

13. Streszczenie

Głównym celem patomorfologów po śmierci pacjenta jest ustalenie przyczyny zgonu. W tym celu wykonują oni sekcje zwłok, podczas których dokonują szczegółowych oględzin poszczególnych narządów, pobierają wycinki oraz płyny do badań histopatologicznych i biochemicznych. W badaniach biochemicznych niejednokrotnie wykonuje się oznaczenia markerów choroby alkoholowej, między innymi: gamma-glutamyl-transferazy (GGT), aminotransferazy asparaginowej (AST) i alaninowej (ALT), średnią objętość krwinek czerwonych – MCV oraz test CDT (ang. *Carbohydrate Deficient Transferin*), czyli tzw. transferyna desialowana – mało dostępny w Polsce. Przy okazji wykonywania rutynowych oznaczeń etanolu w materiale pobranym ze zwłok, nierzadko na wyniku umieszczana jest informacja o wykryciu w badanej próbce acetonu i izopropanolu. Wciąż jednak trwają poszukiwania nowych, bardziej czułych i specyficznych markerów, pozwalających na dokładniejszą oraz szybszą ocenę przyczyn śmierci.

Jednym z najczęściej wykonywanych oznaczeń jest stężenie alkoholu etylowego we krwi, moczu oraz płynie mózgowo-rdzeniowym – ze względu na łatwość pozyskania materiału oraz wysoką wartość diagnostyczną.

Obecnie brak jest czułych markerów, które mogłyby pomóc w diagnostyce wykrywania choroby alkoholowej u osób żyjących oraz miałyby wartość diagnostyczną przy ustalaniu przyczyny zgonów u denatów. Takimi markerami mogłyby być egzoglikozydazy lizosomalne, takie jak N-acetylo- β -D-heksozaminidaza, β -galaktozydaza, α -mannozydaza, α -fukozydaza, β -glukuronidaza.

Znane są wyniki oznaczeń aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych (HEX, GAL, MAN, GLU, FUC) zachodzące w organizmach u osób żyjących spożywających alkohol etylowy. W piśmiennictwie natomiast brak jest wyników badań dotyczących aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w materiale biologicznym pobranym od pacjentów po śmierci, będących pod wpływem alkoholu. Badania te mogłyby okazać się przydatnie diagnostycznie do określenia przyczyny zgonu denata, jak również porównania zmian aktywności egzoglikozydaz za życia oraz po śmierci pacjentów, co mogłoby ułatwić ustalenie dokładnego czasu zgonu oraz określić w jakiej mierze alkohol miał wpływ na śmierć pacjenta.

Egzoglikozydazy lizosomalne, do których zaliczane są: N-acetylo- β -heksozoaminidaza (HEX), α -fukozydaza (FUC), β -galaktozydaza (GAL), α -mannozydaza (MAN) i β -glukuronidaza (GLU), są specyficzne dla jednej formy anomerycznej wiązania

glikozydowego i odszczepiają pojedyncze monocukry od nieredukującego końca oligosacharydu [8]. Wraz z endoglikozydazami tworzą ciągi reakcji, w których produkt poprzedniej staje się substratem dla następnej. Odpowiadają one za katabolizm glikoprotein - białek zawierających związane kowalencyjnie [oligosacharydy](#) o łańcuchu prostym, czasem rozgałęzionym, złożonym zwykle z 2-10 reszt [monosacharydu](#). Dołączanie sacharydów następuje po pełnej syntezie łańcucha polipeptydowego w ramach tzw. modyfikacji potranslacyjnej. Glikoproteiny są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie: są składnikami śluzowatych wydzielin organizmów zwierzęcych ([mucyny](#)), występują w osoczu krwi (immunoglobuliny), erytrocytach (substancje grupowe krwi), tkankach łącznych ([mukopolisacharydy](#)), antygenach wirusów i hormonach przysadki.

Obecność N-acetylo- β -heksozoaminidazy (HEX), najaktywniejszego enzymu lizosomalnego stwierdzono w ślinie, surowicy i osoczu krwi, moczu, płynie mózgowo-rdzeniowym oraz płynie stawowym osób zdrowych, a także w wielu tkankach oraz narządach, m.in. w śliniankach.

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku nr: R-I-002/82/2013. Materiałem badawczym były: krew, mocz, płyn mózgowo-rdzeniowy oraz ciało szkliste oka pobrane w czasie sekcji w Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku od 52 zmarłych. Grupę badaną stanowiło 10 kobiet w wieku od 26 do 65 lat oraz 42 mężczyzn w wieku od 15 do 82 lat. Badania przeprowadzono na 2 grupach zmarłych. Pierwsza z grup (K) składała się z 30 osób (22 mężczyzn i 8 kobiet w wieku od 15 do 83 lat (średnia wieku 54 lata). W organizmach tych zmarłych nie stwierdzono obecności alkoholu. Drugą grupę (A) stanowiły 22 osoby (20 mężczyzn i 2 kobiety w wieku od 26 do 82 lat (średni wieku 46 lat), zmarłe z powodu zatrucia etanolem. Osoby będące pod wpływem etanolu zmarły na skutek wypadku drogowego, samobójstwa, lub innych nieszczęśliwych zdarzeń. Wywiad rodzinny wykluczył spożycie etanolu przez te osoby wcześniej, przed ostatnim na skutek którego doszło do śmierci. U wszystkich badanych wykluczono obecność chorób: nowotworowych, nerek, wątroby oraz przewlekłych chorób zapalnych, również reumatoidalnego zapalenia stawów. Aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych: N-acetylo-b-D-heksozoaminidazy (HEX), jej izoenzymów A (HEX A) i B (HEX B), α -mannozydazy (MAN), α -fukozydazy (FUC) i β -galaktozydazy (GAL) wykonano w podwójnych próbach metodą Chatterjee i wsp. w modyfikacji Zwierza i wsp., zaadaptowaną przez Marciniak i wsp. Przeprowadzone badanie pokazuje, że, jednym z najbardziej prawdopodobnych mechanizmów śmierci może być uszkodzenie nerek podczas zatrucia etanolem. Do uszkodzenia ponadwymiarowego nerek może dojść z powodu stanu zapalnego. Ponadto uszkodzenie mózgu, ciała szklistego i nerki, może wynikać z obecności produktów ubocznych etanolu. U osób zatrutych etanolem ma miejsce znaczne obniżenie w moczu stężenia aktywności MAN, FUC, GAL i GLU. Aktywność MAN jest znacząco niższa w ciele szklistym. Konieczne są jednak badania zakrojone na szerszą skalę co umożliwi ocenę przydatności egzoglikozydaz lizosomalnych w

wyjaśnieniu mechanizmów śmiertelności w przypadku ostrego śmiertelnego zatrucia etanolem. Przeprowadzone badanie pokazuje, że oznaczenie stężenia aktywności HEX i jego izoenzymów (HEX B i HEX A) w moczu osób zmarłych z powodu zatrucia etanolem może być potencjalnym markerem szkodliwego spożywania alkoholu. Istnieje potrzeba prowadzenie dalszych badań nad przydatnością diagnostyczną egzoglikozydaz lizosomalnych w celu ustalenia mechanizmów śmierci u osób upojonych etanolem.