



EFFECT ON PATERNITY INDEX OF SUBSTITUTING A BROTHER FOR THE TRUE FATHER

Jarosław BERENT, Renata JACEWICZ, Stefan SZRAM

Department of Forensic Medicine, Medical University, Łódź, Poland

Abstract

In the analysis of trios with the true father, inconsistencies never appear (if the effect of a possible mutation is excluded). The Paternity Index (*PI*) calculated for such trios always has a value greater than zero. If in such a trio the true father is replaced by his brother, it can cause a change in the *PI* if the brother's genotype is different from the genotype of the true father. The purpose of this study was to determine what effect replacing the true father in a trio with his brother has on the *PI* value for that trio. In the study a computer simulation was run on all theoretically possible trios with the true father and his brother. For all the simulated trios *PI* values were calculated and compared. The calculations were based on hypothetical systems made up of equally frequent alleles, and real systems from SGM Plus multiplex. The analysis confirmed that replacing the true father in a trio with his brother, if no inconsistency appears as a result, does not cause any change in *PI* values in the majority of cases. Thus, distinguishing the true father from his brother can be achieved practically only by means of excluding the brother.

Key words

Forensic genetics; Paternity Index; Avuncular Index; Relatives; SGM Plus multiplex.

Received 27 November 2006; accepted 15 December 2006

1. Introduction

DNA polymorphism analysis as a way of proving paternity has been used since the mid-1980s [9] and in the last few years has become practically the sole method [3]. In almost every case it permits practically certain differentiation of fathers from non-fathers, thus nearly eliminating the situation – which was common before the era of DNA testing – where the question of paternity could not be resolved despite intensive testing. This practically certain differentiation must, however, be supported by correspondingly high [1] values for biostatistical parameters such as the Paternity Index (*PI*). The rare cases where even DNA testing does not resolve the question of paternity are almost always those in which the true and alleged fathers are related [5] or, more confusingly, where both are also re-

lated to the mother of the child [6]. To date there has not been an exhaustive discussion of the issue of blood relation between biological and alleged fathers of a child supported by biostatistical analysis, and thus neither has there been any proposal for its solution, though the problem has been brought up in the literature. Authors of earlier papers note only that in this situation analysis is more difficult, since results may provide little information [11].

In 1988 Morris et al. defined the Avuncular Index (*AI*), which brought certain possibilities of a more analytical approach to the problem. The *AI* was defined by him and his co-workers as the likelihood ratio which tests the hypothesis that the tested man is a paternal uncle of the child versus the hypothesis that the tested man is unrelated to the child, so that $AI = (X + Y) / 2Y = (PI + 1) / 2$. The *AI* also tested the hypothesis that the

tested man is a paternal half brother of the child. Similarly the likelihood ratio for an ungenotyped second degree relative (half brother, uncle, double first cousin) of the tested man could be shown to be equal to $(X + 3Y) / 4Y = (PI + 3) / 4$. One can easily extrapolate from this situation to any degree of kinship. While for a single genetic system the *AI* is a simple function of the *PI*, the cumulative *AI* is not a simple function of the cumulative *PI* [12]. That was, however, only during the beginning phase of DNA testing, when the tests were presumed to be so good that a result confirming or excluding paternity was thought indisputable. In later years, however, came the sobering realisation that even after significant progress, not all problems could yet be solved by means of DNA testing. The biostatistical approach has appeared more widely in publications only in recent years. In 1999 Lee et al. took up certain aspects of the *PI* in cases of blood relation between putative fathers [10]; in 2000 Calafell analysed the probability of occurrence of a given number of inconsistencies for trios with the true father and his brother [4]; in the following year, Thomson et al. conducted simulation research on the *AI* [14] using a formula provided by Morris et al. [12], and in 2002 Fung et al. studied power of exclusion (*PE*) values for such cases [7]. All of these papers were based on the analysis of results of multiplex STRs, which have now become standard [8].

In the analysis of trios with the true father, inconsistencies never appear (if the effect of any mutation is neglected). The *PI* calculated for such trios always has a value greater than zero. If in such a trio the true father is replaced by his brother, it can cause a change in the *PI* if the brother's genotype is different from the genotype of the true father. The purpose of this study was to determine how the substitution of a brother for the true father in a trio affects the *PI* value for the trio.

