

Włodzimierz Gut

Wpływ czynników pozaanalitycznych na wynik sądowej analizy chemiczno – toksykologicznej i jego interpretację. Część II. Stan materiału do badań toksykologiczno – sądowych i jego wpływ na wynik analizy.

The influence of extra-analytical factors on the results of a forensic chemico-toxicological analyses and their interpretation. Part II. The condition of the material for forensic, toxicological examination and its influence upon the result of the analysis.

Institut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dr Jana Sehna w Krakowie.
Dyrektor A. Głazek

W kolejnej części pracy przedstawiono wpływ jakości materiału do badań toksykologiczno – sądowych na wyniki analiz i ich interpretację w opiniach dla potrzeb organów procesowych. Zwrócono uwagę na następujące elementy wpływające na wyniki analiz i ich ocenę: naczynia do transportu i przechowywania materiału, sposób jego pobrania, stopień zaawansowania rozkładu materiału, zmian zawartości wody, dopływ powietrza i światła oraz ilość dostarczonego do badań materiału. Podobnie jak w części poprzedniej, ilustrowano omawiane elementy przykładami z praktyki ekspertowskiej oraz przedstawiono propozycje rozwiązań zmierzających do poprawy stanu rzeczy.

In the next part of paper influence of the quality of the material for the forensic, toxicological examination upon the results of the analyses has been presented, as well as their interpretation in expert's opinions for court purposes. A particular attention was paid to the following elements influencing the results of the analyses and their evaluation: vessels used for the transportation and storage of the material, the mode of its preservation, the condition of material decay, changes in water content, exposure to air and light and the quantity of the examination material. As in the previous part the discussed elements have been illustrated by examples from expert's practice and suggestions aiming at improving the state of affairs have been put forward.

WSTĘP

Stan obiektu badania analitycznego, podobnie jak informacja o nim, stanowi także poważne źródło problemów analitycznych. O ile jednak przepływ informacji zależy od jakości pracy organów ścigania i działań operacyjnych, to jakość materiału do badań zależy tylko po części od wymienionych służb i dotyczy dowodów rzeczowych z miejsca zdarzenia oraz materiału środowiskowego. W przypadku materiału sekcyjnego, zależy zarówno od prowadzącego sekcję medyka sądowego, osoby zabezpieczającej materiał biologiczny i odpowiedzialnej za jego dostarczenie do zakładu wykonującego analizę toksykologiczną.

Podobnie jak w części I, wymienione w opracowaniu elementy decydujące o jakości materiału, uzupełniono, przykładami z praktyki ekspertowskiej.

ELEMENTY STANOWIĄCE O JAKOŚCI MATERIAŁU DO BADAŃ

Wśród wielu źródeł błędów przedanalizacyjnych związanych z jakością prób materiału do badań, za istotnie rzutujące na końcowy wynik analizy toksykologicznej należy uznać

1. Naczynia i sposób zabezpieczenia materiału do badań

Naczynia w których zabezpieczono próby materiału do badań toksykologicznych mogą nastręczać znaczne kłopoty w przypadku jeżeli składniki tego naczynia będą oddziaływać w jakikolwiek sposób z przechowywaną w nim próbką. Ogólnie przyjmuje się, że najlepszym materiałem na naczynia do zabezpieczenia prób do badań toksykologicznych jest szkło. W większości przypadków należy się z tym zgodzić. Warunkiem jednak jest bezwzględnie wymagana czystość tych naczyń, szczelne zamknięcie czystą, nie reagującą z materiałem zakrętką. Już w przypadku prób materiału środowiskowego badanego np. na śladowe ilości pierwiastków wybór szkła nie musi być wyborem optymalnym (możliwa adsorpcja na szkło lub rozpuszczanie składników szkła). Podobnie w przypadku zabezpieczenia materiału dowodowego posiadającego skrajne odczyny pH, przy zastosowanych zamknięciach metalowych w których fragmenty zniszczonej emalii odstaniają nie zabezpieczony metal.

Z praktyki własnej autora warto przytoczyć negatywny przykład prawdopodobnie zanieczyszczonego naczynia. Analiza jednej z dwóch prób krwi sekcyjnej, wg oznaczenia i dokumentacji od tej samej osoby, zabezpieczonych w jednakowych naczyniach, dała wynik ujemny. Przypadkowe użycie do celów dydaktycznych drugiej próby krwi, po zakończonej ekspertyzie – wykazało w niej bardzo duże ilości kofeiny. Jedynym racjonalnym wyjaśnieniem wydawało się użycie do zabezpieczenia prób krwi nie umytego naczynia, w którym prawdopodobnie przechowywano lek zawierający ten związek (E–777/86).

