree based on F_{ST} matrix among five populations inhabiting northeastern Poland.



białoruskiej spowodowaną różnicami między subpopulacjami północy i centrum kraju. Autorzy ci zauważają, że pomimo zbliżenia geograficznego populacja Polski wykazuje różnice genetyczne z sąsiadującymi populacjami pochodzenia słowiańskiego. Uzyskane wyniki dowodzą istnienia istotnych statystycznie różnic w obrębie struktury genetycznej populacji Polski północno-wschodniej i wnoszą element poznawczy

mogący służyć lepszemu wykorzystaniu baz danych częstości polimorficznych cech genetycznych w badaniach medyczno-sądowych i genetyce populacji.

WNIOSKI

1. Opracowano bazę danych częstości haplotypów Y-STR dla populacji Polski północno-wschodniej.
2. Analiza poszczególnych markerów przy użyciu metod statystycznych wskazuje na ich przydatności w charakteryzowaniu społeczności i grup etnicznych w Polsce północno-wschodniej.
3. Różnice rozkładów częstości cech genetycznych, stwierdzone w obrębie populacji Polski północno-wschodniej, powinny być brane pod uwagę w ocenie prawdopodobieństwa zgodności profili genetycznych na potrzeby ekspertyz medyczno-sądowych

PIŚMIENICTWO

1. Nijakowski L. M., Łodziński S., (red.): Mniejszości narodowe i religijne w Polsce. Informator. Wydawnictwo Sejmowe, Warszawa 2003.

2. Sadowski A.: Mieszkańcy północno-wschodniej Polski. Skład wyznaniowy i narodowościowy [w:] Kurcz Z. (red.): Mniejszości narodowe w Polsce, Wrocław 1997, s. 7-42.
3. Gusmão L., Butler J. M., Carracedo A., Gill P., Kayser M., Mayr W. R., et al.: DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): an update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *Forensic Sci. Int.* 2006, 157, 187-197.
4. Roewer L., Kayser M., Dieltjes P., Nagy M., Bakker E., Krawczak M., de Knijff P.: Analysis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome-specific microsatellites in two closely related human populations. *Hum Mol Genet* 1996; 7: 1029-33. Erratum in: *Hum. Mol. Genet.*, 1997, 6, 828.
5. Saitou N., Nei M.: The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 1987, 4, 406-425.
6. Cavalli-Sforza L. L., Menozzi P., Piazza A.: The history and geography of human genes. Princeton University Press, Princeton New Jersey, USA 1994.
7. Y-STR Haplotype Reference Database, <http://www.yhrd.org/>.
8. Pawlowski R., Dettlaff-Kakol A.: Population data of nine Y-chromosomal STR loci in northern Poland. *Forensic Sci. Int.*, 2003, 131, 209-213.
9. Płoski R., Wozniak M., Pawlowski R., Monies D. M., Branicki W., Kupiec T., et al.: Homogeneity and distinctiveness of Polish paternal lineages revealed by Y chromosome microsatellite haplotype analysis. *Hum. Genet.*, 2002, 110, 592-600.
10. Lessig R., Edelmann J.: Population data of Y-chromosomal STRs in Lithuanian, Latvian and Estonian males. *Forensic. Sci. Int.*, 2001, 120, 223-225.
11. Lessig R., Edelmann J., Krawczak M.: Population genetics of Y-chromosomal microsatellites in Baltic males. *Forensic. Sci. Int.*, 2001, 118, 153-157.
12. Rebała K., Mikulich A. I., Tsybovsky I. S., Sivakova D., Dzapinkova Z., Szczerkowska-Dobosz A., Szczerkowska Z.: Y-STR variation among Slavs: evidence for the Slavic homeland in the middle Dnieper basin. *J. Hum. Genet.*, 2007, 52, 406-414.

Adres autorów:

Zakład Medycyny Sądowej AMB

ul. Waszyngtona 13, 15-269 Białystok

E-mail: pepinski@amb.edu.pl (W. Pepinski)