



Praca kazuistyczna
Case reports

Rafał Skowronek

Wykorzystanie klinicznych badań molekularno-genetycznych w opiniowaniu sadowo-lekarskim*

The use of clinical molecular and genetic tests in forensic medical opinions

Katedra i Zakład Medycyny Sadowej i Toksykologii Sadowo-Lekarskiej oraz
Katedra i Zakład Patomorfologii i Diagnostyki Molekularnej

Wydział Nauk Medycznych w Katowicach,
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Streszczenie

Biologia molekularna i genetyka dysponują możliwościami diagnostyki wielu schorzeń, których obecność lub nieobecność ma istotne znaczenie w różnych obszarach opiniowania sadowo-lekarskiego. Celem pracy jest zaprezentowanie przykładów możliwego zastosowania tego rodzaju badań w medycynie sadowej. Spośród opinii opracowanych w Zakładzie Medycyny Sadowej w Katowicach wybrano trzy, z których dwie dotyczyły wniosków posekcyjnych odnoszących się do przyczyny zgonu, natomiast w jednym przypadku – opinii na podstawie akt sprawy mającej związek z podejrzeniem zespołu dziecka maltretowanego. We wszystkich tych przypadkach wyniki przeprowadzonych badań molekularno-genetycznych były ujemne, co zostało uwzględnione przez biegłych podczas formułowania ostatecznych wniosków. Zastosowanie klinicznych badań molekularno-genetycznych w medycynie sadowej jest możliwe i zawsze wnosi istotne informacje rozszerzające możliwości opiniodawcze i ułatwiające postawienie rozpoznania. Obszarami, w których tego rodzaju badania mogą być szczególnie przydatne, są: diagnostyka podłoża powikłań zakrzepowo-zatorowych, nowoczesna zintegrowana diagnostyka morfologiczno-molekularna nowotworów oraz diagnostyka defektów genetycznych tkanki łącznej u dzieci podejrzanych o zespół dziecka maltretowanego.

Słowa kluczowe: przyczyna zgonu; genetyka kliniczna; genetyka sadowa; diagnostyka laboratoryjna; zespół dziecka maltretowanego

* Praca była prezentowana w formie wystąpienia ustnego podczas XVIII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Medycyny Sadowej i Kryminologii „Medycyna sadowa i diagnostyka – wspólnota celów, synergia efektów”, Lublin 18-20.09.2019 r.

Abstract

Modern molecular biology and clinical genetics have the ability to diagnose many diseases, the presence or absence of which is important in various areas of forensic medical opinion. The aim of the study is to present examples of possible non-standard application of clinical molecular-genetic tests in forensic medicine. From among all the opinions prepared so far at the Department of Forensic Medicine in Katowice, three were selected two of which concerned post-autopsy conclusions relating to the cause of death, and in one case – opinion based on the files of a case related to the suspicion of a maltreated child syndrome in an infant. In all these cases, the results of the molecular and genetic tests were negative, which was taken into account by the experts when formulating the final conclusions of the opinion. The use of clinical molecular and genetic tests in forensic medicine is possible and always brings important additional information that broadens the possibilities of opinion-making and facilitates diagnosis. The areas in which this type of research may be particularly useful are: diagnostics of the basis of thromboembolic complications, modern integrated morphological and molecular diagnostics of neoplasms and diagnostics of genetic defects of connective tissue in children suspected of having abused child syndrome.

Key words: cause of death; clinical genetics; forensic genetics; laboratory diagnostics; abused child syndrome

Wprowadzenie

Współczesna biologia molekularna i genetyka kliniczna dysponują możliwościami diagnostyki wielu schorzeń, których obecność lub nieobecność ma istotne znaczenie w różnych obszarach opiniowania sądowo-lekarskiego [1, 2]. Jednak w praktyce medycyna sądowa rzadko korzysta z tego typu badań.

Współczesna genetyka kliniczna obejmuje m.in.: diagnostykę prenatalną, poradnictwo genetyczne, diagnostykę chorób genetycznych lub wrodzonych wad rozwojowych [3].

