

# זיהוי רקמה זרה בתתקין מעי לאחר קולונסקופיה תוך יישום טכנולוגיות מתחום הדנ"א הפורנזי (זיהוי פלילי)

תקציר:

ענת גסט  
דניה שחר  
אנדריו קוטיק  
חן קוגל  
נורית בובליל

המרכז הלאומי לרפואה משפטית

דיגום פולשני של רקמות ואבחון פתולוגי של תתקינים מיקרוסקופיים הם דרך מקובלת לאבחון נגעים סרטניים. החשש מערבוב רקמות שמקורן בנבדקים שונים מחייב בירור. שימוש באמצעים מולקולאריים לבדיקת ההתאמה בין הנבדק הרשום לבין הרקמות החשודות עשוי להיות בעל ערך רב למניעת אבחנה שגויה שמקורה בהחלפת דגימות.

המעבדה הביולוגית במרכז הלאומי לרפואה משפטית מתמחה בהפקת דנ"א ובקביעת פרופילים גנטיים מחומרים ביולוגיים שונים. רגישות השיטות המשמשות לצרכים פליליים מאפשרת לקבוע פרופיל גנטי מהימן, ייחודי לפרט, גם כאשר כמות הדנ"א היא קטנה ואיכותה ירודה, מאפיינים צפויים לדגימות רקמה לאחר קיבוע. השוואת הפרופיל לדגימת ייחוס עשויה לתת מענה לשאלת מקור הרקמה. בפרשת החולה במאמרנו, מתואר הליך בדיקה להשוואת מקור הדנ"א של שישה פירווי רקמת מעי אשר מצויים על תתקין ששוין לנבדקת לאחר קולונוסקופיה. בתתקין המיקרוסקופי נמצא נגע מסוג High Grade Dysplasia (HGD). אי הלימה בין המצב הקליני של הנבדקת לתוצאת האבחון הפתולוגי הביא להפניית הנבדקת לבירור במעבדה כאן.

פרופיל גנטי שנקבע לדגימות משני בלוקים נמצא תואם לנבדקת. באחת הדגימות התקבל בנוסף לפרופיל הדנ"א העיקרי, מספר אללים המעידים על נוכחות תורם גנטי אחר שכמותו קטנה מאוד. מוקד ה-HGD סומן לבקשת המעבדה על ידי רופא משפטי במכון. הפירור הנוגע הוסר מהתתקין ונלקח להפקת דנ"א ולקביעת פרופיל גנטי. תוצאת האפיון הגנטי הראתה, כי הרקמה שייכת לפרט ממין זכר בעל פרופיל שונה מזה של הנבדקת.

בדיקה מולקולארית הראתה כי קיים מקור זר, שאינו הנבדקת, בבלוק/תתקין המיקרוסקופי ששימשו לאבחנה. רקמה זו שמקורה בזכר היא מקור ל-HGD שאובחן בתכשיר. השימוש בכלים פורנזיים בשיתוף השילוב הייחודי בין המעבדה הביולוגית והרופאים המשפטים במרכז הלאומי לרפואה משפטית, הובילו לזיהוי מקור רקמה זה, שכמותו קטנה באופן משמעותי ביחס לרקמה שמקורה בנבדקת, ולמניעת אבחון שגוי עבור הנבדקת. כמות הדנ"א המועטה שמקורה ברקמה הזרה התגלתה בזכות השימוש בתהליכים המותאמים לעולם הזיהוי הפלילי.

מילות מפתח:

תתקין מיקרוסקופי; אבחון פתולוגי; דיספלזיה בדרגה גבוהה; פרופיל גנטי פורנזי; תערובת דנ"א.  
Colonoscopy; Formalin Fixed Paraffin Embedded tissue; misdiagnosis; Forensic DNA profile; DNA mixture

KEY WORDS

## הקדמה

סרטן עור, סרטן שד, סרטן הכרכשת (מעיי גס) והחלחולת, וסרטן הערמונית, נחשבים כשאתות שכיחות באוכלוסייה בישראל [1]. נטילת דגימות רקמה באמצעים פולשניים נדרשת באופן שגרתי לצורך אבחנה פתולוגית, בין אם במסגרת בדיקות סקר ובין אם בהפניית נבדק בגין הופעת סימנים קליניים מחשידיים [1]. הכנת דגימות רקמה לאבחון מיקרוסקופי כוללת קיבוע בפורמלין, הוצאת שרידי מים ופורמלין, הכללה בבלוק פרפיין, חיתוך וצביעות ייעודיות [2].