2. Materials and methods

In the study, a computer simulation was run on all theoretically possible trios (Figure 1) with a true father (C-F-E) and his brother (D-F-E). The analysis was based on 15 hypothetical systems made up of equally frequent alleles (1st system – 1 allele with allele frequency $p = 1/1$, 2nd system – 2 alleles with $p = 1/2$, ..., 15th system – 15 alleles with $p = 1/15$), and 10 real systems from SGM Plus multiplex (D3S1358, vWA, D16S539, D2S1338, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433, TH01, FGA). Allele frequencies for the SGM Plus systems came from the authors' own population from central Poland of 100 non-related persons

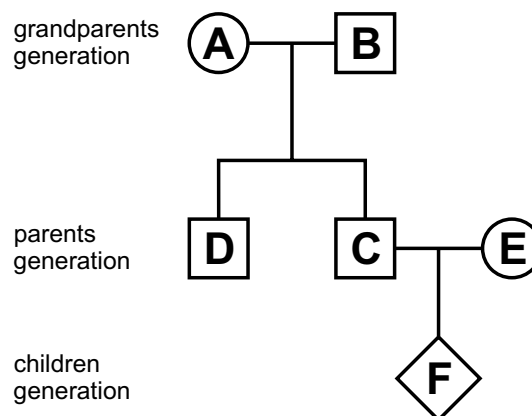


Fig. 1. Genealogical tree of computer-simulated family.

(200 alleles). In the 25 systems studied – i.e. 10 real microsatellite systems from SGM Plus multiplex with the authors' population and 15 hypothetical systems with equally-occurring alleles – for all theoretically possible combinations of genotypes the *PI* for the true father and his brother, and the frequency of each combination of genotype in the population was calculated. Then, on this basis, the frequency of change in *PI* values in the population F_{PI} between trios with the true father and the true father's brother was calculated, i.e., how often the quotient: *PI* of the true father's brother divided by the *PI* of the true father had the values: 0, 0.5, 1 or 2, since only these values are possible, and where: 0 means exclusion of the brother; 0.5 means that the brother's *PI* is two times lower than the father's *PI*; 1 means that the brother's *PI* is equal to the father's *PI* and 2 means that the brother's *PI* is two times greater than the father's *PI*. In other words, $F_{PI}(x) = \text{Frequency that } PI \text{ of true father's brother} / PI \text{ of true father} = x$. The F_{PI} values thus obtained were arranged in graphs.

3. Results

The results of F_{PI} calculation for the 15 hypothetical systems with equally frequent alleles are presented in Figure 2, while those for the 10 real microsatellite systems of the SGM Plus set are shown in Figure 3. The F_{PI} values contained in them signify the frequency of occurrence of the corresponding values 0, 0.5, 1 or 2 for the quotient: *PI* of father's brother divided by *PI* of father for all theoretically possible combinations of genotypes.

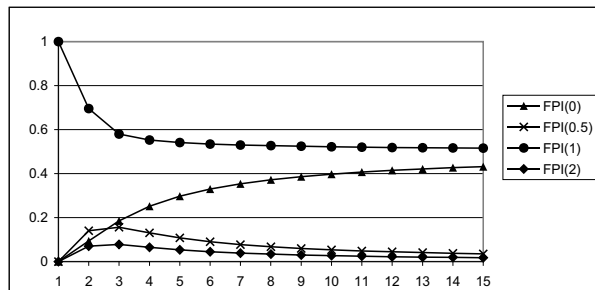


Fig. 2. Graphs of the change in F_{PI} for 15 hypothetical systems of equally frequent alleles. $F_{PI}(0)$ – frequency of value 0 for the quotient: PI father's brother / PI father (\Rightarrow exclusion of brother); $F_{PI}(0.5)$ – frequency of value 0.5 for the quotient: PI father's brother / PI father (\Rightarrow PI of father's brother is 2 times lower than PI of father); $F_{PI}(1)$ – frequency of value 1 for the quotient: PI father's brother / PI father (\Rightarrow PI of father's brother = PI of father); $F_{PI}(2)$ – frequency of value 2 for the quotient: PI father's brother / PI father (\Rightarrow PI of father's brother is two times greater than PI of father).