Innym przykładem może być głośna kilka lat temu sprawa, w której nadesłano do Instytutu Ekspertyz Sądowych próbki tkanki z dołu łokciowego osoby zmarłej, w stosunku do której podejrzewano zabójstwo poprzez wstępne upicie przy użyciu przemocy, a następnie dożylnie wstrzyknięcie alkoholu. Próbki tkanki z miejsc nakłuć nadesłano po kilku tygodniach, od momentu sekcji zwłok w małych stoikach

typu "twist", zakręconych skorodowanymi, nieszczelnymi wieczkami. Przewodu pokarmowego denata z powodu jego zaginięcia do Instytutu nie nadestano. Choć wykryto mimo wszystko w tkance skórnej wyraźne ilości alkoholu, to jednak w tej sytuacji nie było możliwości ilościowej interpretacji tego faktu (E–3841/89).

Sposób zabezpieczenia materiału posiada także istotne znaczenie, ze względu na konieczność odcięcia tegoż od wymienionych już wcześniej niekorzystnych czynników zewnętrznych. Do najczęstszych należy zamknięcie wycinków w słoju szklanym ze szczelną zakrętką typu "twist". Rzadziej spotykane są słoje Wecka. Poza wymienionym, prawidłowym sposobem zabezpieczenia materiału sekcyjnego, w typowym zatruciu, zdarza się jednak nadsyłanie wycinków w słojach zamkniętych niedopasowaną zakrętką, rękawicą chirurgiczną, lub plastrem. Zauważyć można tendencję nadsyłania sekcyjnego materiału w cienkich workach foliowych, niestety, nie zawsze w stanie zamrożonym.

Zdarza się rzadziej, że wycinki są utrwalone formaliną, jak do badań histologicznych, co świadczy o nieznanomości podstawowych zasad zabezpieczania materiałów biologicznych do badań toksykologicznych.

Sporadycznie napotkać można w praktyce biegłego toksykologa zabezpieczenie materiału biologicznego przy użyciu oleju którym zalane są tkanki. W przekonaniu zabezpieczającego ma to być skuteczny sposób na odcięcie dopływu powietrza. Rzeczywiście, jest to skuteczny sposób na rozwiązanie tego problemu, ale tworzy kolejny, jakim jest zanieczyszczenie badanego materiału olejem, z czego nie zdaje sobie sprawy zabezpieczający. Może to w znacznym stopniu utrudnić zarówno wyosobnienie ksenobiotyku, jak również spowodować interferencje w procesie analitycznym oraz tworzyć dodatkowe, przeszkadzające tło.

Kolejnym przykładem na złe zabezpieczenie materiału, będzie ekspertyza, w której dodatni wynik badania na obecność cyjanków w materiale biologicznym nie mógł być zinterpretowany ilościowo, ze względu na długotrwałe jego przetrzymanie, rozkład i niewłaściwe zabezpieczenie umożliwiające swobodny dostęp powietrza i przewietrzenie wycinków (E–1005/81).

Problem naczyń do transportu materiału sekcyjnego rozwiązano już dawno np. na Węgrzech poprzez ich unifikację w skali całego kraju. Jednakowe, polietylenowe, zakręcane szczelnie zakrętką z tego samego materiału naczynia o pojemności 1 litra, wypełnione wycinkami, przesyłane są na adres tamtejszego Instytutu. Po wykorzystaniu materiału biologicznego i umyciu, naczynia odsyłane są do zakładów wykonujących sekcje.

W małej skali, jeżeli wziąć pod uwagę wymiary naczyń, problem unifikacji opakowań został w Polsce w zadowalający sposób rozwiązany już dość dawno. W określony, znormalizowany sposób przesyłane są (choć jeszcze nie wszystkie) próby krwi na zawartość alkoholu.

2. Sposób pobrania prób

Sposób pobrania prób może w wielu przypadkach decydować o powodzeniu całości analizy i prawidłowej ocenie uzyskanych wyników. Wspomiano już w pierwszej części pracy o różnicy w interpretacji dodatniego wyniku zawartości alkoholu we krwi, w przypadku nawet świeżego materiału, ale pobranego z serca, w porównaniu do materiału pochodzącego z naczyń obwodowych.

Zdarzające się rozcięcie przewodu pokarmowego w czasie sekcji i uwolnienie jego treści do jamy brzusznej, a co za tym idzie wymieszanie z innymi narządami, daje w efekcie podobny skutek jak zamknięcie wszystkich narządów w jednym

naczyniu. Niejednokrotnie może to utrudnić i tak niełatwą interpretację stężeń w narządach mięszzowych i spowoduje nie dające się ująć ilościowo zafatszowanie wyniku.

