

Catedra de medicină judiciară a I.M.F. din Tîrgu-Mureş (cond.: conf. Z. Anderl)

IMPORTANŢA MEDICO-JUDICIARĂ A GRUPELOR SANGUINE SERICE

V. Molnár

Practica biocriminalistică manifestă un interes insistent faţă de rezultatele noilor descoperiri serologice şi biochimice referitoare la compoziţia individuală a proteinelor umane, fiindcă prin cunoaşterea acestei compoziţii se tinde la descoperirea diferenţelor care există între persoane în interesul identificării lor. Identificarea urmelor şi clarificarea filiaţiunii sînt domeniile în care nu putem face abstracţie de aportul acestor noi descoperiri. Vom prezenta în cele ce urmează aspecte ale stadiului actual al descoperirilor serologice.

În înţelesul general al cuvîntului, sub denumirea clasică de grupe sanguine se înţelege comportarea izo- şi imunoaglutininică a elementelor figurate ale sîngelui. *Landsteiner* a descoperit fenomenul izoaglutinării care serveşte ca bază primei sistematizări a grupelor sanguine A B O. În cei 63 de ani care au trecut de la această descoperire, au fost elaborate 16 sisteme grupale sanguine în cadrul cărora există mai bine de 61 de grupe.

Fenomenul de electro-osmoză, adică migrarea apei într-un corp poros spre catod este cunoscut încă din 1807 (*Reiss*), dar denumirea de electroforeză a fost conferită de *Michaëlis* numai în 1909. Acest fenomen fizic a fost utilizat de *Tizellus* la examinarea proteinelor serice în 1948. Chiar în acel an s-a încercat metoda pe benzi de hîrtie de filtru, apoi în 1952 *Kunkel* a introdus electroforeza în mediu poros. Prin aceste procedee de examinare, proteinele serice au fost clasificate după viteza de migraţie electroforetică în: albumine, alfa-globuline, beta-globuline şi gama-globuline. Bineînţeles că fracţiunile proteice nu sînt omogene, fapt care a fost dovedit în special prin examinări de electroforeză de zonă, şi prin examinări imunologice mai recente. În prima parte a examinărilor, atenţia cercetătorilor a fost reţinută de diferenţele cantitative ale fracţiunilor proteice, fiind folosite ca metode de diagnostic.

Introducerea electroforezei bidimensionale şi în special a electroforezei pe geloză a dat rezultate surprinzătoare în sensul că la persoanele sănătoase s-au pus în evidenţă anumite diferenţe calitative în ceea ce priveşte aspectul electroforetogramelor. Fenomenul a fost descris pentru prima oară de *Smithies* în 1955, cînd s-au descoperit diferenţe individuale la fracţiunea beta şi apoi în cadrul fracţiunii alfa₂-globulinelor. De atunci, prin metode imunologice şi imunoelectroforetice s-au descoperit diferenţe individuale la fiecare fracţiune proteică. Aceste diferenţe au fost sistematizate şi studiate din punctul de vedere al transmiterii ereditare şi astăzi sînt cunoscute sub denumirea de grupe serice. Deci prin grupă serică se înţeleg diferenţele individuale în cadrul fracţiunilor proteice ale serului sanguin.

Vom trece în revistă cele mai cunoscute grupe serice în ordinea mobilităţii migraţiei electroforetice (Fig. 1).

1. Proprietăţi de grupă ale fracţiunilor albuminice.

În cursul electroforezei pe gel de amidon între fracţiunea globulinelor alfa₁ şi a albuminelor se separă o zonă formată dintr-un complex de aminoacizi care,

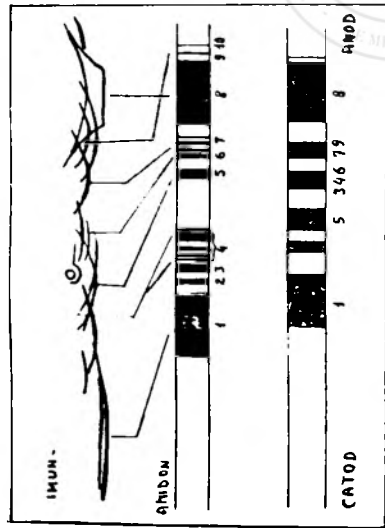


Fig. nr. 1. Schiță comparativă a unor electroforetogramme obținute prin electroforeză pe hirtic, în gel de amidon și imunoelectroforeză.