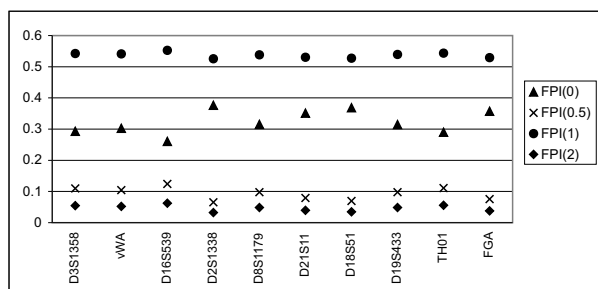


Fig. 3. Graphs of the change in F_{PI} for the 10 real microsatellite systems from SGM Plus multiplex (symbols as in Fig. 2). The average values for all loci are the following: $F_{PI}(0) = 0.322761$, $SD = 0.038452$; $F_{PI}(0.5) = 0.093418$, $SD = 0.019908$; $F_{PI}(1) = 0.537112$, $SD = 0.008647$; $F_{PI}(2) = 0.046709$, $SD = 0.009954$.

4. Discussion

The study has shown that in the case of replacing the true father with his brother, most often there was no change in the PI . For the SGM Plus systems, this occurred in over half the cases (0.537112 , $SD = 0.008647$). Significantly less frequent was the situation in which the result of the substitution was an inconsistency (0.322761 , $SD = 0.038452$). The remaining two possibilities – twice greater or lower PI values resulting from replacing the father in the trio with his brother – were very rare and appeared with medium frequency of only a few percent (0.046709 , $SD = 0.009954$ and 0.053418 , $SD = 0.019908$, respectively). Calculations

for hypothetical systems of equally frequent alleles gave similar results. It was also determined for them that with an increase in the number of alleles the frequency of cases where PI of the brother is zero also increases. This means that a system with a greater number of alleles permits exclusion of the brother more easily. However, that increase is limited because it has an asymptotic character, and stabilises at a level somewhat higher than 0.4. Conversely, where the brother's PI is equal to the value for the biological father, the frequency decreases asymptotically as the number of alleles increases, and stabilises at a level somewhat higher than 0.5. In addition, when comparing the value $F_{PI}(0)$ for real systems with hypothetical systems corresponding in terms of number of types of alleles, it was seen that the values for the hypothetical systems were always higher. This shows that the power of real systems to exclude the brother is less than that of the hypothetical systems having the same number of equally frequent alleles. This confirms the supposition that systems of equally frequent alleles are the “optimal” solution for various types of practical applications. But any deviation from equally frequent occurrence causes this “optimality” to drop. This general perception is in agreement with the literature data concerning such biostatistical parameters as PI [2] and PE [15]. Furthermore, it is worth emphasising that – as was noted by Presciuttini et al. [13] – the results of such an analysis are easily carried over to other systems or STR system sets, and therefore also permit generalisations which go beyond the loci sets chosen for this study.

5. Conclusion

Replacing the true father in a trio with his brother, in so far as no inconsistency appears as a result, does not cause any change in PI values in the majority of cases. Thus distinguishing the biological father from his brother can occur practically only by means of excluding the brother.

References

1. Berent J., Jacewicz R., Jurczyk A. P. [et al.], A threshold-value proposal for the paternity index, *Forensic Scientist* 2003, 1, 35–36.
2. Berent J. A., Miścicka-Śliwka D., Czarny J., Średnie wartości szansy ojcostwa – obliczenia dla populacji polskiej, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1999, 49, 11–15.