מספרן הגדול של הדגימות המטופלות במעבדות, גדלן הזעיר לעייתים, וריבוי שלבי העיבוד – כל אלה מחייבים הטמעת הליכי עבודה קפדניים במטרה לצמצם את הסיכון לטעות שתוביל לאבחנה שגויה.

שורה ארוכה של אמצעי בקרה משמשים למטרה זו, ביניהם הטמעת מערכות הבטחת איכות למעבדות בדיקה (ISO 17025) ו/או למעבדות רפואיות (ISO 15189), תקנים מקצועיים ומערכות ניהול סיכונים. יחד עם זאת, בכל עבודת אנוש, על אף נקיטת אמצעי זהירות רבים, אין אפשרות למנוע לחלוטין התרחשות של טעויות, לפיכך, מצבים של

אשר כוללים, כל אחד, מספר גדול של מופעים (אללים) באוכלוסייה ולכל אחד מהם שכיחות ידועה [3]. בנוסף לאתרים הפולימורפים הללו, לפרופיל הפורנזי מצטרף עוד אתר המאפשר את קביעת מין הנבדק. הגנום האנושי הנתרם בחציו מהאב וחציו מהאם מתבטא בפרופיל הגנטי הפורנזי בהופעת שני אללים בכל אחד מ-15 אתרי ה-STR ועוד זוג אללים שמקורם בכרומוזומי המין. לפיכך, בפרופיל דנ"א מלא, ללא חסרים, יתקבלו בסך הכול 32 אללים אשר כמכלול מהווים סמן ייחודי מאוד לאדם.

הקיבוע בפורמלין ידוע כבעל השפעה מזיקה על איכות הדנ"א באופן שעלול לפגוע קשות ביכולת לקבל פרופיל גנטי מלא [5]. מידת הנזק תלויה במידה רבה מאד במשך הקיבוע: אם זמן השהייה בפורמלין עולה על 48 שעות, הסיכוי לקבלת פרופיל גנטי שלם הוא נמוך מאוד. הקיבוע בפורמלין גורם לפירוק הדנ"א, בד בבד עם יצירת קשרי הצלבה (cross linkage) שאינם מאפשרים עוד את הפרדת הסלילים בתהליכי יצירת הפרופיל הגנטי [5].

הירידה בכמות הדנ"א הזמינה לשכפול, והנזק לסלילים הקיימים עלולים לגרום לקבלת תוצאות חלקיות, תוצאות שגויות או ללא תוצאות כלל: הפרופיל המתקבל במקרים אלו מאופייין בהשמטת אללים (allele drop out), בהשמטת אתרים (loci drop out) וכן בהופעת אללים שמקורם בזיהום חיצוני ושאינם חלק מהדגימה במקור (allele drop in). בנוסף, קיימת אפשרות להיעדר תוצאה באופן מוחלט [6,5]. היכולת לזהות כי הפרופיל הוא חלקי וכי התוצאות הן שגויות, תלויה במיומנות המעבדה להתמודד עם דנ"א מפורק.

במרבית הפרוטוקולים המשמשים כיום במעבדות הפתולוגיות, זמן הקיבוע מוגבל בממוצע ל-8-12 שעות, ולאחר מכך מתחיל הליך הוצאת מים ופורמלין מהרקמה והחלפתם באלכוהול [2]. מניסיונו ומניסיון אחרים, הסיכוי לקבל פרופיל גנטי אינפורמטיבי בתנאים אלו, גם אם חלקי, הוא גבוה [7-9]. מצב אחר ייחודי לפרופילים גנטיים בתחום הפלילי הוא הופעת תערובות דנ"א, קרי, מצב שבו בדגימה אחת מתגלה יותר ממקור דנ"א יחיד [10, 11]. מצב זה אופייני מאוד לתקיפות מיניות שבהן חומרים ביולוגיים של שני אנשים נמצאים בתערובת, אולם גם בזירות פשיעה אחרות שכיח מצב שבו מספר אנשים נגעו באותו החפץ, או בחומר ביולוגי אחד, דם לדוגמה, שהתערבב עם דם, רוק, או תאי אפיתל של אחרים [10]. בחלק מהמקרים, תערובת הדנ"א מכילה שניים או שלושה תורמים אשר אחד מתבטא ביתר לעומת האחרים: במצב שבו נצפים יותר משני אללים בחלק או בכל האתרים בפרופיל, משמע כי מקור הדנ"א בדגימה כולל יותר מאדם אחד. מספר האללים ויחס הגובה ביניהם, מאפשרים ניתוח פרופילים גנטיים שמקורם בתערובות דנ"א, חלק ניכר מהתמחות המעבדות הפורנזיות הוא היכולת להבחין ולנתח נוכחות מרכיב משני גם כאשר תרומתו קטנה או זניחה יחסית למרכיב העיקרי בדגימה [10, 11].

