

БУЗИНА ФИТАГГЛЮТИНИНИ ВА АНТИ-О ГЕТЕРОИММУН ЗАРДОБЛАРИНИ ҚИЁСИЙ ТЕКШИРИШ

Бекназаров Жахонгир Шакирович,

Бекназаров Шокир Юлдашевич,

Тошкент давлат тиббиёт университети

Суд тиббиёти ва тиббиёт ҳукуки кафедраси доцентлари

Аннотация. Мақолада доғлардаги қон гуруҳини бузина ўсимлиги фитагглютининлари ва гетероиммун анти-О зардоблари орқали аниқлашни қиёсий баҳолаш натижаси келтирилган. Маълумки, инсон қон зардобидан ташқари, эритроцитларни агглютинациялаш қобилятига бошқа моддалар, хусусан, ўсимлик экстрактлари (фитагглютининлар) ҳам эга бўлиши мумкин. Одам ва ҳайвонлар зардобдаги антитаналар, шунингдек фитагглютининлар (лектинлар) оксилларнинг глобулин фракциясига тегишли. Суд-биологик экспертизаларда анти-О зардоби билан солиштирганда, бузина ўсимлиги меваларидан олинган анти-О фитагглютининлари бир қатор афзалликларга эга (титр баландлиги, сўрилиш қобиляти, хусусиятларнинг барқарорлиги, нархи ва самарадорлиги) ва шунинг учун амалий фойдаланиш учун тавсия этилиши мумкин.

Калит сўзлар: Ашёвий далиллар, қон гуруҳлари, фитагглютинин, агглютинация.

Долзарблиги. Сўнгги йилларда ашёвий далиллар суд-тиббий экспертизаси амалиётида АВО тизими гуруҳий мансублигини аниқлаш учун фитагглютининлардан (лектинлар) фойдаланиш тобора оммалашиб бормоқда [2, 3, 5]. Янги тадқиқот ва таҳлил усулларининг жорий этилиши ва қўлланиладиган диагностика реагентлар миқдорини кўпайтириш ашёвий далиллар суд-тиббий экспертизанинг сифатини ва самарадорлигини оширади [1, 4, 8]. Маълумки, инсон қон зардобидан ташқари, эритроцитларни агглютинациялаш қобилятига бошқа моддалар, хусусан, ўсимлик экстрактлари (фитагглютининлар) ҳам эга бўлиши мумкин. Одам ва ҳайвонлар зардобдаги антитаналар, шунингдек фитагглютининлар (лектинлар) оксилларнинг глобулин фракциясига тегишли [1, 7].

Шуни таъкидлаш жоизки, ўсимликларда агглютининларга ўхшаш моддалар мавжудлиги одам ва ҳайвонлар қонидаги агглютининлардан анча олдин аниқланган. Масалан, 1888 йилда Н. Stillmark кастор ловия уруғида инсон эритроцитлари билан агглютинацияга киришадиган модданинг мавжудлигини, яъни инсон қонида агглютининлар мавжудлигини К. Ландштайнер томонидан

кашф қилишдан 13 йил олдин аниқлади [2, 4].

Муаллифларнинг илмий тадқиқотлари шуни кўрсатдики, инсон танасининг тўқималарига ва баъзи суюқликларига нисбатан антигенларни агглютинациялашга қодир бўлган агглютининларга ўхшаш моддалар мавжуд бўлиб, улар ҳайвон ва ўсимлик дунёсининг муҳим вакилларида учрайди [4].

Ҳозирги вақтда инсон қонининг гуруҳланишини аниқлаш учун суд-тиббиёти амалиётида қўлланиладиган фитагглютининларнинг аксарияти дунёнинг барча мамлакатларида мавжудлиги сабабли кенг қўлланилади, уларнинг тижорат нархи қуёнлардан олинладиган гетероиммун зардоблар нархидан ўнлаб ва ҳатто юзлаб марта арзон [2]. Шу сабабли, қон ва инсон ажралмалари изларида АВО тизимининг гуруҳини аниқлаш учун янги иқтисодий жиҳатдан арзонроқ препаратларни ишлаб чиқиш долзарбдир.