3. Brinkmann B., Pfeiffer H., Schurenkamp M. [et al.], The evidential value of STRs: an analysis of exclusion cases, *International Journal of Legal Medicine* 2001, 114, 173–177.
4. Calafell F., The probability distribution of number of loci indicating exclusion in a core set of STR markers, *International Journal of Legal Medicine* 2000, 114, 61–65.
5. Czarny M., Janiszewska H., Kwiatkowska J. [i in.], Czy analiza DNA jest zawsze skuteczna: problemy w dochodzeniu spornego ojcostwa w przypadku bliskiego prawdopodobieństwa domniemanych ojców, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1995, 45, 287–295.
6. Czarny M., Kwiatkowska J., Chlebowska H. [i in.], Skuteczność analizy DNA w dochodzeniu spornego ojcostwa w przypadkach bliskiego pokrewieństwa rodziców, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1996, 46, 289–297.
7. Fung W. K., Chung Y. K., Wong D. M., Power of exclusion revisited: probability of excluding relatives of the true father from paternity, *International Journal of Legal Medicine* 2002, 116, 64–67.
8. Hallenberg C., Morling N., A report of the 2000 and 2001 paternity testing workshops of the English Speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics, *Forensic Science International* 2002, 129, 43–50.
9. Jeffreys A. J., Brookfield J. F. Y., Semeonoff R., Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints, *Nature* 1985, 317, 818–819.
10. Lee J. W., Lee H. S., Park M. [et al.], Paternity probability when a relative of the father is an alleged father, *Science and Justice* 1999, 39, 223–230.
11. Morris J. W., Probability of paternity: Logic I, [in:] Probability of inclusion in paternity testing, Silver H. [ed.], American Association of Blood Banks, Arlington 1982.
12. Morris J. W., Garber R. A., d'Autremont J. [et al.], The avuncular index and the incest index, [in:] Advances in forensic haemogenetics, vol. 2, Mayr W. R. [ed.], Berlin 1988.
13. Presciuttini S., Ciampini F., Alu M. [et al.], Allele sharing in first-degree and unrelated pairs of individuals in the Ge.F.I. AmpF/STR® Profiler Plus™ database, *Forensic Science International* 2003, 131, 85–89.
14. Thomson J. A., Ayres K. L., Pilotti V. [et al.], Analysis of disputed single-parent/child and sibling relationships using 16 STR loci, *International Journal of Legal Medicine* 2001, 115, 128–134.
15. Weir B. S., Genetic data analysis II, Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland 1996.

Corresponding author

Jarosław Berent
Zakład Medycyny Sądowej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
ul. Sędziowska 18 a
PL 91-304 Łódź
e-mail: J.Berent@eranet.pl

OCENA WPLYWU, JAKI WYWIERA NA SZANSE OJCOSTWA ZASTĄPIENIE FAKTYCZNEGO OJCA PRZEZ JEGO BRATA

1. Wstęp

Badanie polimorfizmu DNA jest stosowane w dochodzeniu spornego ojcostwa od połowy lat osiemdziesiątych 20. wieku [9], a w ostatnich kilku latach stało się praktycznie jedyną wykorzystywaną do tego celu metodą [3]. W niemal każdym przypadku pozwala ona na niebudzące wątpliwości rozróżnienie faktycznego ojca od osoby nie będącej ojcem, niemalże eliminując powszechne przed erą badań DNA przypadki, kiedy kwestia ojcostwa pozostawała nierozwiązana pomimo przeprowadzenia wielu testów. Dowód z badań DNA musi być jednak poparty przez odpowiednio wysokie [1] wartości odpowiednich parametrów biostatystycznych, jak szansa ojcostwa (ang. Paternity Index, *PI*). Do nielicznych przypadków, kiedy nawet za pomocą testów DNA nie można rozwiązać problemu spornego ojcostwa, należą niemal wyłącznie te, w których faktyczny i domniemany ojciec są ze sobą spokrewnieni [5] lub, co jeszcze bardziej komplikuje problem, obaj są spokrewnieni z matką dziecka [6]. Przypadki pokrewieństwa pomiędzy faktycznym ojcem a domniemanymi ojcami nie były jak dotąd poddane wyczerpującej dyskusji popartej analizą biostatystyczną i choć problem jest dyskutowany w fachowej literaturze, to jego rozwiązanie wciąż pozostaje kwestią przyszłości. Opublikowane dawniej prace wskazują jedynie, że interpretacja w takich przypadkach jest trudniejsza, co spowodowane jest faktem, że uzyskane wyniki analizy dostarczają niewiele informacji [11].

W 1988 roku Morris i in. wprowadzili współczynnik, który stwarza pewne możliwości analitycznego podejścia do problemu. Odnosi się on do pokrewieństwa badanych (ang. Avuncular Index, *AI*) i jest ilorazem wiarygodności (ang. likelihood ratio) służącym do testowania dwóch hipotez: (1) badany mężczyzna jest wujkiem dziecka ze strony jego faktycznego ojca; (2) badany mężczyzna nie jest spokrewniony z dzieckiem, a zatem $AI = (X + Y) / 2Y = (PI + 1) / 2$. Współczynnik *AI* potwierdza również prawdziwość hipotezy, że badany mężczyzna jest dla dziecka przyrodnim bratem ze strony ojca. Analogicznie, iloraz wiarygodności dla niepoddanego badaniu krewnego drugiego stopnia (przyrodniego brata, wujka, podwójnego bezpośredniego kuzyna) badanego mężczyzny może zostać wyrażony jako $(X + 3Y) / 4Y = (PI + 3) / 4$. Iloraz może zostać dostosowany do każdego stopnia pokrewieństwa. Podczas gdy dla pojedynczego lokusa *AI* jest prostą funkcją *PI*, to łączny *AI* już nie jest prostą funkcją łącznego *PI* [12]. We wczesniej fazie zastosowania badań DNA do analizy spornego ojcostwa stosowane testy były uznawane do tego stopnia miarodajne, że ich wyniki