המעבדה הביולוגית במרכז הלאומי לרפואה משפטית מטפלת בתיקי עבירות המתה בתחום הפלילי ובזיהוי גופות אלמונים. המעבדה מנהלת מערכת הבטחת איכות לפי תקן ISO 17025:2017 ומוסמכת על ידי הרשות להסמכת מעבדות, בנוסף, המעבדה מוכרת על ידי משרד הבריאות כמעבדה גנטית המורשית לביצוע בדיקות קשרי משפחה.

רישום חלקי, התקלפות של רישום או היעדר רישום, החלפת דגימות בין נבדקים, ערבוב דגימות או חוסר הקפדה על ניקוי כלי הדיגום אשר עלול להעביר שרידי רקמה ממוטפל אחד למטופל אחר, עלולים להתרחש. טעויות מסוגים מסוימים ניתנות לזיהוי בהתבוננות מיקרוסקופית: חוסר הלימה בין סוג הרקמה האמורה להימצא על התתקין אל מול הרקמה בפועל (לדוגמה, הימצאות רקמה מעי לעומת רישום של רקמת שד) מאפשר לרופא המאבחן לזהות בעיה, כנ"ל גם אם רקמות מסוגים שונים מצויות על גבי אותו תתקין באופן שאינו צפוי (לדוגמה, רקמת שליה ומעי יחד באותו תתקין).

לעומת זאת, החלפת דגימות מאותו סוג בין מטופלים שונים אינה ניתנת להבחנה בהתבוננות, כנ"ל גם לגבי ערבוב שתי דגימות, שמקורן באותו סוג משני נבדקים שונים. במקרים אלו, בהיעדר יכולת ויזואלית לזהות בעיה על גבי התתקין, עצם העלאת החשד כי קיימת בעיה וכי התתקין אינו משקף את דגימת הנבדק, היא קריטית. הסיבה העיקרית כיום שבגינה מופנים נבדקים לבירור היא חוסר הלימה בין מצבו הקליני של הנבדק לממצאים הפתולוגיים המתבטאים בתתקין. מכאן יוצא, כי עצם העלאת החשד וההחלטה על המשך הבירור נתונים לחלוטין בידיו של הרופא המטפל. שימוש באמצעים מולקולאריים עשוי לתת מענה לבירור הסוגיות הנ"ל באמצעות הפקת דנ"א מדגימות הרקמה המצויות על גבי התתקין והשוואת הפרופיל הגנטי המופק מהן לפרופיל שנקבע לנבדק עצמו. השוואה זו יש באמצעותה לאשש או לשלול את מקור הרקמה בנבדק או באדם אחר.

מעבדות דנ"א פורנזיות מתמחות בהפקת דנ"א ממגוון חומרים ביולוגיים, בין אם בדגימות שונות בזירת פשע (דם, רוק, זרע, תאי אפיתל) [3] ובין אם בדגימות שניטלו מגופות אלמונים לצורך זיהויים (ציפורניים, שריר, גיד, עצם, שיניים וכו'). במקרה האחרון מדובר על פי רוב במצבי ריקבון, שלדים או חלקי גופות אשר בשל מצבן הקשה אינן ניתנות לזיהוי באמצעים אחרים [4,3].

מטרת הבדיקה הפורנזית המולקולארית היא לזהות את מקור הדנ"א בדגימה על ידי השוואת פרופילים גנטיים בין דגימה שמקורה אינו ידוע (מוצג מזירת פשע או דגימת אדם אלמוני) לבין דגימה ידועה המשמשת כדגימת ייחוס. דגימות ייחוס עשויות להיות דגימה עצמית שנלקחה מקורבן העבירה, מחשודים או ממעורבים אחרים בחקירה הפלילית, ולחלופין, דגימות של בני משפחה מקרבה ראשונה (הורים, אחים, ילדים) משמשות אף הן כדגימות ייחוס.

