

УДК 340.6 - 343.146 - 57.083.

© Коллектив авторов, 2013.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭТАНОЛА НА АНТИГЕНЫ А, В, Н ПРИ УСТАНОВЛЕНИИ ГРУППОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ ПО ИЗОСЕРОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ АВО КАК ОДНОГО ИЗ ЭТАПОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛИЧНОСТИ

Н.Н. Ажицкая, Н.Б. Голубинская, С.В. Тищенко, Н.В. Смуглова

Крымское Республиканское Учреждение «Бюро судебно-медицинской экспертизы», г. Симферополь.

STUDY OF ETHANOL INFLUENCE ON ANTIGENS A, B, H IN THE ABO BLOOD GROUP SYSTEM DETERMINATION AS A STAGE OF PERSONALITY IDENTIFICATION

N. N. Azhitskaya, N. B. Golubinskaya, C. V. Tishchenko, N. V. Smuglova

SUMMARY

Inversely proportional dependency of manifestation of the blood antigen specific properties in the ABO system (a quantitative indicator of antigenic determinants on erythrocytes) on the amount of ethanol promille in the blood has been shown and methods to eliminate the alcohol influence on the blood antigenic structure has been suggested. The methods for determining the blood groups in the liquid state, the absorption reaction in the quantitative modification – Quantitative Agglutinin-absorption Test, and the reaction of absorption-elution (AER) were used in the study.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕТАНОЛУ НА АНТИГЕНИ А, В, Н ПРИ ВСТАНОВЛЕННІ ГРУПОВОЇ НАЛЕЖНОСТІ КРОВІ ЗА ІЗОСЕРОЛОГІЧНОЮ СИСТЕМОЮ АВО, ЯК ОДНОГО З ЕТАПІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ОСОБИСТОСТІ

Н. Н. Ажицька, Н. Б. Голубинська, С. В. Тищенко, Н. В. Смуглова

РЕЗЮМЕ

Показана обернено-пропорційна залежність ступеня вираженості специфічних властивостей антигенів крові за ізосерологічною системою АВО (кількісного показника антигенних детермінант на еритроцитах) від кількості проміле етанолу в крові та запропоновано методи усунення впливу алкоголю на антигенну структуру крові. У ході дослідження використовувалися методики визначення групи крові в рідкому вигляді, реакція абсорбції в кількісній модифікації – КРА, реакція абсорбції-елюції – РАЕ.

Ключевые слова: антигенная детерминанта, этанол, специфичность антигенов, патологические антигены, алкогольная интоксикация.

Определение групповой принадлежности крови по изосерологической системе АВО является одной из важных составляющих процесса идентификации личности. Однако в практической экспертной деятельности не всегда удается установить групповую принадлежность крови по ряду причин, одна из них – влияние алкоголя на антигены крови.

Группой судебно-медицинских экспертов было проведено исследование по установлению влияния алкоголя на антигенную составляющую крови изосерологической системы АВО. Исследованы более 100 случаев, подтверждённых патологоанатомическим, гистологическим и токсикологическим методами.

Морфологические изменения во внутренних органах при алкогольной интоксикации вызываются рядом компенсаторно-приспособительных реакций, направленных на сохранение гомеостаза путем выравнивания возникших нарушений гемодинамики и обмена. Эти изменения складываются из расстройств кровообращения во внутренних органах, дистрофических (деструктивных) процессов. Дей-

ствие этилового алкоголя на внутренние органы связано и с прямым его гистотоксическим воздействием на ткани.

При высоких же концентрациях алкоголя можно было обнаружить не только явления отека, но и переваскулярные диапедезные кровоизлияния, которые наиболее часто встречались в ткани головного мозга и носили распространенный характер, захватывая как полушарные, так и ствольные отделы мозга. Реже они встречались в миокарде, надпочечниках, локализуясь в корковом веществе последнего, иногда в печени. С исключительным постоянством кровоизлияния можно было обнаружить в ткани лёгкого, где в просвете расширенных альвеол наряду с белковой жидкостью отмечались обильные скопления эритроцитов [6].

Нарушение кровообращения в органах способствует развитию в них дистрофических процессов, связанных с нарушением обмена веществ в целом организме при алкогольной интоксикации, а также с непосредственным гистотоксическим действием алкоголя на ткани. Степень выраженности дистро-

фических процессов зависит от уровня алкоголя в крови и органах. При низких концентрациях алкоголя, до 2%, данные виды дистрофии, отображая нерезко выраженные проявления интоксикации, являются обратимыми, тогда как более высокие концентрации алкоголя в крови и в исследуемых органах (свыше 4%) приводили к грубым, порой необратимым изменениям морфологических структур.