uważano za niepodlegające dyskusji. W następnych latach zdano sobie jednak sprawę z tego, że mimo znaczących postępów, badanie DNA nie zawsze pozwala na rozwiązanie problemu spornego ojcostwa. Dopiero w ostatnich latach zastosowano w fachowej literaturze podejście biostatystyczne. W roku 1999 Lee i in. odnieśli się do pewnych aspektów *PI* w przypadku pokrewieństwa między domniemanymi ojcami [10]; w roku 2000 Calafel przedstawił badania nad prawdopodobieństwem wystąpienia określonej liczby niezgodności w przypadku trójek z faktycznym ojcem i jego bratem [4]. W następnym roku Thomson i in. przedstawili badania nad *AI* polegające na przeprowadzeniu symulacji [14] z zastosowaniem wzoru zaproponowanego przez Morrisa i in. [12], a w 2002 roku Fung i in. opublikowali wyniki badań nad wartością siły wykluczenia (ang. Power of Exclusion, *PE*) w takich przypadkach [7]. Wszystkie te publikacje odnosiły się do wyników z badania markerów typu STR metodą multiplex PCR, która stanowi obecnie standardową metodę w badaniach spornego ojcostwa [8].

Badanie trójek z udziałem faktycznego ojca nigdy nie prowadzi do niezgodności, jeśli tylko pominięty zostanie efekt mutacji. Wartość *PI* obliczanego dla takich trójek zawsze jest większa od zera. Jeśli jednak faktyczny ojciec zostaje zastąpiony przez swojego brata, może to doprowadzić do zmiany wartości *PI* w sytuacji, gdy genotyp charakterystyczny dla brata różni się od genotypu faktycznego ojca. Celem niniejszej pracy było oszacowanie stopnia, w jakim zastąpienie faktycznego ojca w badanej trójce poprzez jego brata wpływa na wartość *PI* obliczaną dla badanej trójki.

2. Materiały i metody

Przeprowadzono symulację komputerową uwzględniającą wszystkie teoretycznie prawdopodobne trójki (rycina 1) z faktycznym ojcem (C-F-E) i jego bratem (D-F-E). W badaniu uwzględniono: 15 hipotetycznych *loci* złożonych z alleli o równych częstościach (pierwsze lokus – 1 allel o częstości $p = 1/1$, drugie lokus – 2 allele o częstości $p = 1/2$, ..., piętnaste lokus – 15 alleli o częstości $1/15$), a także 10 rzeczywistych *loci* wchodzących w skład zestawu SGM Plus (D3S1358, vWA, D16S539, D2S1338, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433, TH01, FGA). Częstości alleli w tym drugim przypadku pochodziły z wyników badań własnych autorów przeprowadzonych na populacji 100 niespokrewnionych osób (200 alleli) z Polski centralnej. Dla wszystkich 25 badanych *loci* – tj. 10 rzeczywistych *loci* mikrosatelitarnych wcho-

dzących w skład zestawu SGM Plus i częstości alleli ustalonych na podstawie badań populacyjnych autorów oraz 15 hipotetycznych *loci* przy założeniu występowania alleli o równej częstości – obliczono wartości *PI* dla faktycznego ojca i jego brata oraz częstość każdej kombinacji genotypu w populacji, uwzględniając wszystkie teoretycznie możliwych kombinacje tych genotypów. Następnie w oparciu o uzyskane dane obliczono częstość zmian wartości *PI* w populacji (F_{PI}) pomiędzy trójkami z faktycznym ojcem i jego bratem, tj. obliczono, jak często iloraz *PI* dla brata faktycznego ojca (w liczniku) i *PI* dla faktycznego ojca (w mianowniku) osiąga możliwe do uzyskania wartości: 0, 0,5, 1 lub 2. Wartość 0 oznacza wykluczenie brata; 0,5 oznacza, że wartość *PI* dla brata jest dwukrotnie niższa niż wartość *PI* dla ojca; 1 oznacza, że wartość *PI* dla brata jest równa wartości uzyskanej dla ojca; 2 oznacza, że wartość *PI* dla brata jest dwukrotnie wyższa niż wartość *PI* uzyskana dla ojca, czyli $F_{PI}(x) =$ częstość, gdy *PI* dla brata faktycznego ojca / *PI* dla faktycznego ojca = x . Uzyskane wartości F_{PI} zostały przedstawione w formie wykresów.