Należy w tym miejscu wspomnieć o pewnej dość istotnej możliwości popełnienia błędu, mającej związek z materiałem sekcyjnym. Toksykolog otrzymując materiał sekcyjny, nigdy nie może mieć całkowitej pewności od kogo otrzymany materiał pochodzi. Jest w tym zdany całkowicie na rzetelność nieznanego sobie pracownika prosektorium zabezpieczającego próby. O tym, że może nastąpić pomyłka, świadczą zdarzające się sporadycznie ekspertyzy, w których taka pomyłka przypadkowo wychodzi na jaw. Przykładem takiej ewentualności może być cytowana wcześniej ekspertyza (E–777/86), gdzie tylko w jednej z dwóch prób krwi została zidentyfikowana kofeina. Innymi przykładami przekazywanymi przez starszych pracowników Zakładu Toksykologii Sądowej IES, są historie ekspertyz, w których wśród zabezpieczających wycinków narządów wewnętrznych, znalazł się słów z wycinkami wątroby wraz z dwoma pęcherzykami żółciowymi, lub słów z dwoma żołądkami.

Z bieżącej praktyki przytoczyć należy przypadek nadesłania do Instytutu próby krwi pobranej po kolizji drogowej. Zamknięta w fiolce oryginalnym kapsłem próba znajdowała się w postaci półstałej, zdenaturowanej, brązowej masy. Znaczna rozbieżność w analizie metodą Widmarka i chromatografii gazowej, była powodem dalszych badań, które wykazały w próbie krwi etanol w stężeniu 1,7 promille oraz duże ilości metanolu (E–4855/94).

Należy zwrócić także uwagę na ekspertyzy toksykologiczne dotyczące materiału środowiskowego. W przypadkach bowiem, np. prób skażonej wody wskazane jest odpowiednie jej pobranie. W przypadku trucizn w postaci roztworów w rozpuszczalnikach lżejszych od wody, wskazane jest posiadanie próby wody pobranej z powierzchni, blisko zwierciadła. W przypadku trucizn słabo rozpuszczalnych i ciężkich – z dna zbiornika wodnego. W przypadku wód powierzchniowych płynących, możliwie szybko od momentu skażenia i blisko jego miejsca. Niestety, rzadko się zdarza takie wzorowe zabezpieczenie przewidujące każdą ewentualność, wychodzące naprzeciw analitykowi i ułatwiające późniejszą interpretację wyniku.

Najbardziej optymalnym sposobem, niestety rzadko realizowanym, jest pobranie prób przez analityka wykonującego badanie. Zdarza się jedynie wtedy, kiedy miejsce zdarzenia jest zabezpieczone i materiałowi nie grozi zniszczenie, a biegły toksykolog ma możliwość szybkiego dotarcia na miejsce.

3. Stopień zaawansowania rozkładu gnilnego

Stopień zaawansowania rozkładu gnilnego i jego wpływ na wyniki analiz i ich inetrpretację jest problemem badanym w Instytucie Ekspertyz Sądowych i w międzynarodowym środowisku toksykologicznym od dziesięcioleci. Ponieważ materiału do badań toksykologicznych nie utrwała się, zmiany rozkładowe materiału sekcyjnego w przypadku niewłaściwego zabezpieczenia postępując w czasie, powodują szybki przyrost małowcząsteczkowych związków organicznych. Przechodząc w czasie wyosabniania trucizn wraz z nimi do wyciągów, utrudniają w znacznym stopniu analizę, zmniejszając czułość metod analitycznych, bądź pozorując obecność niektórych znanych ksenobiotyków.

Należy podkreślić, że wraz ze wzrostem tła rozkładowego wzrasta dyspersja jego ilości mierzona odchyleniem standardowym w seriach wielu prób. Przeszka-

dzający wpływ rozkładu staje się ze wzrostem upływu czasu coraz bardziej nieprzewidywalnym. Przykładem z bieżącej praktyki toksykologicznej, może być przeszkadzający wpływ tła w oznaczeniu teofiliny, gdzie wykazano podobieństwo spektralne teofiliny i jej metabolitów do substancji pochodzących z rozkładu i należących, podobnie jak lek, do pochodnych kwasu moczowego.

Z praktyki Instytutu Ekspertyz Sądowych znane są substancje, posiadające np. parametry retencji chromatografii cienkowarstwowej, sposób wybarwienia i widmo spektrofotometryczne w UV – identyczne z johimbiną, przechodzące w trakcie wyosabniania trucizn do ekstraktu chloroformowo – alkalicznego.

W alkalicznych ekstraktach z rozłożonej krwi, w trakcie skringowego badania metodą HPLC na obecność benzodiazepin, w wielu z prób obserwowano substancję nazwaną przez autora na własny użytek “pseudoklobazam”. Posiadała ona identyczne parametry retencji w skringowej fazie ruchomej, jak lek, który pozoruje.