Антигены А, В, Н изосерологической системы АВО не являются собственно генами как таковыми. Это сложная биохимическая структура, формирование которой кодируется определенными генами на раннем этапе эмбрионального развития плода и качественно остается неизменной на протяжении всей жизни. Однако количественный показатель (титр антигенов А, В, Н) на протяжении жизни не одинаков. На момент рождения и в преклонном возрасте титр антигенов низкий. На протяжении жизни титр антигенов, а, следовательно, их выявляемость также может изменяться под действием ряда причин (на фоне таких заболеваний, как туберкулез, онкологические, системные заболевания, и др.; острые и хронические интоксикации различной этиологии, в том числе и отравления этанолом).

Роль печени в процессе становления антигенной структуры крови в постнатальном периоде является ключевой, именно поэтому токсическое воздействие этанола на печень является главной причиной изменения степени выявляемости антигенов А, В, Н как следствие нарушения синтеза трансферраз А и В, ответственных за формирование антигенов эритроцитов системы АВО. А это в свою очередь ведет к ослаблению или полной утрате антигенных детерминант на эритроцитах. Это и является причиной снижения титра антигена (вплоть до полного отсутствия поглощения) при постановке реакции абсорбции в количественной модификации; и невыявления антигенов А, В, Н при постановке реакции абсорбции-элюции.

При исследовании в 65% случаев наблюдалась жировая дистрофия печени. Смерть от жирового гепатоза печени развивается в результате гепатотоксического действия этанола, которое приводит к печеночной недостаточности. Морфологические признаки острого отравления алкоголем выявляются и в других органах и тканях

При исследовании патоморфологии печени при остром отравлении этиловым алкоголем только при высоких концентрациях этанола в крови были обнаружены признаки истинной печеночно-клеточной недостаточности легкой степени, синтетическая функция гепатоцитов полностью сохранена при легкой и средней степени опьянения.

Наиболее характерными ультраструктурными признаками острого токсического воздействия на печень при смертельной алкогольной интоксикации являются резкая гидратация цитоплазмы гепатоци-

тов, набухание и деструкция митохондрий, наличие мелких липидных включений в сочетании с гиперплазией и деструкцией эндоплазматического ретикулаума, некробиоз и некроз клеток.

Была замечена зависимость изменения агглютинабельной способности антигенов (снижение степени выраженности специфических свойств антигенов) от высоких цифр алкоголя в крови при остром отравлении алкоголем и при хронической алкоголизации. Для понимания механизма воздействия этанола и его метаболитов на степень выявляемости антигенов крови следует осветить ряд иммунологических аспектов.

По структуре антигены А, В и Н являются гликолипидами и гликосахаридами [5]. У всех трех антигенов имеются три детерминанты, различные в терминальных сахарах, прикрепленных к основной цепи (фукозы): 6-фруктоза – у антигена Н; 0С-61-ацетилгалактозамин – у антигена А; 0-галактоза – у антигена В. Антигены системы АВО представлены на эритроцитах сложными химическими структурами - гликолипидами и гликопротеинами, при этом различия антигенов АВО определяются концевыми гликозодными остатками, прикрепленными олигосахаридными цепочками [1]. Различия внутри олигосахаридных цепочек также существуют и определяют оригинальное строение А и В антигенов у индивидов. Поэтому важно, чтобы стандарты, применяемые для выявления антигенов, содержали широкий спектр антител, взаимодействующих не только с концевым гликозодом, но и структурами, входящими в олигосахаридные цепочки.

Количество антигенных детерминант на эритроцитах различных индивидов колеблется в пределах 810000-1170000 на эритроцит [4]. Плотность антигенных мест является наследственным свойством индивида и определяет активность с соответствующими сыворотками при определении групп крови. Чем больше антигенных детерминант присутствует на эритроцитах, тем активнее они вступают в реакцию агглютинации с антителами. При ряде патологий приобретается В-подобный антиген, так называемый приобретенный В-антиген обусловлен изменением структуры специфических сахаров под действием бактериальных ферментов, в следствие чего у людей с группой крови А на мембране эритроцитов формируется антиген В. Механизм образования таков: под действием бактериальных ферментов (ацетилазы, нейроменидазы) от антигена А отщепляется N-ацетилгалактозамин. В результате чего антиген А становится похожим на антиген В. Причем в сыворотке крови данного индивида имеется агглютинин анти-В, который не взаимодействует с приобретенным антигеном В. Авидность приобретенного антигена В значительно ниже. При ряде патологий (в том числе и при хроническом алкоголизме) в крови может появиться так называемый антиген Т[4].