3. Wyniki

Wyniki analizy F_{PI} dla 15 hipotetycznych *loci* o równych częstościach alleli przedstawia rycina 2. Wyniki uzyskane dla 10 rzeczywistych *loci* mikrosatelitarnych wchodzących w skład zestawu SGM Plus prezentuje rycina 3. Uzyskane wartości F_{PI} oznaczają częstości występowania odpowiednio wartości: 0, 0,5, 1 lub 2 dla ilorazu: *PI* brata faktycznego ojca przez *PI* ojca dla wszystkich teoretycznie możliwych kombinacji genotypów.

4. Dyskusja

Przeprowadzone badania wykazały, że zastąpienie faktycznego ojca przez jego brata najczęściej nie powodowało zmiany wartości *PI*. W przypadku układów wchodzących w skład zestawu SGM Plus, taka sytuacja miała miejsce w ponad połowie przypadków (0,537112, $SD = 0,008647$). Znacznie rzadziej zastąpienie ojca przez jego brata prowadziło do niezgodności, czyli wykluczenia brata (0,322761, $SD = 0,038452$). Dwie pozostałe możliwości – dwukrotnie wyższe lub niższe wartości *PI* wynikające z zastąpienia ojca w trójce przez jego brata – były bardzo rzadkie i pojawiły się z bardzo niską średnią częstością sięgającą zaledwie kilku procent (odpowiednio 0,046709, $SD = 0,009954$ i 0,053418, $SD = 0,019908$). Obliczenia przeprowadzone dla hipotetycznych *loci* o równych częstościach alleli dały podobne wyniki. W tym przypadku wykazano również, że wraz ze wzrostem liczby alleli, rośnie częstość przypadków, gdy wartość *PI* dla brata jest równa zero. Oznacza to, że locus

o większej liczbie alleli jest skuteczniejsze, gdy w grę wchodzi wykluczenie brata. W związku z asymptotycznym charakterem, wzrost skuteczności jest jednak ograniczony i stabilizuje się na poziomie nieco wyższym niż 0,4. Przeciwnie, częstość przypadków, gdy wartości *PI* dla brata i biologicznego ojca są równe, obniża się asymptotycznie wraz ze wzrostem liczby alleli, stabilizując się na poziomie nieco powyżej 0,5. Co więcej, porównując wartości $F_{PI}(0)$ uzyskane dla układów rzeczywistych i odpowiadających im pod względem liczby typów alleli układów hipotetycznych, można zauważyć, że wartości dla *loci* hipotetycznych są zawsze wyższe. Oznacza to, że efektywność rzeczywistych układów genetycznych powodujących wykluczenia brata jest niższa niż efektywność charakterystyczna dla układów hipotetycznych, które posiadają tę samą liczbę alleli o równej częstości. Potwierdza to przypuszczenie, że *loci* zawierające allele o równych częstościach najlepiej sprawdzają się w różnego typu praktycznych zastosowaniach. Jednak nawet niewielkie odstępstwo od równego rozkładu częstości alleli prowadzi do obniżenia efektywności. Obserwacja ta jest zgodna z danymi dostępnymi w fachowej literaturze dotyczącymi takich parametrów biostatystycznych, jak *PI* [2] i *PE* [15]. Warto również podkreślić, że jak zauważył Presciuttini i in. [13], wyniki analiz podobnych do tej, jaką przedstawiono w niniejszej pracy, można odnosić do innych *loci* lub zestawów typu multiplex STR, co pozwala na wyciąganie bardziej ogólnych wniosków.

5. Wniosek

Jeśli w badanej trójce zastąpienie faktycznego ojca poprzez jego brata nie wywoła niezgodności, to w większości przypadków wartości *PI* obliczone dla faktycznego ojca i jego brata pozostaną niezmienione. W związku z tym, rozróżnienie biologicznego ojca i jego brata może nastąpić praktycznie wyłącznie poprzez wykluczenie brata.