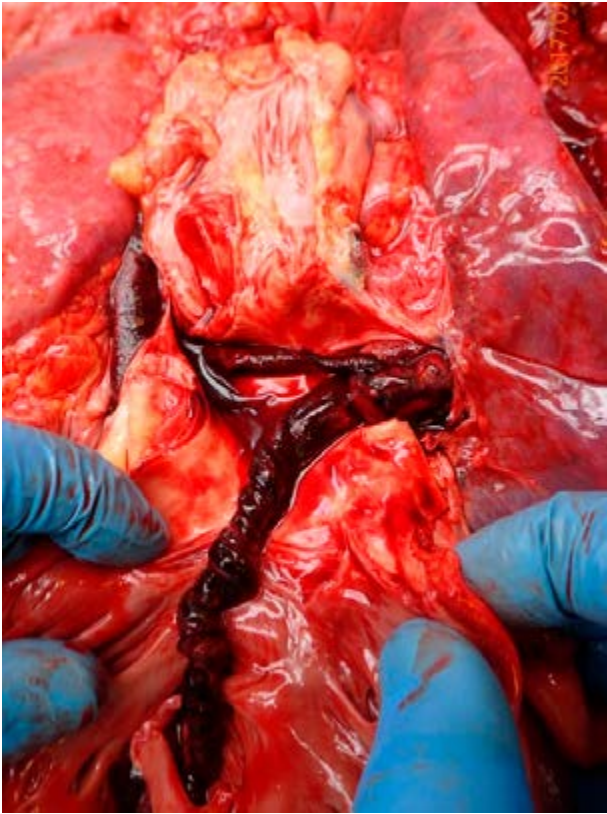
Celem niniejszej pracy jest zaprezentowanie przykładów możliwego zastosowania klinicznych badań molekularno-genetycznych w praktyce eksperckiej.

Spośród opinii opracowanych w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach wybrano trzy, z których dwie dotyczy-

ły wniosków posekcyjnych odnoszących się do przyczyny zgonu (podejrzenie błędu medycznego), natomiast w jednym przypadku – opinii na podstawie akt sprawy mającej związek z podejrzeniem zespołu dziecka maltretowanego. Akta spraw zostały udostępnione za zgodą właściwych prokuratur.

Opis przypadków

Pierwszy przypadek dotyczył weryfikacji obecności wrodzonych stanów nadkrzepliwości (trombofilii) u 27-letniej ciężarnej, która przeżyła operację wewnątrzmacicznego zamknięcia przepukliny oponowo-rdzeniowej u 25-tygodniowego płodu (operacja *in utero*). Sekcyjnie stwierdzono masywną zatorowość płucną (Ryc. 1). W dostępnej biegłym dokumentacji medycznej pacjentki brak było jednoznacznych danych pozwalających na powzięcie podejrzenia trombofilii. Mimo to zdecydowano się na wykonanie analiz.



Ryc. 1. Masywny zator płucny materiałem skrzeplinywnym typu „jeździec” u 27-letniej ciężarnej
Fig. 1. Massive pulmonary embolism with rider-type thrombus material in a 27-year-old pregnant woman

Placówką wykonującą badania była Pracownia Badań Molekularnych Szpitala Uniwersyteckiego. Zakres obejmował analizę polimorfizmów czynnika V Leiden i mutacji protrombiny 20210A. Badania zostały wykonane z zamrożonych wycinków narządowych. Uzyskano wyniki ujemne, tj. nie stwierdzono obecności wrodzonych stanów nadkrzepliwości. Prawdopodobnie istniał więc związek między przeprowadzonym rozległym zabiegiem chirurgicznym a wystąpieniem zakrzepicy powikłanej zatorom płucnym, czego nie można było przewidzieć.