דגימות רקמה השמורות בצורת בלוק פרפין או תתקין מיקרוסקופי משמשות לעיתים כדגימת ייחוס לזיהוי אלמונים עריריים: במקרים שבהם מתגלה גופת אדם אשר על פי נתוני החקירה המשטרית קיימת לגביה זהות משוערת, אך מצבו של המנוח אינו מאפשר זיהוי פנים (מצבי ריקבון או שלד) ואין בנמצא בני משפחה מקרבה ראשונה, ניתן לבצע זיהוי גנטי בהסתמך על דגימת רקמה (ביופסיה) שניטלה מאותו אדם טרם מותו. בהתאם לכך, הפקת דנ"א מבלוק פראפין או מתתקנים מיקרוסקופיים נעשית בשגרה במעבדות פורנזיות העוסקות בזיהוי אלמונים.

פרופיל גנטי המשמש לזיהוי פורנזי מתבסס על שכפול אתרים פולימורפיים בגנום האנושי הידועים כ-Short Tandem Repeats – STR's. אזורים אלו מאופיינים ברצף חוזרני ידוע,

**טבלה 1:**  
תוצאות הפרופילים הגנטיים

שם	FGA	D8 S1179	D12 S391	D21 S11	vWA	TH01	D2 S441	D10 S1248	D1 S1656	D18 S51	D16 S539	D22 S1045	D2 S1338	D19 S433	D3 S1358	Amel
נבדקת - פרופיל עצמי	24, 23	13, 12	17, 15	32.2, 30	18, 16	9.3, 7	11, 11	15, 13	15, 11	13, 12	12, 12	11, 11	24, 23	14, 13.2	17, 15	XX
רקמה בלוק 1*	(18) 24, 23	(16, 14) 13, 12	17, 15	32.2, 30	18, 16	(6) 9.3, 7	11, 11	(14) 15, 13	15, 11	(16) 13, 12	(9) 12, 12	11, 11	24, 23	14, 13.2	17, 15	XX
רקמה בלוק 2*	24, 23	13, 12	F, 15	32.2, 30	18, 16	9.3, 7	.N.7	F, 13	.N.7	13, 12	12, 12	F, 11	F, 23	F, 13.2	17, 15	XX
מוקד *HGD מתתקין 1*	23, 18	16, 14	18, 18	F, 30.2	16, 15	9.3, 6	14, 11	14, 14	14, 13	17, 16	11, 9	16, 15	19, 17	16, 13	15, 15	XY

**מקרא:**

ל.א. - ללא אפיון גנטי F - אלל יחיד - לא ניתן לקבוע הומוזיגוט או הטרוזיגוט (-) ערכים הרשומים בסוגריים נצפו בצורה חלשה יותר (=מרכיב משני).

פרופיל גנטי שמקורו בפרט ממין נקבה התקבל משתי דגימות הרקמה שנלקחו מכל אחד מהבלוקים (1; #2), פרופיל זה זהה לפרופיל שנבקע לנבדקת עצמה. הפרופיל שהתקבל מהרקמה בבלוק 1# מעיד על תערובת בשל המצאות יותר משני אללים בחלק מהאתרים בפרופיל (FGA; D8S1179; TH01; D10S1248; D18S51; D16S539).

מהפרופיל הגנטי שנבקע לפירור הרקמה נושא הדיספלסיה (HGD) אשר הופרד מהתקין עצמו (תתקין 1#) נמצא שמקורו בפרט ממין זכר (אפיון XY באתר קביעת המין), השונה מהפרופיל של הנבדקת. כל האללים המשניים שהתקבלו מהרקמה בבלוק 1# מופיעים בפרופיל שנבקע למוקד הדיספלסטי. הפרופיל שהתקבל מבלוק 2# חסר בחלק מהאתרים אלל אחד (ראה אתרים המסומנים ב-"F"), או שני אללים (ראה אתרים מסומנים "ל.א.") דבר הצפוי להתרחש בשל פירוק הדנ"א בבלוק, יחד עם זאת הפרופיל אינפורמטיבי במידה מספקת על מנת לבצע השוואה.

למעבדה נמסרו שני בלוקים ושני תתקינים תואמים, בכל אחד מהבלוקים/ תתקינים 6 פירורי רקמת מעי (תמונה 1). מהנבדקת נלקחה דגימת תאי לחי ששימשה כדגימת ייחוס לצורך קביעת הפרופיל הגנטי (טבלה 1).