Авидность антител – характеристика общей стабильности комплекса антиген-антитело [8]. Авидность определяется аффинностью антитела к антигену, количеством антигенсвязывающих центров в молекуле и особенностями пространственной структуры антигена, создающими стерические препятствия для создания комплекса. Авидность антитела следует отличать от аффинности, так как аффинность является термодинамическим параметром, количественно описывающим силу единственного взаимодействия антигена и антитела.

Аффинитет – это прочность соединения антиген-антитело, является обратимым, что доказано с помощью спектрополяриметрии и других физико-химических методов (взаимодействие антитела с молекулой антигена сопровождается изменением пространственной структуры антигена, то есть изменяется конформационная перестройка молекулы антигена)[3].

Выделяют две фазы при образовании комплекса антиген-антитело (различающихся по механизму образования и скорости): 1) специфическая фаза. На этом этапе происходит взаимодействие активного центра антитела с соответствующими группами антигена; 2) неспецифическая фаза - визуально наблюдаемая реакция (в том числе агглютинация и преципитация) при определенных условиях. Первая фаза может осуществляться, а вторая – нет. Первая фаза всегда протекает быстро, а вторая иногда очень медленно.

Алкоголь не может быть ни антигеном, ни аллергеном. Антигенная детерминанта не может быть образована из-за строения молекулы алкоголя и из-за ее размера, поэтому комплекс антиген/антитело не образуется [7]. Каким же образом алкоголь влияет на антигенную структуру крови? Можно выделить три основных пути влияния:

- этанол и его метаболиты вызывают снижение аффинитета на второй, неспецифической фазе. В этом случае при установлении групповой принадлежности крови с помощью серологических реакций, применяемых в судебно-медицинской иммунологии, возможно наблюдение отсутствия агглютинации стандартных тест-эритроцитов;

- также алкоголь оказывает ряд воздействий на организм, в том числе усиливает проницаемость кишечной стенки, к тому же являясь прекрасным растворителем, вводит в кровь массу аллергенов из кишечника. В кишечнике присутствуют бактерии, несущие те же антигенные детерминанты, что и эритроциты (так называемые гетерофильные антигены). В частности -антигены кишечной палочки схожи с антигенами III группы [3]. На этом этапе возможно появление приобретенного антигена В (механизм образования которого описан выше)[2]. При установлении групповой принадлежности крови с помощью серологических реакций, применяемых в судебно-медицинской иммунологии, возможно на-

блюдение неспецифической агглютинации с сывороткой анти-В;

- при хронической алкоголизации происходит в частности токсическое воздействие на печень, возникает нарушение иммунологических реакций и появление патологического антигена Т. При установлении групповой принадлежности крови с помощью серологических реакций, применяемых в судебно-медицинской иммунологии, возможно наблюдение панагглютинации.

Целью нашей работы явилось изучение влияния этанола в крови на степень выраженности специфических свойств антигенов изосерологической системы АВО.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мы провели проведено 100 исследований по установлению группы крови по изосерологической системе АВО у трупов лиц, в крови которых процентное содержание алкоголя составляло 2 и более промилле.

Материалом для настоящего исследования послужила жидкая кровь, взятая от трупов лиц с опьянением по Бережному относительно к живым лицам, соответствующим: средней степени тяжести (5 образцов); сильное (50 образцов); тяжелое (40 образцов); смертельное (5 образцов). В ходе исследования использовались общепринятые методики определения группы крови в жидком и сухом виде: реакция абсорбции в количественной модификации – КРА, реакция абсорбции-элюции – РАЭ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из всего количества исследований было обнаружено, что степень выявляемости антигенов (способность агглютиногенов исследуемого материала связываться с агглютининами тест-сывороток); их сила (снижение титра сыворотки при постановке реакции абсорбции в количественной модификации – КРА) находится в обратно пропорциональной зависимости от количества промилле алкоголя в крови: чем выше концентрация алкоголя в крови, тем ниже агглютинабельная способность антигенов, ниже их степень выявляемости (таблица 1).