Drugi przypadek dotyczył pośmiertnej diagnostyki charakteru procesu rozrostowego w obrębie głowy (dołu podskroniowego) u 18-letniej kobiety, który w krótkim czasie doprowadził do masywnego obrzęku mózgu i zatrzymania krążenia (Ryc. 2). Diagnostyka kliniczna nie została zakończona, dopiero pośmiertne badania morfologiczne pozwoliły na wysunięcie podejrzenia mięsaka Ewinga (EWS), dla

którego charakterystyczne są określone rearanżacje genów. Badania histopatologiczne wykazały obecność nacieków drobnokomórkowego nowotworu złośliwego o następującym profilu immunohistochemicznym: CD99 (+), LCA (-), NSE (-), synaptofizyna (-), CK (-), MyoD1 (-), Myogenin (-), CD117 (-), CD57 (-), CD68 (-), TDT (-), CD34 (-), S-100 (-), PLAP (-), Melan A (-), indeks proliferacyjny Ki67 był heterogenny, średnio 60%. Nie wykonano odczynu dla FLI-1, często stosowanego w diagnostyce EWS, ponieważ nie dysponowano odpowiednim przeciwciałem. Podsumowując, fenotyp komórek nowotworowych odpowiadał mięsakowi Ewinga, nie wykazano różnicowania mięśniowego, nerwowego, neuroendokrynnego, nabłonkowego, szpikowego i chłonnego.



Ryc. 2. Guz nowotworowy głowy naciekający destrukcyjnie podstawę czaszki po stronie lewej w obrębie dołu środkowego
Fig. 2. Neoplastic tumor of the head destructively infiltrating the base of the skull on the left side within the middle fossa

Mięsak Ewinga to niskodojrzały, agresywny nowotwór złośliwy zbudowany z małych okrągłych komórek, najczęściej lokalizujący się w trzonie lub przy nasadach kości [4]. Klinicznie mięsak ten objawia się jako bolesna, powiększająca się zmiana. Osiemdziesiąt procent pacjentów ma mniej niż 20 lat,

część z nich może mieć objawy ogólne sugerujące zakażenie. W badaniach obrazowych obserwuje się destrukcyjny guz, który nacieka otoczenie oraz przechodzi do otaczających tkanek miękkich. Leczenie obejmuje chirurgiczne wycięcie zmiany, z naświetlaniem lub bez, oraz chemioterapię [5, 6].

Celem badania genetycznego było wykonanie analiz w kierunku charakterystycznych dla EWS rearanżacji genów. Placówką wykonującą badania był Zakład Patologii Nowotworów Instytutu Onkologii, posiadający odpowiedni sprzęt i doświadczenie. Wykorzystano metodę FISH (ang. *fluorescent in situ hybridization*). Materiałem do analiz był wytypowany przez patomorfologa bloczek parafinowy zawierający wycinek z guza nowotworowego. W badanym materiale nie stwierdzono rearanżacji rejonu 22q12, zawierającego gen EWSR1. Nie stwierdzono również rearanżacji regionu 16p11.2, zawierającego gen FUS. Obserwowano jedynie monoalleliczną delecję regionu 16p11.2 zawierającego gen FUS.

Trzeci przypadek dotyczył podejrzenia zespołu dziecka maltretowanego, u którego sugerowano obecność genetycznie uwarunkowanych defektów kolagenu (linia obrony sprawczyń). U dziecka klinicznie rozpoznano m.in. przebyte liczne złamania kości ciemieniowej prawej, trzonu obojczyka lewego, kości ramiennej prawej na pograniczu trzonu i przynasady dalszej oraz żeber dziesiątego i jedenastego prawych w odcinkach tylnych. Ponadto stwierdzono krwiaki małżowin usznych, podbiegnięcia krwawe wokół oczodołu prawego, na policzkach, w okolicach żwaczowo-przyusznicznych, na brzuchu oraz w pachwinach. Mimo tego, że z klinicznego i medyczno-sądowego punktu widzenia nie było jednoznacznych podstaw do wysunięcia podejrzenia genetycznie uwarunkowanych chorób tkanki łącznej, to upór ze strony matki dziecka, będącej osobą o wykształceniu medycznym, skłonił organ procesowy do zlecenia dodatkowych badań w tym kierunku.

Celem badania genetycznego było więc wykluczenie zespołów Ehlersa-Danlosa i wrodzonej łamliwości kości (*osteogenesis imperfecta*, OI) [7]. Placówką wykonującą badania była Katedra Biologii Ogólnej, Molekularnej i Genetyki Uniwersytetu Medycznego, specjalizująca się w diagnostyce defektów genetycznych tkanki łącznej. Zakres prac obejmował sekwencjonowanie genów kolagenów *COL1A1*

i *COL1A2* – badania nie potwierdziły obecności ww. schorzeń.