Se remarcă poziția diferită a fracțiilor proteice. 1. Gamma-globuline. 2. Beta-lipoproteine macromoleculare. 3. Alfa₂ macro-globuline. 4. Grupele Hp. 2-2, Hp. 2-1, Hp. 1-1 și excesul de Hgb. 5. Transferine, 6. Ceruloplasmină. 7. Post-albumine₁ (după *Baitsch*)

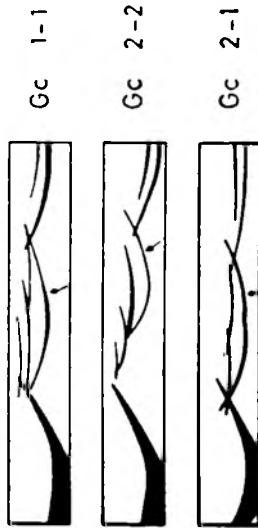


Fig. nr. 3. Tabloul imunoelectroforetic al sistemului de grupe.

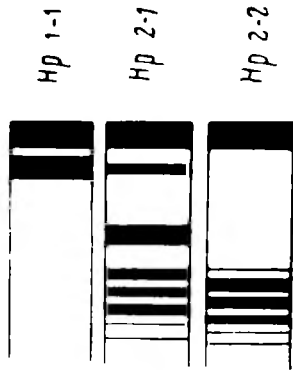


Fig. nr. 2. Aspectul electroforetic al grupelor haptoglobinice (reacția cu benzidină)

Grupa	1-1	2-1	2-2	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	3-8	3-9	3-10
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Fig. nr. 4. Timpurile de reacție ale...

fiindcă nu prezintă toate proprietățile chimice ale albuminelor, sînt numite „cvasi albumine“ sau „post-albumine“. *Smithies, Mahaux, Knedel* și alți autori susțin că acești aminoacizi au un rol important în compoziția haptanelor, îndeplinind funcții biologice în vehicularea diferitelor substanțe în circuitul sanguin. După comportarea lor biologică, ele prezintă 3 forme: forma A₁, A₂ și B. Aceste grupe nu sînt încă bine precizate în special în ceea ce privește punerea lor în evidență.

2. Proprietățile de grupă ale fracțiunii alfa

a) Haptoglobine

În 1955, *Smithies* utilizînd electroforeza pe gel de amidon a pus în evidență o diferență față de aspectul obișnuit al fracțiunii alfa₂ pe electroforetogramе obținute prin electroforeză pe hirtie. Această diferență a devenit mai evidentă după tratarea serului cu hemoglobină. *Laurell*, în 1956, bazîndu-se pe această observație a presupus că fracțiunea alfa-2 ar fi identică cu haptoglobinele puse în evidență prin metode biochimice de *Polonovski* și *Jayle* în 1938. Prin verificări ulterioare s-a dovedit că într-adevăr haptoglobinele pot fi bine delimitate de alte fracțiuni proteice în cadrul globulinelor alfa₂. S-a demonstrat de asemenea, că în mod normal acest tablou electroforetic nu este identic la toate persoanele și că în total există 3 tipuri principale (mai târziu, schimbîndu-se soluția tampon s-au găsit variații mai numeroase care însă se pot încadra în cele 3 tipuri inițiale ale lui *Smithies*).

Unul dintre tipuri prezintă o migrație electroforetică mai marcată, fiind numit Hp. 1—1. Un alt tip prezintă o migrație lentă, și se numește Hp. 2—2; există și combinații între aceste tipuri și anume o fracțiune cu migrație lentă și o altă fracțiune cu migrație mai vie: Hp. 2-1 (Fig. nr. 2).

Figura nr. 2 reprezintă o dezvoltare a haptoglobinelor cu ajutorul reacției de peroxidază. Această metodă a fost preconizată de *Galatius-Jensen*, pentru electroforeza pe baza faptului că *Polonovski* și *Jayle* au demonstrat că haptoglobinele în combinațiile cu hemoglobina au o activitate peroxidazică extrem de puternică.

De atunci s-a verificat atît persistența acestor tipuri la diferite persoane, cît și transmiterea ereditară a lor. Astfel, din punct de vedere medico-judiciar, această descoperire rivalizează ca importanță cu descoperirea lui *Landsteiner* în 1900 a grupelor A B O, intrucît a deschis calea spre descoperirea celorlalte grupe serice.