Ўсимлик (лектинлар) ва ҳайвонлар (протектинлар) келиб чиқиши бўлган антитаналарга ўхшаш реагентлар жуда муҳим суд-серологик аҳамиятга эга [2, 3]. Инсон қон гуруҳларини аниқлашга келсак, гуруҳга хос фитгемагглютининлар кашф этилгандан сўнг пайдо бўлган диагностик лектинология ўз ютуқларида нафақат АВО ва MN тизимларининг антигенлари, балки резус реагентларига ҳам эга [2, 3, 5, 7].

Лектинлар оксилларнинг мустақил гетероген гуруҳи бўлиб, улар юқори даражада специфик ва карбогидратларни ёки углеводнинг гликоконъюгат қисмини, шунингдек биополимерларнинг углевод лигандларини таниб олиш ва боғлаш қобилияти туфайли биринчи марта кашф этилган. Лектинларнинг физиологик роли ҳақидаги гипотезаларнинг аксарияти уларнинг таркибида углеводларни боғлайдиган доменларнинг мавжудлигига асосланади, аммо, бу оксилларнинг ўсимлик ҳаёти учун функционал аҳамияти тўғрисидаги яқиний қарор ҳали ҳам баҳсли ҳисобланади.

Тадқиқот мақсади. Доғлардаги қон гуруҳини бузина ўсимлиги фитагглютининлари ва гетероиммун анти-О зардоблари орқали аниқлашни қиёсий баҳолаш.

Тадқиқот материали ва усуллари. Таҷрибаларимизда Тошкент шаҳрида 2014-2018-йилларда йиғилган бузина (*Sambucus ebulus* L.) ўсимлиги меваларидан олинган экстракти анти-О фитагглютининларидан фойдаландик. Бузина ўсимлигининг қуритилган мевалари чинни хавончада майдаланди, 2 г мева 15 мл стерил физиологик эритмада 2 соат давомида 37°C ҳароратда термостатда экстракция қилинди. Бузина экстракти центрифугалашдан ва филтрлангандан сўнг тўқ олча рангга эга бўлди. Тайёр экстрактлар пробирка усулида текширилганда уларнинг 1:64 дан 1:128 га тенг бўлди.

Қон текширишлари учун бузина экстракти 1:16-1:32 суюлтиришда ва ажралмаларни текшириш учун 1:32-1:64 титрларда киритилди. Тегишли титр

реакцияга 2% ли О гуруҳи эритроцитлари аралашмасини қўшиб, 1500 айл/мин тезлигида 2 минут центрифуга қилинди ва чайқатишидан сўнг натижаларини макроскопик тарзда қайд этиш орқали аниқланди. Реагентнинг суюлтирилиши 0,9% физиологик эритма ёрдамида тайёрланди.

Қиёсий тадқиқотлар учун биз қуёнларни иммунизация қилиш орқали олинган гетероиммун анти-О зардоблардан фойдаландик.

Олинган натижалар ва уларнинг муҳокамаси. агглютиниинларнинг абсорбция-элюция реакцияси орқали қон доғларини ўрганишда олинган бузина ўсимлигининг меваларидан анти-О(Н) фитагглютиниинлар ва биз томонидан олинган гетероиммун анти-О зардобларини қиёсий ўрганиш натижалари келтирилган.

Қиёсий тадқиқотлар учун биз қуёнларни иммунизация қилиш орқали олинган гетероиммун анти-О зардобларидан фойдаландик.