Podsumowując, we wszystkich przedstawionych przypadkach, wyniki przeprowadzonych badań molekularno-genetycznych były ujemne. Miało to istotne znaczenie i zostało uwzględnione przez biegłych podczas formułowania ostatecznych wniosków odpowiednich opinii.

Wnioski

Zastosowanie klinicznych badań molekularno-genetycznych w medycynie sądowej jest możliwe i zawsze wnosi istotne dodatkowe informacje rozszerzające możliwości opiniodawcze i ułatwiające postawienie rozpoznania [8]. Jak wykazano powyżej, obszarami, w których tego rodzaju badania mogą być szczególnie przydatne, są co najmniej:

- diagnostyka podłoża powikłań zakrzepowo-zatorowych w przypadkach nagłych zgonów, zwłaszcza młodych osób i kobiet ciężarnych [9],
- nowoczesna zintegrowana diagnostyka morfologiczno-molekularna nowotworów (ang. *Morphology & Molecular, M&M*) [10],
- diagnostyka defektów genetycznych tkanki łącznej u dzieci podejrzanych o zespół dziecka maltretowanego, które czasem są wykorzystywane jako linia obrony sprawców [11].

Niestety z powodu trudności technicznych i ograniczeń metodycznych nie zawsze można wykorzystać wszystkie dostępne w medycynie klinicznej rodzaje analiz. Przykładowo, u osób żywych w diagnostyce trombofilii (poza ww. badaniami, które przeprowadzono w przedstawionym przypadku nagłego zgonu ciężarnej) wykonuje się również takie analizy jak: oznaczenie poziomów inhibitorów krzepnięcia – białka C, wolnego białka S oraz antytrombiny, oznaczenie stężenia homocysteiny, oznaczenia w kierunku zespołu antyfosfolipidowego (antykoagulant toczniowy, przeciwciała antykardiolipinowe i przeciwko β 2-glikoproteinie I w klasie IgG i IgM) oraz oznaczenie poziomu czynnika VIII [12].

Omawiając drugi z prezentowanych przypadków należy pamiętać, że ujemny wynik badań molekularnych (tj. brak analizowanych rearanżacji genowych) nie wyklucza możliwości rozpoznania mięsaka

Ewinga, na który wskazuje obraz histopatologiczny i immunohistochemiczny. Podłoże genetyczne tego schorzenia nie zostało jeszcze w pełni poznane, choć obecność zmian genetycznych (translokacji) ma znaczenie diagnostyczne [13]. Badania wykonane w 2011 roku na Uniwersytecie w Bolonii we Włoszech wykazały, że spośród 188 przypadków wstępnego rozpoznania mięsaka Ewinga 44 były ujemne pod względem rearanżacji genu EWSR1 (22q12) oraz FUS (16p11) [14].

Należy dodać, że z punktu widzenia epidemiologii obecność mięsaka Ewinga w kości czaszki u 18-letniej kobiety to nietypowa sytuacja kliniczna. Podobne przypadki są rzadko publikowane w literaturze specjalistycznej [15, 16].

W tego rodzaju sprawach, jak zaprezentowane przez autorów, zawsze niezbędna jest ścisła współpraca między medykiem sądowym, prokuratorem

a diagnostą laboratoryjnym, optymalnie posiadającym odpowiednią specjalizację (laboratoryjna genetyka medyczna, laboratoryjna genetyka sądowa). Trzeba pamiętać, że interpretacja uzyskanych wyników badań może wymagać konsultacji nie tylko z diagnostami laboratoryjnymi, ale także z lekarzami – specjalistami z zakresu genetyki klinicznej, patomorfologii lub diagnostyki laboratoryjnej.

Podziękowanie

Dziękuję doktorowi Marcinowi Tomsi z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej w Katowicach za zapoznanie się z manuskryptem i cenne uwagi.