Proprietățile biochimice ale haptoglobinelor

Haptoglobinele, fiind o subfracțiune importantă binecunoscută, dăm unele date generale de informare. Ele aparțin grupei seromucoidelor, avînd un conținut de 10% în hidrați de carbon și conținînd o cantitate minimă de cistină și ceva mai mare de triptofan, nitrogen 12,3%, polipeptide 8,3%, glucoproteide 11,3%, hexamină 5,7%. Hidrații de carbon sînt prezenți sub formă de trizaharide cu următoarea compoziție: glucozamină-galactoză-manoză. Haptoglobinele nu conțin fosfor sau lipide. Greutatea moleculară a tipului Hp 1 este de 84.500, iar a tipului Hp 2 de 196.000 (*Hirschfeld*). Punctul izo-electric: 4,13. Haptoglobinele se găsesc în formă monomeră și diameră, ultima fiind mai frecventă.

Dintre toate elementele serice capabile de a lega hemoglobina, haptoglobina este ceva mai activă. Complexul hemoglobină-haptoglobină are o legătură aproape ireversibilă și este echimolar, ceea ce înseamnă că forma monomeră leagă o moleculă de hemoglobină, iar forma diameră două molecule. Acest complex prezintă o reacție de peroxidază intensă la un pH de 4,2—4,4. El intră în reacție cu orice formă a hemoglobinei, însă nu se leagă de hematină și mioglobină. Complexul Hb-Hp nu trece prin bariera rinichilor, astfel că hemoglobinuria se manifestă numai după epuizarea conținutului în Hp al serului sanguin.

În cîmpul electric complexul Hb-Hp migrează între fracțiunea alfa₂ și beta-globuline și în această privință nu se constată nici o deosebire apreciabilă între forma liberă și forma de complex cu hemoglobina; în schimb este mai sensibil la valoarea de pH a soluțiilor tampon folosite și în funcție de tipul de grupă.

Relații fiziologice ale haptoglobinei

Haptoglobina care formează 1,3% din totalul proteinelor serice constituie partea cea mai variabilă din punct de vedere biologic a fracțiunii alfa₂. Foarte probabil că această parte este produsă la nivelul fibrocitelor și apoi, în ficat, se desparte în două: într-o parte, formată din orozomucoidă, și în alta care participă la polimerizarea fibrinogenului. *Nyman* a dovedit că între comportarea acestor două elemente și cantitatea haptoglobinei există în serul sanguin o strinsă legătură. Acest fapt care este și mai evident în procesele inflamatorii constituie un argument în sprijinul legăturii ei cu elementele mezenchimatoase. În 1962, *Budvári* și colab. pus în evidență haptoglobina în elementele conjunctive care prezintă aceleași grupe ca și serul sanguin al persoanei respective. Haptoglobina este produsă destul de repede: dacă e epuizată complet din serul sanguin în condiții experimentale, se refăce în decurs de 2 săptămâni. Ea participă atât, la formarea pigmentilor, cât și la vehicularea lor. Prin acest rol de vehiculare haptoglobina ia parte la procesele de dezintoxicație (*Bennhold*). Reacționează și la acțiuni hormonale: sub efectul androgenilor titrul ei se ridică, iar sub cel al ACTH-ului scade. Din acest motiv la femei prezintă o oarecare periodicitate.

Contribuții personale

Utilizând metoda originală a lui *Smithies, Galatius—Jensen* și *Budvári* am elaborat un procedeu de punere în evidență a grupelor haptoglobinice pe un gel de amidon preparat din materiale indigene. Procedeu nostru constă într-o hidrolizare cu acid clorhidric la o temperatură de 40° C. cu un sistem de tampon boric discontinuu într-un cimp electric de 2 mA pentru fiecare secțiune de 1 cm² a gelului. De asemenea, s-a prelucrat și o soluție de hemoglobină cu utilizare de durată (tehnica a fost prezentată într-o altă lucrare).

Am stabilit grupele haptoglobinice la 1.500 donatori de sînge și am găsit următoarea frecvență: tipul 1—1, 10,20%, tipul 2—1 44%, tipul 2—2 45,80%. Grupele haptoglobinice sînt independente de sex și de grupele sanguine clasice.

Tabelul nr. 1.

Repartizarea haptoglobinelor după sex

Grupa haptoglobinică	Bărbați		Femei		Total	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Hp 1—1	76	49,67	77	50,33	153	10,20
Hp 2—1	304	46,06	356	53,94	660	44
Hp 2—2	335	48,76	352	51,24	687	45,80
Total	717	47,66	785	52,33	1500	100

Tabelul nr. 2.