במעבדה ההיסטולוגית בוצעו פעולות מקדימות בטרם חיתוך הבלוקים במטרה להפטר משרידי רקמה או דנ"א אשר עלולים לעבור אל הדגימות נשואות הבדיקה. אמצעים אלה כללו את ניקוי מכשיר המיקרוטום, פינצטות ומשטחי העבודה באקונומיקה ומים וכן החלפת סכין חיתוך חדשה. סדרה של חתכים, כל אחד בעובי של 3-5 מיקרון, נחתכו מכל אחד מהבלוקים בנפרד והועברו למבחנות אפנדורף נקיות, מסומנות, מוקרנת ב-U.V. במעבדה הביולוגית החל הליך הפקת הדנ"א מהחתכים: שרידי הפראפין הומסו בתמיסת Histochoice (Amresco, MA, USA) ולאחר מכן נלקחו להפקת דנ"א ב-Chelex [12]. כל תהליכי העבודה בוצעו בהתאם לנהלי המעבדה: כימות דנ"א בוצע בערכת Quantifiler Trio (ThermoFisher, USA), קביעת הפרופיל גנטי בוצע בשתי הערכות: Powerplex 16 ESI Fast; הפרופיל גנטי בוצע ב-Promega, WI, USA) Powerplex 16 ESX.

אפיון הפרופיל הגנטי בוצע ב-Genetic Analyzer 3500xl, וניתוח הפרופיל בוצע בתוכנת GeneMapper ID-X ver.1.4. מכל אחת מהרקמות משני הבלוקים התקבל פרופיל גנטי של פרט ממין נקבה התואם לנבדקת (טבלה 1). בפרופיל שהתקבל מאחד הבלוקים (1#) נמצאה תערובת דנ"א שמקורה ביותר מאדם אחד. תערובת הדנ"א מראה כי קיימים שני מקורות דנ"א בדגימה שהופקה מחתך הרקמה שכלל את ששת הפירורים, והיא כוללת מרכיב עיקרי התואם לנבדקת ומרכיב משני שכמותו מועטה מאד והוא מתבטא בחלק מן האתרים בפרופיל (תמונה 2, טבלה 1). לצורך המשך פענוח מקורות רקמה על הבלוק, המעבדה פנתה לרופא משפטי בכיר אשר מסיים במקביל התמחות בפתולוגיה, כדי לוודא האם הנגע הדיספלסטי המתואר בטופס הפניה מופשט על פני מספר פירורים בבלוק או שהוא ממוקד כולו בפירור אחד בלבד.

**תמונה 1:**

תתקין מעי - לפני ואחרי הסרת פירור רקמה נושא HGD



שישה פירורי רקמה התקבלו במקור על פני תתקין המעי (ר' ו' א'). בבדיקה מיקרוסקופית נמצא כי פירור אחד בלבד מכיל נגע סרטני מסוג HGD, הפירור סומן בטוש ע"ג הזכוכית ו' א', חתך עליון שמאליו. לצורך הפקת דנ"א הוסרו הפירורים הנגועים משלושת החתכים על גבי התתקין. צילום התתקין לאחר הסרת הנגע מראה את היעדר הפירורים ממיקומם המקורי (ר' ו' ב').

**מפרשת החולה**

למעבדות המרכז הלאומי לרפואה משפטית הופנתה נבדקת לאחר קולונסקופיה: באחד משני תתקיני המעי של הנבדקת נמצא נגע מסוג High Grade Dysplasia (HGD). לנוכח היעדר סימנים קליניים כלשהם, מטרת הפניה הייתה לבחון האם הרקמה על גבי התתקינים אכן שייכים לאותה נבדקת.

# K-CITEK

פוטסיום ציטראט מפחית ב-93%  
היווצרות אבני כליה חדשות<sup>1</sup>

הקפליה של הדור הבא  
כי היענות המטופל חשובה!

- ✓ קטנה יותר
- ✓ ללא טעם לוואי
- ✓ מתמוססת בשלמותה ואינה נראית ביציאה



כל קפליה מכילה 1,080 מ"ג של Potassium Citrate בשחרור מושהה

\* תוסף תזונה

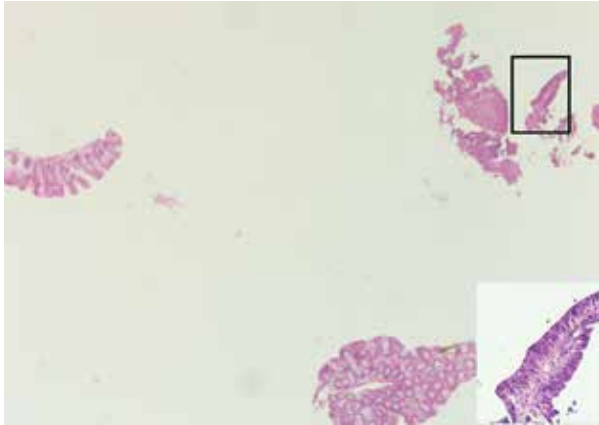
1. Impact of Long-Term Potassium Citrate Therapy on Urinary Profiles and Recurrent Stone Formation. Marnie R. Robinson et al. The Journal of Urology, March 2009.