Причем, при очень высоких цифрах алкоголя (более 6‰) в жидком виде наблюдался гемолиз тест-эритроцитов, а при последующем исследовании этих образцов крови, высушенных на марле, отмечается значительное снижение силы антигена (31% от всего количества исследований в этой группе – 2 степени поглощения в КРА; 18% – 1 степень поглощения в КРА; 8% – 3 степени поглощения в КРА). При хронической алкоголизации отмечается снижение силы антигена в КРА и появление неспецифической агглютинации в РАЭ. В случае, когда группу крови не удастся установить общепринятыми методиками обязательно следует выяснить по данным судебно-токсикологического анализа и судебно-медицинско-

го исследования трупа имело ли место острое или хроническое отравление этанолом у умершего.

Таблица 1

Зависимость силы антигена от количества промилле этанола в крови

Функциональная оценка алкоголя в крови по Бережному в ‰	Кол-во исследований в %	% установленная группы крови (ABO) в жидком виде	Сила антигена при исследовании крови в сухом виде		
			Слабый антиген *	Средний антиген **	Сильный антиген ***
Опьянение средней степени тяжести (1,5 - 2,5 ‰)	5	80	29	21	50
Сильное опьянение (2,5 - 3‰)	50	45	60	27	13
Тяжелое отравление алкоголем (3 - 5‰)	40	20	60	20	20
Смертельное отравление (более 6‰)	5	0	50	45	5

Примечание:

* – 2 степени поглощения в КРА для антигенов А и В, менее 4 ступеней для антигена Н;

** – 3 ступени поглощения в КРА для антигенов А и В, 6 ступеней для антигена Н;

*** – более 4 ступеней поглощения в КРА для антигенов А и В, более 7 ступеней для антигена Н.

Таблица 2

Способы устранения влияния алкоголя при установлении групповой принадлежности крови по изосерологической системе ABO

Причина	Результаты исследования	Способы устранения
1. Исследование жидкой крови 1.1. ослабление (утрата) антигенных детерминант на эритроцита 1.2. патологический антигена Т, патологический антиген В	1.1. отсутствие агглютинации тест-эритроцитов 1.2. панагглютинация	трехкратно промыть эритроциты физиологическим раствором хлористого натрия;
2. Исследование крови, высушенной на марле 2.1. ослабление (утрата) антигенных детерминант на эритроцитах 2.2. образование второй-неспецифической фазы аффинитета 2.3. патологический антигена Т, патологический антиген В	2.1. отсутствие агглютинации 2.2. неспецифическая агглютинация 2.3. выявление неспецифического антигена В	2.1. применять методики, применяемые для выявления слабых антигенов 2.2. следует укорачивать сроки абсорбции; 2.3. применение раствора трипсина

При наличии алкогольной интоксикации применяются способы устранения влияния алкоголя на антигенную структуру крови в зависимости от конкретного случая, указанные в таблице 2.

ВЫВОДЫ

Этанол, не являясь антигеном, способен влиять на степень выраженности специфических свойств изоантигенов крови (на количественный показатель антигенных детерминант на эритроцитах). Причем степень выраженности изменений находится в обратном - пропорциональной зависимости от количества промилле этанола в крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойд У. Основы иммунологии: пер. с англ. – Москва: Мир, 1969. – 647 с.
2. Бочков Н. С. Выявление антигенов в свежих следах при патологии // Перспективы меди-

цинской генетики / Под ред. Н. С. Бочкова. – М., 1982. – С. 395 - 398.

3. Галактионов В. Г. Иммунология. – Москва: изд. МГУ, 1998. - 479 с.

4. Липунова Е. А. Физиология крови: моногр. исслед. / Е. А. Липунова, Скоркина М. Ю. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2007. – 324 с.

5. Минеева Н. В. Группы крови человека. Санкт-Петербург, 2004. – 188с.

6. Пермяков А. В. Патоморфология и танатогенез алкогольной интоксикации / А. В. Пермяков, В. И. Витер. – Ижевск: Экспертиза, - 2002. - 91 с.

7. Потапов М. И. О судебно-медицинской номенклатуре органотканевых антигенов. СМЭ. - 2001. - №2. – С. 26 -27.

8. Ройт Л. Иммунология: пер. с англ./ Л.Ройт, Дж. Брюсстофф, Д. Мейл, - Москва: Мир, 2000. -592с.