Frecvența grupelor haptoglobinice în cadrul grupelor ABO

	O I		A II		B III		AB IV		Total	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Hp 1—1	42	27,45	77	50,32	23	15,03	11	7,18	153	10,20
Hp 2—1	187	28,33	276	41,81	136	20,60	61	9,24	660	44
Hp 2—2	214	31,15	260	37,84	138	20,08	75	10,90	687	45,80
Total	443	29,53	613	40,86	297	19,80	147	9,80	1500	100

b) Sistemul de grupă Cc

Începînd din anul 1959, *Hirschfeld* a făcut experiențe pentru a pune în evidență haptoglobinele pe cale imuno-electroforetică. În primele sale lucrări, el a publicat tablouri comparative privind atât electroforetogrammele pe gel de amidon,

cît și imuno-electroforeza. Cercetări mai recente efectuate de el arată că linia de precipitație permanentă corespunzătoare arcului haptoglobinelor apare și în cazurile de ahaptoglobinemie și la nou-născuți unde este binecunoscută ahaptoglobinemia fiziologică. Astfel, *Hirschfeld* a constatat că este vorba de prezența unui element care nu are capacitatea de a lega hemoglobina. Mai tîrziu a observat că acest element are o viteză de migrare diferită în fracțiunea alfa-2. După modelul haptoglobinelor i s-a dat denumirea de Gc. 1—1, Gc. 2—1, Gc. 2—2 (Gc. provine din denumirea germană a subfracțiunii „grup specific component”). Importanța lui practică provine din faptul că sistemul Gc. este independent de sistemul Hp. și se întîlnește și în cazuri de ahaptoglobinemie și la nou-născuți. *Dray* și *Young* au confirmat existența acestor grupe, punînd în evidență transmiterea lor pe cale ereditară (Fig. nr. 3).

c) Sistemul Ag.

Cu ajutorul unei reacții de imunoprecipitare, folosind serul bolnavilor care au primit transfuzii multiple, *Allison* și *Blumberg* au izolat în cadrul fracțiunii alfa₂, un nou factor numit de ei Ag care la unele dintre persoanele examinate dă reacție pozitivă și la altele reacție negativă (avînd astfel Ag(a⁺) și Ag(a⁻). Acest sistem nu este prea cunoscut și are un caracter particular care se datorește pozitivității foarte variate a reacției la diferite populații. Dacă se face un studiu statistic corespunzător asupra frecvenței grupelor sistemul pare a fi util la stabilirea filiațiilor.

3. Proprietăți de grupă ale fracțiunii beta.

Sistemul transferinelor sau siderofilinelor.

Examinînd în 1955 fracțiunea beta-globulinelor cu ajutorul electroforezei bi-dimensionale combinate prin electroforeză pe hîrtie și apoi în bloc de amidon, *Smithies* a observat că pe electroforetograma obținută prin colorare cu amidoschwarz din fracțiunea beta-globulinelor se separă o linie bine colorată care însă prezintă diferențe de la persoană la persoană. Examinări ulterioare au arătat că de fapt există 2 benzi izolate care din punct de vedere biochimic corespund transferinelor, fiind deci vorba de o fracțiune de proteină al cărei rol fiziologic este acela de a vehicula fierul liber în serul sanguin. Această descoperire a dus la descoperirea reacției specifice a transferinei. În acest scop s-a dovedit utilă aplicarea fierului radioactiv Fe⁵⁹ pe care transferina îl leagă și care după efectuarea electroforezei poate fi pus în evidență prin autoradiografie. Pentru a avea posibilitatea unei aprecieri cît mai corecte în practică, se procedează la secționarea în două a blocului de amidon: o parte se colorează cu amidoschwarz, iar cealaltă se dezvoltă prin autoradiografie.

Examinări ulterioare efectuate de *Harris* și *Paulik* au mai găsit și alte tipuri de linii, din combinarea cărora rezultă 8 variante și 12 tipuri de transferine bine apreciable. Denumirea celor 8 tipuri de bază este următoarea: B₀, B₁, B₂, C, D₀, D₁, D₂, D₃. Aceste proprietăți sînt strict individuale și ele au legi de transmitere ereditară bine stabilite, putînd fi aplicate la identificarea persoanelor și în cazuri de paternitate. Actualmente nu cunoaștem încă metode descrise în literatură pentru punerea în evidență a grupelor transferine din urme de sînge (Fig. nr. 4).

4. Sistemele de grupă în cadrul fracțiunii gama-globulinelor

În 1940 *Waalder* a separat factorul reumatoid în singele bolnavilor de poliartrită reumatică evolutivă. Studiînd această fracțiune, *Grubb* a arătat în anul 1956 că ea există într-o formă incompletă și în singele persoanelor sănătoase în cadrul fracțiunii gama-globulinei. Tratînd serul cu hematii sensibilizate cu ser anti Rh incomplet, obținem aglutinarea în 40% a cazurilor, iar în 60%, acest material împiedică aglutinarea hematiilor.