Innym przykładem, były ekspertyzy, w których obecna była w materiale wycinkowym morfina, w stężeniach stosunkowo niskich. Powinny one być wykrywane, zgodnie z czułością metody chromatografii cienkowarstwowej dla tego związku (E–3318/92). Nie udawało się jednak ich ujawnić. W przekonaniu autora tajemnica tkwi w obecności tła biologicznego i zasadzie oznaczenia TLC, które dokonuje się na powierzchni, w dwóch wymiarach. Z uwagi na znaczną zawartość rozpuszczonych w ekstrakcie substancji pochodzących z matrycy biologicznej, aplikacja tak stężonego ekstraktu na płytce, w plamce o średnicy mniejszej niż 1 cm, jest mało prawdopodobna. Dla roztworu stosunkowo stężonego wzorca, który można nanieść na płytkę w plamce o średnicy 3 mm, czułość oznaczenia wynosi 0,5 mg/plamę. Ponieważ powierzchnia koła wzrasta proporcjonalnie z kwadratem średnicy, czułość dla ekstraktu z materiału biologicznego powinna zmniejszyć się blisko 11 razy.

Problem uznania substancji wykrytej w materiale biologicznym za element tła, jest problemem sprawiającym wiele kłopotu. Stosownym wydaje się przyjęcie pewnych zasad interpretacyjnych, uprawniających do zaliczenia jakiejś wykrytej substancji – do pochodzącej z rozkładu materiału biologicznego.

Wydaje się, iż należałoby utożsamić ją z jednym ze zdefiniowanych już, konkretnych związków chemicznych i porównać z wzorcem np. pirydyna, piperydyna, tryptamina, uracyl, nikotinamid, etc. (9), albo zidentyfikować ją porównawczo, tą samą metodą, obok ekstraktów, z przynajmniej jeszcze dwóch innych, niezależnych od siebie ekspertyz.

4. Stopień odwodnienia materiału (ekshumaty)

Czynnik ten w sposób wymierny będzie wpływał na wyniki analiz ilościowych odnoszonych z reguły do jednostki masy tkanki. Biorąc pod uwagę zawartość do ok. 80% wody w narządach mięsistych, wielkość zawyżenia oznaczonego poziomu trucizny może w takim, źle przechowanym, “podsuszonym” materiale osiągać wielokrotność 2 – 3. Przykładem takiej sytuacji była ekspertyza w której wycinki zabezpieczone w foliowych workach i przechowywane w niewłaściwych warunkach przez kilka miesięcy, uległy znacznemu wysuszeniu (E–330/93). Nawet w trakcie przechowywania w zamkniętym naczyniu tkanka “ocięka”, zmniejszając zawartość wody, choć nie w tak znamiennej ilościach. Widać w tym miejscu jeszcze jeden czynnik przewagi wykorzystania do badań krwi i surowicy, które ze względu na przechowywanie ich z reguły w zamkniętych naczyniach nie tracą wody.

5. Warunki przechowywania materiału przed nadeśłaniem do badań

Przechowywanie materiału, szczególnie w nieodpowiedniej temperaturze, będzie powodować wzrost zawartości produktów rozkładu materiału biologicznego. Z praktyki wiadomo, że znaczna część wycinków nie jest przechowywana w chłodni i z tego powodu, w temperaturze otoczenia, niezabezpieczona przed wpływem drobnoustrojów – ulega z różną szybkością gniciu i fermentacji.

Następnym problemem przechowywania materiałów sekcyjnych jest nieuszczelnienie naczyń i dostęp powietrza. Wietrzenie tkanek i ucieczka z nich trucizn lotnych jest jedną z możliwości zafałszowania wyników analiz tej grupy ksenobiotyków. Kolejnym niebezpieczeństwem związanym z dostępem powietrza jest utlenienie mało stabilnych pod tym względem związków i zmniejszenie w materiale dowodowym oznaczanej substancji w postaci niezmienionej, Do takich należeć mogą choćby azotyny, a z leków np. grupa fenotiazyn.

Innym problemem związanym z dostępem powietrza do badanego materiału będzie wpływ wilgoci na pochłanianie wody przez materiały higroskopijne.

Szczególnym przypadkiem ujemnego wpływu czynników zewnętrznych na źle zabezpieczony materiał, jest dostęp światła. Problem zgubnego wpływu światła zdarza się rzadko i dotyczy substancji rozkładających się pod jego wpływem. Należy do nich np. rezerpina, bądź przekształcające się w inne, pochodne związki, np. nifedypina. Przykładem ekspertyzy, którą można zakwalifikować do tego typu, była sprawa przypadkowego zatrucia małego dziecka. Jednym z podejrzanych leków przechowywanych w mieszkaniu był lek obniżający ciśnienie tętnicze, Brinerdin. Choć z akt sprawy mogło wynikać na podstawie podawanych objawów zatrucia dziecka duże prawdopodobieństwo zatrucia tym specyfikiem, nie udało się jednoznacznie potwierdzić w materiale biologicznym obecności składnika czynnego – rezerpiny (E–371/85).