[www.k-citek.co.il](http://www.k-citek.co.il) | [www.meditec.co.il](http://www.meditec.co.il) | 1-800-800-678

**תמונה 3:**

תמונה מיקרוסקופית של תתקין מעי



מספר קטעי רקמת מעי הנראים תקינים, מתוכם מקטע אחד מכיל High Grade Dysplasia (הגדלות x18, x2).

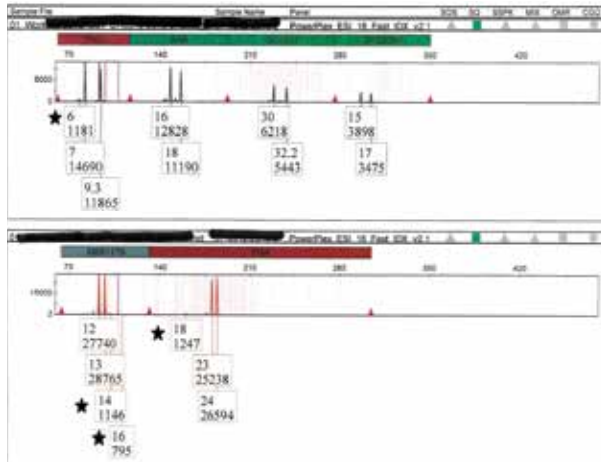
האפשרות לבצע בירור מולקולארי לזיהוי מקור הרקמה בבלוקים/תתקינים עשויה להיות לעזר רב במקרים שבהם עולה ספק. לצורך הבדיקה, יש לספק למעבדה את כל הבלוקים והתתקינים המיקרוסקופיים מהליך הבדיקה המדובר, במטרה לאפשר מגוון אפשרויות להפקת דנ"א. גמישות זו מגדילה את הסיכוי להצלחת קביעת הפרופיל הגנטי ומגבירה את יכולת המעבדה להגיע לתוצאות.

במקרה הנוכחי, הפקת הדנ"א הראשונה כללה את ששת פירורי הרקמה במטרה לבחון את כלל הדנ"א בדגימה: הופעת התערובת של המרכיב הנקבי העיקרי יחד עם מרכיב משני מועט העידה כי בבלוק קיים יותר ממקור דנ"א אחד. גילוי זה התאפשר בזכות השימוש בטכנולוגיות המותאמות לממצאים פורנזיים. הצורך לזהות כמויות דנ"א קטנות מאוד הכרחי בתחום הפורנזי כאשר לא אחת הממצאים הקריטיים בתיקי חקירה פלייליים מסתמכים דווקא על המרכיב המשני. במקרה זה, קיומו של המרכיב המשני מעיד על בעיה בהכנת התתקין, אולם יש להכיר בכך שעצם זיהוי מרכיב דנ"א כה מועט אינו מובן מאליו ואינו בהכרח יצליח בתהליכים שאינם פורנזיים. ההתאמה בין הממצא הפתולוגי של פירור דיספלסטי אחד (ועוד חמישה פירורי רקמה תקינים), לממצא המולקולרי של מקור דנ"א אחד מועט (ועוד מקור דנ"א עיקרי) מעידה כי מרבית הרקמה התקינה היא של המקור המרכזי הנקבי, שנמצא תואם לנבדקת. המשך הבירור המולקולארי שהתאפשר על ידי הפקת הדנ"א מהנגע בלבד כבר איפשר לקבוע בוודאות כי מקור הנגע הזר אינו בנבדקת.