Intrucât acest fenomen s-a dovedit a fi permanent, indiferent de starea sănătății persoanelor examinate, s-a stabilit că este vorba de un sistem de grupă care a fost denumit: Gm (a+) sau Gm (a-). Pozitivitatea înseamnă că serul respectiv împiedică aglutinarea hematiilor prin ser anti Rh incomplet. Brocteur, într-o monografie publicată în anul 1962, prezintă toate cunoștințele referitoare la sistemul Gm împreună cu legile eredității. Dăm în cele de mai jos proprietățile de Gm în ordinea descoperirii lor.

Harboe—Ropartz au descris în anul 1959 grupa Gm (X) care are 2 variante (X+) cu o frecvență de 19,68% și (X-) cu o frecvență de 80,32%. Prin aplicarea unui alt ser de la un donator de sânge prealabil sensibilizat, *Harboe* a mai găsit și un alt factor denumit Gm(b). Aceste proprietăți descrise sînt prezente în același sistem ca și proprietățile în cadrul sistemului Rh, potrivit părerii lui *Wiener*.

Steinberg a descris în 1960 un nou factor, denumit Gm-like. În același an, *Ropartz—Lenoir—Rivat* au descris în cadrul sistemului Gm(a) un alt factor denumit în V/b/ sau Gm₂(a).

Prin examinări ulterioare s-a constatat că atât factorul Gm-like cît și factorul în V(b) sînt independenți de restul factorilor din cadrul fracțiunii gama-globulinei, astfel că și persoanele încadrate în sistemul Gm, urmează să fie înglobate în cadrul acestor 2 sisteme.

În anul 1961, *Fudenberg* a găsit în cadrul factorului Gm(a) un nou factor denumit Gm(r) care se găsește la 90% din persoanele cu Gm(a+) și lipsește la toate persoanele cu Gm(a-).

Valoarea medico-judiciară a sistemului Gm nu este încă bine apreciată, fiind vorba de descoperiri foarte recente. Desigur că din punctul de vedere al stabilirii filiațiunii introducerea acestui sistem va reuși să aducă un considerabil coeficient de precizie. *Brocteur* crede că există posibilitatea de a se pune în evidență acest sistem și în material de urme de sânge, dar o astfel de metodă nu a fost încă elaborată.

5. Grupe de colinesterază

Lehmann și *Rayn* au observat în anul 1956 că după administrare de percaină, activitatea de colinesterază prezintă 3 tipuri diferite. Unele persoane prezintă o activitate colinesterazică „normală”, altele o activitate foarte „atipică” și mai există un alt grup cu activitate „intermediară”. S-a dovedit că această reacție biologică este un fenomen permanent la aceeași persoană și totodată se transmite în mod ereditar.

Recent *Bernson* a demonstrat că și colinesteraza se poate pune în evidență prin metode de electroforeză pe gel și a constatat o diferență în aspectul electroforetografic la diferite specii de animale.

Pe lângă sistemele de grupe amintite se pun în evidență neconținut noi grupe de factori. Acest fapt pledează pentru caracterul individual al proteinelor, ca și în cazul celorlalte semne antropologice (fizionomie, amprente digitale etc.). Se tinde ca fiecare persoană să poată fi identificată în viitor, pe baza combinării grupelor de sistem și a factorilor descoperiți. Posibilitatea de combinare a grupelor de sistem cunoscute atinge cifra verosimilă care s-a luat ca bază și la identificarea amprentelor digitale (1/17.000.000.000).

Teoretic, cunoașterea legilor eredității tuturor sistemelor de grupă oferă posibilitatea de a elucida paternitatea. Practic însă punerea în evidență a tuturor proprietăților serologice într-un laborator în cadrul unei singure investigații, pare irealizabilă.

Cunoașterea temeinică a noilor proprietăți serologice, punerea lor în evidență, verificarea prin examinări de persoane, examinări pe familii precum și introducerea în practica de toate zilele a acestor metode sînt tot atâtea sarcini care revin laboratoarelor biocriminalistice și serologice. O altă sarcină a noastră este aceea ca, în lipsa unei metode corespunzătoare, să punem în evidență grupele serice (în afara celor Hp.) în urme de sânge, țesuturi umane și resturi biologice.

Sosit la redacție: 7 iunie 1963.

Bibliografia la autor