6. Ilość zabezpieczonego materiału

Ilość materiału sekcyjnego może mieć zasadniczy wpływ w przypadku małych zawartości trucizny i niewielkich jej stężeń, sprawiając, że analiza da wynik ujemny, na skutek zbyt małych wydolności możliwych do zastosowania metod.

Z ilością materiału wiąże się również pewna zasada analizy materiałów dowodowych na potrzeby wymiaru sprawiedliwości, choć nie tylko. Zasada wymagająca zużycia tylko jego części i pozostawienia pozostałej do ewentualnego powtórnego badania kontrolnego. W sytuacji przesłania do badań zbyt małej ilości materiału, groziłoby to zejściem poniżej poziomu czułości metody i mogłoby spowodować kolizję ze wspomnianą zasadą. W zdarzających się w praktyce ekspertowskiej tego typu sytuacjach, priorytet musi mieć wybór pierwszy, a więc zapewnienie przede wszystkim skutecznej analizy, kosztem rezygnacji z ewentualnych kontroli badań. Jest to jeden z elementów, które powinny być obecne w świadomości zabezpieczających próby materiału sekcyjnego do ekspertyz. Przesyłanie tegoż, w postaci np. jedynie 0,5 – 1 cm³ krwi do badań, bez ukierunkowania, nie jest dziś rzadkością.

DZIAŁANIA DECYZYJNE W UKIERUNKOWANIU BADAŃ

Zbierając razem zagadnienia poruszone w obu częściach cyklu, na podstawie posiadanej przez toksykologa mniej lub bardziej pełnej informacji z zakresu okoli-

czności zdarzenia, gatunku materiału pobranego, a także potrzebnego do dalszych badań, oraz wstępnych ustaleń posekcyjnych – może on w oparciu o nie ukierunkować swe działanie poprzez:

1. Wtórny wybór rodzaju materiału spośród nadesłanego do badań,
2. Wybór sposobu wyosabniania ksenobiotyku,
3. Wybór metody identyfikacji,
4. Podjęcie w przypadku negatywnego wyniku w p. 3 decyzji o odrzuceniu przyjętego wstępnie ukierunkowania analizy, przyjęcie innego kierunku badań, bądź ich zaniechanie,
5. Zastosowanie wybranej metody oznaczenia poziomu zidentyfikowanej(ych) substancji, bądź porzucenie na etapie wyników jakościowych.

Działania wymienione powyżej w punktach, są przejściem do procedury analitycznej, kolejnego etapu, tym razem działania analityka – toksykologa.

Należy mieć stale na uwadze fakt, że przyjęcie na podstawie niepełnych informacji chybionego kierunku badań, może skutkować wydaniem opinii fałszywie ujemnej. Sukces analityka nie oznacza jednak, że w każdej sytuacji zidentyfikowany i oznaczony związek jest jedynym jaki występuje w badanym materiale. Inne, z różnych powodów mogą pozostać niewykryte i skutkować fałszywą oceną poziomów, oznaczonych dla substancji zidentyfikowanych. W cytowanym już przypadku zatrucia kilkoma lekami (E–4610/94), wykryte tam stężenie barbituranów we krwi zmarłej, zawarte było w zakresie stężeń terapeutycznych. Gdyby nie odpowiednia informacja i wykryte inne leki w organizmie w stężeniach z całą pewnością śmiertelną, ostateczna konkluzja mogła być zgoła inna.

PODSUMOWANIE

Przedstawiony tutaj w dużym skrócie problem nie oddaje złożoności zasad doboru materiału w zależności od przyjętego kierunku badań. Dlatego też, optymalnym rodzajem postępowania przy wyborze materiału po sekcji, do dalszych badań toksykologicznych, jest oddzielne zabezpieczenie pełnego kompletu: treści pokarmowej, tkanek, wydalin i wydzielin, płynów fizjologicznych, a w uzasadnionych przypadkach fragmentów skóry i tkanki podskórnej.

Niestety, przypadki dostarczenia do Instytutu Ekspertyz Sądowych materiału sekcyjnego tak zabezpieczonego zdarzają się tylko w małej ilości spraw. Często dostarczany materiał jest niepełny lub wymieszany, co rzutuje na jakość wyniku analizy i jego późniejszą interpretację. Zdarza się także dostarczanie materiału nieodpowiedniego lub niepełnowartościowego.

Zacytowany w treści węgierski przykład naczyń do transportu materiału biologicznego, wydaje się być godny naśladowania. Przychodzi na myśl nawet możliwość pewnej modyfikacji zakrętki przez zaopatrzenie jej w szczelny, wprasowany wentyl, umożliwiający w każdym przypadku analizę par lotnych substancji nad wycinkami, przy zastosowaniu techniki *head space*.