אחת האפשרויות שיש להביא בחשבון, עם קבלת תוצאות המעידות על תערובת דנ"א ברקמות שניטלו במסגרת אבחון פתולוגי, היא כי מקור הדנ"א הזר הוא למעשה הופעה של שינויים גנומיים נרכשים שהתקבעו בתאי השאת (tumor) עצמה, בגין השפעת ההליך הסרטני. האתרים הפולימורפיים המשמשים לצרכים הפורנזיים עלולים להיות מושפעים מהליכים ניאופלסטיים שידוע כי יש ביכולתם לערער את היציבות הגנטית בתאים [15]. מופעים אופייניים להשפעות אלו הם מצב של איבוד מופע הטרוזיגוטי לטובת הומוזיגוטי,

**תמונה 2:**

ערובת דנ"א בדגימת מבלוק רקמה #2



בתמונה מוצגים 6 אתרים (מתוך 15), בכל אחד מהם שני אפיונים גנטיים (אללים) בעלי גובה דומה זה לזה (ציר ה-Y ביחידות פלורסנטיות). במספר אתרים נצפים בנוסף לזוג האללים המרכזי, אלל אחד, או שניים, בגובה נמוך באופן משמעותי ומסומנים בכוכבית. אללים אלו, שגובהם מעל סף הקריאה הנהוג במעבדה מהווים מרכיב גנטי נוסף שכמותו קטנה ביחס למרכיב המרכזי ואלל "6" באתר TH01, אללים "14", "16" באתר D8S1179, אלל "18" באתר IFGA.

לשאלה זו משמעות ניכרת: אם הנגע מפוּשט במספר פירורים הרי שמקור הנגע הוא בנבדקת, שכן היא עצמה מהווה את מרכיב הדנ"א העיקרי בדגימה. לעומת זאת, אם הנגע המרוכז בפירור אחד בלבד, אזי ייתכן כי זהו המקור למרכיב המשני בתערובת.

בדיקת התתקין על ידי רופא משפטי איששה כי הנגע הדיספלסטי ממוקד על פירור אחד בלבד מתוך השישה, לבקשת המעבדה סומן הנגע על גבי התתקין (תמונה 1, 3). בניסיון לבודד את הפירור הדיספלסטי מתוך הבלוק נמצא, כי לא נותרה עוד רקמה נראית לעין. האפשרות היחידה שנתרה היא הסרת הזכוכית המכסה וגירוד הפירור הנגוע מתוך 3 החתכים על פני התתקין (תמונה 1). מהפקת דנ"א וקביעת פרופיל גנטי שנעשו לפירור המכיל HGD נמצא כי מדובר בפרט ממין זכר (טבלה 1). כל האללים המועטים אשר נמצאו כתורם משני בתערובת מבלוק #1 תאמו לפרופיל שמקורו באותו זכר (טבלה 1).

**דיון**

החשש מטעות באחד משלבי העבודה הכרוכים בדגיגום רקמה ועיבודה, וכן החשש מאבחון שגוי, נובעים מריבוי הבדיקות, מריבוי השלבים בתהליך ומהיעדר היכולת לזהות בבחינה מיקרוסקופית חלק מהטעויות שעלולות להתרחש. דיווחים בספרות מצביעים על מספר צמתים מרכזיים שבהם עלול ההליך להשתבש: הדיגום העלול לגרור דגימה שמקורה בנבדק אחד לנבדק אחר, הליכי חיתוך הבלוק, ההשריה באמבט המים ובעיקר אמבט הצביעות [13,14]. הערכות זהירות המופיעות בספרות קובעות כי הסיכוי להתרחשות טעויות באחד משלבים אלה נאמד ב-0.3%-6% ל-[13,14].

נתונה בידיהם של הגורמים המטפלים במגוון ההתמחויות הפתולוגיות והאונקולוגיות בבתי החולים והמרכזים הרפואיים בישראל. התמחות המעבדה הביולוגיות הפורנזית, בשיתוף הרופאים המשפטיים, הופכת את המרכז הלאומי לרפואה משפטית לגורם משמעותי ביכולת לסייע לאבחון טעויות במקרים דומים.

**אחרית דבר: המכון לרפואה משפטית דיווח למשרד הבריאות אודות קרות האירוע ובהמשך נפתח תחקיר לבירור הנסיבות. במסגרת התחקיר, אותר גבר אשר לגביו עלתה האפשרות כי הוא המקור של פירור הרקמה הנגוע אשר התווסף לבלוק הרקמות של הנבדקת. עם קבלת דיגמה מקורית מאותו אדם, בוצעה הפקת דנ"א וקביעת פרופיל גנטי אשר איששו סופית את היותו המקור ל-HGD.**