Тайёрланган 200 та қон намунаси доғини текшириш таърифланган вариантдаги абсорбция-элюция реакциясида оли бирилди. Шу билан бир қаторда, О гуруҳли қон доғларини текширишнинг барча 58 та ҳолатида О гуруҳидаги синов эритроцитларининг агглютинацияси кузатилди, 2 ёшли мурдаларнинг иккита қон изи бундан мустасно. Ушбу эритроцитларнинг агглютинацияси бошқа гуруҳларнинг айрим қон намуналарини ўрганишда ҳам қайд этилган. АВ гуруҳининг синов эритроцитларида элюциядан фойдаланганда реакция натижаси барча ҳолатларда салбий бўлди.

Шунинг учун О антигенини юқоридаги барча намуналарда, ҳамда таъкидланган ажралмалардан ҳосил бўлган доғларни ўрганиш учун ҳам қўлланилди. Турли объектларни ўрганиш натижаларини энг аниқ таққослаш имкониятини таъминлаш учун бир хил одамларнинг қон намуналари ва секрецияси тажрибага киритилди ва бир вақтнинг ўзида синовдан ўтказилди. Масалан, улар худди шу эркаклардан олинган қон, сперма ва сўлакни текширишди. Бундан ташқари, биз юқорида айтиб ўтган доғнинг турли қисмларида зардоблар томонидан анти-О антиген О турли хил аниқланишини ҳисобга олган ҳолда, тажрибалар кўп марта такрорланган. О гуруҳи қонида агглютиноген О ва В гуруҳи қонида аглютиноген О ҳам доимий равишда аниқланади, лекин агглютинация баъзан кучсиз эди. Кучли ифодаланган агглютиноген А ва агглютиноген О нинг юқори миқдори билан А гуруҳининг қонида агглютиноген О ни ўрганишда ҳам камроқ интенсив агглютинация кузатилди. агглютиноген О мавжудлиги исботланмаган.

Олинган маълумотлар шуни кўрсатдики, анти-О зардоб антитаналари турли хил келиб чиқиш излари билан бошқача реакцияга киришади. Шундай қилиб, антиген О сўлакда суюқ қонга қараганда камроқ ва заифроқ аниқланган ва бу субъектнинг ажралиб чиқиш тоифасига боғлиқ эмас ва ҳатто реагентнинг кичик

суялтиришлари билан янги доғларни текширишда ҳам кузатилган. Масалан, 1-2 ҳафталик О гуруҳидаги баъзи сўлак доғларида анти-О зардоби билан текширилганда аниқланиш йўқ эди.

Аксинча, О(Н) антигени сперма доғларида қон доғларига қараганда яхшироқ аниқланган. Бу, биринчи навбатда, у қўшимча сифатида мавжуд бўлган намуналарга нисбатан қўлланилади. Баъзи ҳолларда реакциянинг зўравонлиги қон доғларига қараганда каттароқ эди, анти-О зардоби ҳам "таърифловчилар" ва "йўл-йўриқлар" гуруҳига кирувчи шахслар намуналари билан реакцияга киришди.

Анти-О(Н) зардобини анти-О фитагглютинини бўлган бузина ўсимлиги (*Sambucus ebulus* Л.) меваларидан олинган экстракт билан алмаштириш О гуруҳли қонда О агглютиногенни аниқлашда жуда самарали бўлди, В ва АВ антигенлар бўйича етарли маълумотлар олинмаган.

Абсорбция-элюция реакциясида, бузина меваси экстракти қон ва ажралмалар намуналари текширилганда доканинг назорат жойлари билан ўзаро таъсир қилмади ва ифлосланган далилларнинг назорат жойлари билан сезиларли даражада камроқ (зардобга нисбатан) ўзаро таъсир қилди. Бу О антигенини аниқлаш бўйича тадқиқотларда, буюм ташувчининг титрига аниқ таъсир кўрсатганлиги сабабли анти-О зардоб ишламаган ҳолда, бузина экстрактининг муҳим афзаллиги ҳисобланади.