Wnioski ukierunkowane na poprawę jakości nadsyłanego materiału, uzasadnione byłyby tym, że w znacznym stopniu są przyczyną opinii z wieloma zastrzeżeniami; w dużym stopniu niekategorycznych, zawierających często stwierdzenia „nie można wykluczyć”, „jest prawdopodobne” i.t.p. Choć nie jest możliwe całkowite ich wyeliminowanie, wynikające z samej natury toksykologii sądowej i związanym

z nią dużym marginesem niepewności, to jednak tam gdzie istnieje możliwość jego zmniejszenia, należy ją wykorzystać.

W przypadkach szczególnie rażących zaniedbań, biegły powinien mieć możliwość odmowy wydania opinii. Zagadnienie to jednak wiąże się ściśle z problemem niezawisłości biegłego i jego usytuowaniem w odpowiednich przepisach prawa. W przypadkach częściowych uchybień, powinny one być wyraźnie wyeksponowane w opinii, wraz z wyraźnym określeniem tych jej defektów, które spowodowały.

W pewnych sytuacjach uczciwym byłoby uprzedzenie zlecającego ekspertyzę o takich zastrzeżeniach i postawienie pytania o decyzję dotyczącą celowości podjęcia, czy kontynuowania rozpoczętych badań.

Przedstawione w pierwszej i drugiej części opracowania elementy zależą w mniejszym lub większym stopniu od człowieka i jakości jego pracy. Ostatni element pozaanalitycznych czynników wpływających na jakość i interpretację wyniku analizy, jest niezależny od człowieka. Stanowi przedmiot rozważań III części opracowania, poświęcony zmienności biologicznej.

PIŚMIENNICTWO

1. Dłużniewska A.: Dane nie publikowane, przekaz ustny. – 2. Markiewicz J.: Dane nie publikowane, przekaz ustny. – 3. Borkowski T.: *Badania wyciągów wątroby pobranej ze zwłok w toku jej rozkładu gnilnego. Cz. I. Badania spektrofotometryczne wyciągów eterowo – kwaśnych z wątroby w toku jej rozkładu gnilnego*. Arch. Med. Sąd. i Krym. 1968, XVIII, 1, s. 102–108. – 4. Borkowski T.: *Badania wyciągów wątroby ze zwłok w toku jej rozkładu gnilnego. Cz. II. Badania chromatograficzne wyciągów eterowo – kwaśnych z wątroby w toku jej rozkładu gnilnego*. Arch. Med. Sąd. i Krym 1968, XVIII, 2, s. 229–236. – 5. Borkowski T.: *Tła biologiczne w analizie chemiczno – toksykologicznej w kierunku obecności trucizn organicznych* (referat na I Sympozjum Polsko – Niemieckim "Zagadnienie tła materiału biologicznego w analizie chemiczno – toksykologicznej", Kraków 26–27.XI.1973. Z Zagadnień Kryminalistyki 1974, IX, s. 107–109. – 6. Kulikowska J., Kołada K., Sybirska H., Janusz A.: *Oddziaływanie tła biologicznego na wyniki badań analitycznych w przypadku śmiertelnego zatrucia teofiliną*. Z Zagadnień Nauk Sądowych 1993, XXVIII, s. 47–54. – 7. Gut W.: Własne dane nie publikowane. – 8. (–) *Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids and post-mortem material*. The Pharmaceutical Press, London, 1986, s. 216 (System HI – R. Gill, unpublished data). – 9. (–) *Progress in Chemical Toxicology*, vol. 4. Keme B.: *Interfering Compounds and Artifacts in the Identification of Drugs in Autopsy Material*. Academic Press New York and London 1969, s. 1–58. – 10. Gut W.: *Samobójcze zatrucie kilkoma lekami*, Z Zagadnień Nauk Sądowych, 1993, XXVIII, s. 60–64.

Adres autora: Instytut Ekspertyz Sądowych w Krakowie
31–003 Kraków, ul. Westerplatte 9
Nadesłano do Redakcji: 16.11.1994.
Zakwalifikowano do druku: 22.02.1995.

Gabriel Turowski

Nazewnictwo genów i alleli układu HLA, 1994

Nomenclature for genes and alleles of the HLA system, 1994

Z Samodzielnej Pracowni Immunologii Klinicznej, Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Kierownik: Prof. zw. dr hab. G. Turowski

Przedstawiono ustalenia w 1994 roku Komitetu Nazewnictwa WHO do spraw nomenklatury w zakresie układu HLA a dotyczące nowopoznanych genów i alleli HLA oraz innych alleli warunkowanych w tym regionie (HLA–A, HLA–B, HLA–C, –E, –G, HLA–DR, –DQ, –DP, –DM i TAP allele).