מחבר מכותב: נורית בובליל

טלפון: 03-5127833

פקס: 03-5127835

דוא"ל: nurit.bublil@forensic.health.gov.il

בין אם בשל חוסר איזון בין האללים ועד לאיבוד אלל אחד מתוך השניים, ובין אם בשל חוסר יציבות של אתרי ה-STR על ידי הוספה או הפחתה של חזרה אחת של היחידה החוזרנית [16,15]. החשש כי מצבים אלה יובילו לאבחון שגוי, מחייב הכרות עם המאפיינים השכיחים המייצרים תמונת פרופיל שונה בין רקמה נגועה לרקמה תקינה של אותו האדם עצמו. יחד עם זאת, באף מקרה לא מתואר מצב של קבלת פרופיל חדש, שונה באופן מובהק הכולל שינויים משמעותיים של הופעת אללים חדשים לחלוטין או שינוי כלל הפרופיל של הרקמה – כפי שהתקבל במקרה הנוכחי [16,15].

## לסיכום

הצלחת הבירור הגנטי במקרה הנדון נבעה מהתאמת השיטות המשמשות במעבדה הפורנזית לזיהוי שרידים של דנ"א שמקורם זר ביחס לכמות דנ"א רבה שמקורה בנבדקת, תוך התגברות על הפרעות שמקורן באיכות הדנ"א הירודה של שני התורמים. ניתן להניח כי הבירור המולקולארי חסך לנבדקת הליכי טיפול קשים, שייתכן והיו נדרשים להם שלא לצורך. ההפניה לבירור

## ביבליוגרפיה

1. <https://www.health.gov.il/UnitsOffice/HD/ICDC/ICR/Pages/publications.aspx>
2. Suvarna K, Layton C & Bancroft J, Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 8<sup>th</sup> ed. Elsevier. Burlington MA.
3. Butler J, Forensic DNA Typing: Biology, Technology, and Genetics of STR Markers. 2 ed. 2005. Elsevier. Burlington MA.
4. Bublil N, Kahana T, Shenfeld M & al, Identification of Unknown Cadavers - Multidisciplinary Approach. Harefuah. 2013;152(10):2-5.
5. Niland EE, McGuire A, Cox MH & Sandusky GE, High quality DNA obtained with an automated DNA extraction method with 70+ year old formalin-fixed celloidin-embedded (FFCE) blocks from the indian medical history museum. Am J Transl Res. 2012;4(2):198-205.
6. Budowle B, Eisenberg AJ & van Daal A, Validity of Low Copy Number Typing and Applications to Forensic Science. Croat Med J. 2009; 50:207-17.
7. Kokkat T, Patel MS, McGarvey D & al, Archived Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) Blocks: A Valuable Underexploited Resource for Extraction of DNA, RNA, and Protein. Biopreserv Biobank. 2013; 11(2): 101-106.
8. Staiti N, Di Martino D & Saravo L, A novel approach in personal identification from tissue samples undergone different processes through STR typing. Forensic Sci Int. 2004 2;146 Suppl:S171-3.
9. Hunt JL, Swalsky P, Sasatomi E & al, A microdissection and molecular genotyping assay to confirm the identity of tissue floaters in paraffin-embedded tissue blocks. Arch Pathol Lab Med. 2003;127(2):213-7.
10. Buckleton JS, Bright JA & Taylor D (Eds), Forensic DNA Evidence Interpretation. 2ed 2016. Apple Academic Press Inc, Oakville Canada.
11. Frederick RB, Buckleton JS, Budowle B & al, Evaluation of forensic DNA mixture evidence: protocol for evaluation, interpretation, and statistical calculations using the combined probability of inclusion. BMC Genetics 2016; 17:125.
12. Walsh PS, Metzger DA & Higuchi R, Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. 1991; 10:506-13.
13. Hunt JL, Identifying cross contaminants and specimen mix-ups in surgical pathology. Adv Anat Pathol. 2008 Jul;15(4):211-7.
14. Platt E, Sommer P, McDonald L & al, Tissue floaters and contaminants in the histology laboratory. Arch Pathol Lab Med. 2009;133(6):973-8.
15. Filoglu G, Bulbul O, Rayimoglu G & al, Evaluation of reliability on STR typing at leukemic patients used for forensic purposes. Mol Biol Rep. 2014 Jun;41(6):3961-72.
16. Ananian V, Tozzo P, Ponzano E & al, Tumoural specimens for forensic purposes: comparison of genetic alterations in frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tissues. Int J Legal Med. 2011;125(3): 327-32. doi: 10.1007/s00414-010-0443-7.