Агар доғдаги срецифик антиген яхши ифодаланган бўлса, 1:32 титрли экстрактдан фойдаланиш оқланади (шу жумладан буюм ташувчининг экстрактни кенг сингдирадиган ҳолатларда). Бошқа ҳолларда, титри пастроқ бўлган экстрактдан фойдаланиш тавсия этилади. Этарли миқдордаги бошланғич ўсимлик материалнинг мавжудлиги ва эксперт синовларининг ижобий натижалари, бузина ўсимлигининг меваларидан олинган анти-О экстракти тадқиқотда суд-тиббий экспертиза амалиётида қўлланилиши мумкинлигини кўрсатади. қон ва секрецияларнинг жуда кичик излари.

Шундай қилиб, суд-биологик экспертизаларда анти-О зардоби билан солиштирганда, бузина ўсимлиги меваларидан олинган анти-О фитагглютининлари бир қатор афзалликларга эга (титр баландлиги, сўрилиш қобиляти, хусусиятларнинг барқарорлиги, нархи ва самарадорлиги) ва шунинг учун амалий фойдаланиш учун тавсия этилиши мумкин.

Анти-О фитагглютининлар бузина ўсимлигининг меваларида бир неча йиллар давомида хусусиятларини ўзгартирмасдан сақланади. Экстракция қилиш техникасининг соддалигини ҳисобга олган ҳолда, мутахассисларни танлаб олинган, қайта ишланган ва синовдан ўтган бузина мевалари билан марказлаштирилган ҳолда таъминлаш мақсадга мувофиқдир.

Абсорбция-элюция реакциясидан фойдаланиб, агглютиноген О ни бузина

ўсимлиги меваларидан олинган экстракт ёрдамида жуда кичик изларда ашёвий далиллар билан аниқлаш мумкин.

Хулоса. Анти-О гетероиммун зардоби бузина ўсимликларининг меваларидан олинган анти-О(Н) экстрактлари билан қиёсий текширилганда, бир хил самара берганини, ҳатто айрим ҳолатларда бузина ўсимлиги экстрактининг фитагглютиниинлари бир қатор афзалликларга (титр баландлиги, спецификлиги ва абсорбцияланиш қобиляти, нархи) эга ва шунинг учун суд-биологик экспертизалар амалиётида фойдаланиш мумкин.

Адабиётлар:

1. Аушева З.И., Цолоева З.А. Модификация реакции абсорбции-элюции при исследовании загрязненных биологических объектов //Судебно-медицинская экспертиза. - 2003. - №1. - С. 15-16.
2. Барсегянц Л.О. Современное состояние судебно-медицинского исследования вещественных доказательств и пути развития. //Судебно-медицинская экспертиза, 2004, №5, - С. 25-27.
3. Бекназаров Ж.Ш., Попов В.Л., Бахриев И.И. Сравнительная оценка фитагглютининов экстракта бузины и иммунных сывороток анти-О. //Евразийский вестник педиатрии. - 2020. - №1.(4) - С. 136-140.
4. Донсков С.И., Мороков В.А. Группы крови человека. //Руководство по иммуносерологии. Москва. 2011. – 1016 с.,
5. Лахтин В.М, Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Несвижевский Ю.В. Общие свойства и принципы функционирования лектинов в биосистемах. //Вестник Российской АМН. - №3, - 2008. –С-37-41.
6. Перепечина И.О., Сахаров Р.С. Исследование пятен крови и выделений реакцией абсорбции-элюции с помощью моноклональных антител анти-Н. //Журнал судебно-медицинская экспертиза. Москва. 1990. - №4. - С-16-19.
7. Berzofsky, J. A.; Berkower, I. J. Antigen-antibody interactions and monoclonal antibodies //In: Fundamental Immunology, 7th ed. 2013. – P. 183–189.
8. Hosoi E. Biological and clinical aspects ABO blood group system // Journal of Medical Investigation.- 2008. - V. 55. - P. 174-182.