The report of the WHO Nomenclature Committee for factors of the HLA System from March 1994 is presented. The report contains the names for genes in the HLA region, designations of HLA–A, HLA–B, HLA–C, –E, –G, HLA–DR, –DQ, –DP, –DM i TAP alleles.

W 1994 roku w Strasburgu podczas obrad Europejskiej Fundacji dla Immunogenetyki Komitet Nazewnictwa WHO dla Czynnika Układu HLA rozważył wprowadzenie nazewnictwa nowopoznanych swoistości, a także zrewidował dotychczas ustalone i określone za pomocą molekularnych i serologicznych technik, w myśl zasad ustalonych w uprzednich raportach (1968–1991). Głównym przedmiotem dyskusji było nazwanie nowych genów i alleli HLA, a także innych alleli regionu HLA. Ponadto ustalenie zapisu promotora sekwencji, określenie “null alleli” występujących przy braku ich ekspresji, a także nazewnictwo dla swoistości identyfikowanych podczas typowania DNA (low-resolution DNA typing).

W stosunku do opisanych w poprzednim raporcie z 1991 roku genów Komitet Nazewnictwa WHO przyjął określenia dla dwóch nowych genów HLA, a mianowicie: HLA–K i HLA–L. Są one pseudogenami klasy I, zlokalizowanymi w pobliżu HLA–A. Gen HLA–K wcześniej znany jako HLA–70 w swej charakterystyce molekularnej związany jest z 7,0 kB fragmentu Hind III. Gen HLA–L natomiast, odpowiadający uprzedniemu określeniu HLA–92, związany jest z 9,2 kB fragmentu Hind III.

Obecnie poznanych jest 37 genów regionu HLA, w tym 10 klasy I, 23 klasy II oraz 4 nie będące genami HLA (TAP2, TAP2, LMP3 i LMP7), których produkty funkcjonalnie związane są z transportowaniem peptydów antygenów (TAP) oraz grupą proteaz (LMP).

W tabeli 1 zestawiono nowo poznane allele klasy I wraz z odpowiadającymi im serologicznymi swoistościami oraz dotychczasowymi określeniami, jako uzupełnienie do opisanych alleli w raporcie Komitetu Nazewnictwa WHO dla Czynnika Układu HLA z roku 1991. Obejmują one 9 alleli HLA-A, 37 HLA-B, 16 HLA-C i 4 HLA-G.

Tabela 1. Oznaczenia nowych alleli HLA-A i HLA-B

Allele	Swoistość	Uprzednie określenia	Allele	Swoistość	Uprzednie określenia
A*0102	A1	–	B*1518	–	B*7901, B*X"-HS
A*0213	A2	A2SLSU	B*1519	B76(15)	B76
A*2602	A26(10)	A26.2, A26.1	B*1520	B62(15)	–
A*2603	A26(10)	A26.4	B*1802	B18	B18PE
A*2604	A26(10)	A10SA	B*27052	B27	27a, 27W, B27.1
A*3003	A30(19)	A30JS	B*2708	–	B7 Qui
A*3302	A33(19)	Aw33.2	B*3507	B35	–
A*68012	A68(28)	Aw68.1	B*3508	B35	B35TL
A*8001	–	AX'BG', A-new	B*3802	B38(16)	–
			B*39013	B3901	B39.1J
B*0704	B7	–	B*39022	B3902	B39.2
B*1505	B62(15)	Bw61.1	B*3903	B39(16)	–
B*1506	B62(15)	Bw62.4	B*3904	B39(16)	B39N
B*1507	B62(15)	Bw62.5	B*40012	B60(40)	B60OUt
B*1508	B62(15)	B62variant	B*4006	B61(40)	B61
B*1509	B70	B70.1	B*4404	B44(12)	B44.4
B*1510	B71(70)	B70.2	B*4802	B48	–
B*1511	B15	B15variant	B*5104	B51(5)	–
B*1512	B76(15)	B76	B*5105	B51(5)	B51v
B*1513	B77(15)	B77	B*52012	B52(5)	–
B*1514	B76(15)	B76	B*5901	B59	–
B*1515	B62(15)	B62s	B*6701	B67	–
B*1516	B63(15)	B63.1, 8W66	B*7301	B73	–
B*1517	B63(15)	B63			
Cw*0303	Cw3	–	Cw*1502	–	C*X, Cw*6.2
Cw*0304	Cw3	–	Cw*1503	–	–
Cw*0402	Cw4	BeWoC.1	Cw*1504	–	Cw*15Sp
Cw*0602	Cw6	Cw6(W)	Cw*1601	–	C1.10
Cw*0703	Cw7	HLA-4	Cw*1602	–	Cw*16v
Cw*12021	–	Cb-2	Cw*1701	–	Cw16New
Cw*12022	–	Cw.1202gyp			
Cw*1203	–	Cw12New	G*01011	–	HLA-6.0, G*1
Cw*1402	–	Cw14New	G*01012	–	BeWoG7
Cw*1501	–	C1.9	G*0102	–	Ice 6.23-5.4H
			G*0103	–	G*III