Piśmiennictwo

1. Krawczyński MR. Genetyka kliniczna dla lekarza praktyka. *Przew. Lek.* 2002; 11/12 (5): 111–116
2. Dumache R, Ciocan V, Muresan C, Enache A. *Molecular Genetics and its Applications in Forensic Sciences* [w:] Shetty BSK, Padubidri JR (red.) *Forensic Analysis – From Death to Justice*. IntechOpen, London 2016
3. Program specjalizacji w dziedzinie genetyki klinicznej dla lekarzy nieposiadających odpowiedniej specjalizacji I lub II stopnia lub tytułu specjalisty w odpowiedniej dziedzinie medycyny albo zrealizowanego i zaliczonego odpowiedniego modułu podstawowego. <https://www.cmkp.edu.pl/wp-content/uploads/akredytacja2018/0709-program-1.pdf>
4. Świtaj T, Jagodzińska-Mucha P. Ewing's tumor. *Oncol. Clin Pract.* 2018; 14: 479–486
5. Kokoszka A, Sas-Korczyńska B, Korzeniowski S. Wyniki leczenia i analiza czynników prognostycznych u dorosłych chorych na mięsaka Ewinga w materiale Centrum Onkologii w Krakowie. *Wsp. Onkol.* 2007; 11 (2): 96–100
6. Ługowska I, Raciborska A, Kiprian D, Rysz M, Krajewski R, Świtaj T, Kawecki A, Rutkowski P. Recommendations in management of head and neck sarcomas. *Oncol. Clin Pract.* 2018; 14: 373–380
7. Tarnawski M, Sieroń AL. Wrodzona łamliwość kości – etiologia, charakterystyka, metody leczenia dzisiaj i w przyszłości. *Wiad. Lek.* 2008; 61 (4–6): 166–172
8. Castiglione V, Modena M, Aimo A, Chiti E, Botto N, Vittorini S, Guidi B, Vergaro G, Barison A, Rossi A, Passino C, Giannoni A, Di Paolo M, Emdin M. Molecular Autopsy of Sudden Cardiac Death in the Genomics Era. *Diagnostics (Basel)*. 2021; 11 (8): 1378
9. Maughan BC, Marin M, Han J, Gibbins KJ, Brixey AG, Caughey AB, Kline JA, Jarman AF. Venous Thromboembolism During Pregnancy and the Postpartum Period: Risk Factors, Diagnostic Testing, and Treatment. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2022; 77 (7): 433–444
10. Carlson J, McCluggage WG. Reclassifying endometrial carcinomas with a combined morphological and molecular approach. *Curr. Opin. Oncol.* 2019; 31 (5): 411–419
11. Pepin MG, Byers PH. What every clinical geneticist should know about testing for osteogenesis imperfecta in suspected child abuse cases. *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.* 2015; 169 (4): 307–313.
12. Undas A, Windyga J, Podolak-Dawidziak M, Klukowska A, Zdziarska J, Chojnowski K, Łętowska M, Łąguna P, Treliński J, Musiał J, Urański T, Mital A, Młynarski W. Trombofilie wrodzone – charakterystyka, diagnostyka i postępowanie u dorosłych. *Zalecenia Grupy ds. Hemostazy Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów 2022*. *Med. Prakt.* 2022; 4: 57–71
13. Machiela MJ, Grünwald TGP. Germline Variation and Somatic Alterations in Ewing Sarcoma. *Methods Mol. Biol.* 2021; 2226: 3–14
14. Gamberi G, Cocchi S, Benini S, Magagnoli G, Morandi L, Kreshak J, Gambarotti M, Picci P, Zanella L, Alberghini M. Molecular diagnosis in Ewing family tumors: the Rizzoli experience – 222 consecutive cases in four years. *J. Mol. Diagn.* 2011; 13 (3): 313–324

15. Rahman A, Bhandari PB, Hoque SU, Wakiluddin AN. Primary Ewing's sarcoma of the skull. *BMJ Case Rep.* 2013; bcr2012007979
16. Mohindra S, Tripathi M, Batish A, Kapoor A, Patil NR, Mahendru S, Ahuja C, Chatterjee D. Primary Calvarial Ewing Sarcoma: A Case Series. *J. Neurol. Surg. B Skull Base.* 2021; 83(Suppl 2): e181-e190

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr med. Rafał Skowronek

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej
i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej
ul. Medyków 18, 40-752 Katowice
e-mail: rafal-skowronek@wp.pl

ORCID

Rafał Skowronek – 0000-0002-1445-3807