W regionie klasy II HLA-DR poznano 47 nowych alleli genu DRB1, 3 allele genu DRB4, 1 allel genu DRB5 oraz 2 genu DRB7. W zakresie HLA-DQ poznano 1 allel genu DQA1 i 7 genu DQB1. Dla genu HLA-DPB1 ustalono nazwy 21 nowych alleli a także 4 allele genów HLA-DMA oraz HLA-DMB. Zostały one przedstawione

w raporcie z 1994 roku w kilku tabelach wraz z licznym piśmiennictwem, obejmującym 179 pozycji.

W tabeli 2 zestawiono przyjęte oznaczenia 5 alleli genu TAP1 oraz 3 allele genu TAP2, stosownie do wcześniej przyjętej w 1991 roku taktyki Komitetu Nazewnictwa WHO dla Czynnika Układu HLA.

Tabela 2. Oznaczenia alleli TAP

Allel	Dotychczasowe określenia
TAP1*0101	RING4, PSF(Y3), TAP1A
TAP1*02011	TAP1B
TAP1*02012	TAP1E
TAP1*0301	TAP1C
TAP1*0401	TAP1D
TAP2*0101	RING11A, TAP2A
TAP2*0102	TAP2E
TAP2*0201	RING11B, TAP2B

W dyskusji nad nazwaniem promotora sekwencji rozważano dwie możliwości. Przyjęto, że promotor jest integralną częścią allelu, a nie żaden inny ekson lub epitop allelicznej sekwencji. W tych przypadkach promotor sekwencji związanej z allelem będzie identyfikowany za pomocą litery "P" umieszczonej po nazwie allelu z cyframi 01, 02 itd., np. DQA*0101P01, DQA*0101P02 itd. Oznacza to, że P01 i P02 dotyczy promotora sekwencji obecnego tylko w allelu DQA1*0101.

W drugiej możliwej strategii, dającej nazwę promotora sekwencji bez względu na to, z którym allelem jest ona związana, a dotycząca długości regionu poddanego sekwencjonowaniu oraz możliwych wariantów w części niesekwencjonowanej. W międzyczasie, zanim zostanie podjęta decyzja, zaproponowano chwilowo nazewnictwo w oparciu o ustalenia na 11 Międzynarodowych Warsztatach Roboczych Zgodności Tkankowej jako zapis np. DQAP*1.1.

W czasie przeprowadzonej dyskusji zgodzono się, aby literą "N" określać defekt w sekwencji allelu lub genu HLA, który uniemożliwia normalną ekspresję produktu na powierzchni komórki. Litera "N" dla "niemego allelu" (null allele) będzie wpisana na końcu zapisu alleli bez ekspresji. W haplotypie DR7Dw11 allele null DRB4 noszące zmutowane miejsca będą nazywane jako DRB4*01012N w odróżnieniu od allelu o prawidłowej ekspresji DRB4*01011.

Ponadto w raporcie z 1994 roku przyjęto za słuszne uwzględnianie, w nazywaniu swoistych alleli, wyników określeń DNA w "low-resolution DNA typing". Dotyczy to szczególnie wariantów alleli DR2 i DR6. Postanowiono przeto powołać w przyszłości Podkomitet w Komitecie Nazewnictwa WHO z dokooptowanymi członkami dla opracowania zasad dla oznaczeń wyników typowania DNA w low-resolution.

W raporcie podano również adresy, gdzie można na bieżąco uzyskiwać dane o sekwencjach HLA w typowaniu DNA a także informacji odnośnie wszystkich linii komórek służących w przeprowadzanych badaniach. Równocześnie ustalono, że informacje o nowo przypisanych sekwencjach wraz z wykazem piśmiennictwa będą miesięcznie zamieszczane w Tissue Antigens.

PIŚMIENICTWO

1. Turowski G.: *Nazewnictwo genów i alleli układu HLA*, 1991, Arch. Med. Sąd. Krym., 1993, 43, 267–276. – 2. *WHO Nomenclature Committee: Nomenclature for Factors of the HLA System*, 1991, Immunogenetics, 1992, 36, 135–148. – 3. *WHO Nomenclature Committee: Nomenclature for Factors of the HLA System*, 1994, Europ. J. Immunogenet., 1994, 21, 485–517.

Adres autora: Pracownia Immunologii Klinicznej CM UJ,
31–531 Kraków, ul. Grzegórzecka 16
Nadesłano do Redakcji: 11.09.1995.
Zakwalifikowano do druku: 3.10.1995.