

Magyar Néphadsereg Egészségügyi Szolgálat és az Országos „Frederic Joliot-Curie” Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézet\*

## Mikronukleusz gyakoriság égési sérültek limfocitáiban

Dr. Kerekes János állatorvos főtörzsrőmester, dr. Novák János orvos ezredes, az orvostudomány doktora, dr. Kőteles György J.\* az orvostudomány kandidátusa

Érkezett: 1986. 05. 18.

**Kulcsszavak:** égési sérülés, limfocita károsodás

A szerzők huszonhét különböző mértékben égési sérülést szenvedett beteg *in vitro* oszlásra készített perifériás limfocitáiban vizsgálták a genotoxikus ártalmak egyik könnyen identifikálható indikátorát, a kromoszóma aberrációk egyik fajtájának, az ún. mikronukleuszoknak előfordulási gyakoriságát. Eddigi vizsgálataik szerint ez a mutató az égési sérülés mértékével nem függ össze, az életkor folyamán azonban nő. Eredményeik alapján feltételezik, hogy ionizáló sugárzással, mint genotoxikus ártalmakat előidéző tényezővel kombinált termikus traumát követő állapotban az égésbetegség nem befolyásolja a mikronukleusz vizsgálat diagnosztikai és differenciál-diagnosztikai értékét.

Különböző genotoxikus ártalmak kromoszóma aberrációk megjelenésében is megnyilvánulnak. Ezek egyik viszonylag könnyen felismerhető formája a károsított sejt citoplazmájában kimutatható ún. mikronukleusz. Ez olyan kromoszóma töredék vagy teljes kromoszóma, amely az oszlási orsó sérülése miatt a sejtosztás befejeztével, az ana- és telofázisban nem épül be az újonnan képződő sejtmagba, hanem kint marad a citoplazmában (7, 9). Megfelelő eljárással, fénymikroszkópos vizsgálattal a mikronukleuszok újabban perifériás limfocitákban is kimutathatók (1, 2, 3, 7, 9).

Égési sérülést követően a komplex szöveti destrukció, toxikus anyagok felszabadulása következtében a limfociták struktúrája és funkciói károsodnak (4, 5, 11). A mikronukleusz kimutatási módszer alkalmazásával azt vizsgáltuk, hogy égési sérültekben szabadulnak-e fel olyan toxikus anyagok, illetve bekövetkeznek-e olyan hatások, amelyek a keringő limfocitákban (ezzel a módszerrel) kimutatható kromoszóma aberrációt okoz.

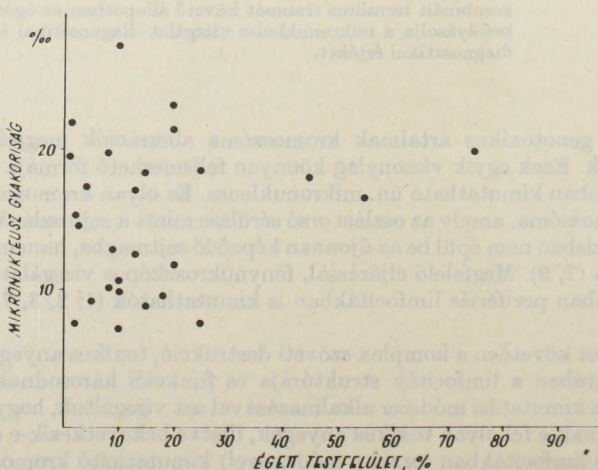
### Beteganyag és vizsgálati módszerek

1985. július és 1986. január között égési osztályunkra beérkezett 27 friss égési sérülést szenvedett beteget vizsgáltunk meg. A 15 nő és 12 férfi beteg életkora 21—86 év között változott. Az égések mélysége II—III. fokú volt, kiterjedése 1,5—75% között változott. A diagnózis klinikai pontosságú.

A mikronukleuszok vizsgálatát a laboratóriumunkban korábban kidolgozott módszerrel végeztük (1, 2, 3). A vizsgálatokhoz lítium-heparinos alvadásgátlóval vett vénás vért használtunk. A vérvételt az égési traumát követő kórházi felvétel után az első vagy második napon végeztük. Egyes esetekben a gyógykezelés ideje alatt többször is megismételtük a vizsgálatot. A vérmintát alfa-módosítású Eagle MEM (Flow Laboratories) tápfolyadékban inkubáltuk, amelyet 10% prekolsztrális borjú savóval (Phylaxia) egészítettünk ki. A limfociták osztódásra készítését phytohemagglutinin P hozzáadásával végeztük. Az inkubálást 37 °C-on, 5% széndioxidot tartalmazó légkörben végeztük 72 órán át. A sejteket ezt követően 0,075 M KCl oldattal 5 percen át hipotonizáltuk, majd ecetsav + metanol 1:3 arányú keverékével fixáltuk és tárgylemezre szélesztettük. A limfocitákat 0,05%-os acridin orange oldattal festettük meg. E festési eljárás előnye, hogy a preparátumot ultraibolya fényben vizsgálva a sejtmag és minden mag eredetű anyag zöldes-sárga, a citoplazma narancssárga színben jól elkülöníthetően tűnik elő. A mikronukleuszok előfordulásának gyakoriságát betegenként 3000 sejt vizsgálatával állapítottuk meg és értékét ezrelékben fejeztük ki. Csak azokat a sejteket vettük figyelembe, amelyeknek a citoplazmája ép volt, és amennyiben mikronukleuszt tartalmazott, az a sejtmagtól jól elkülönült.

### Eredmények

Az égés súlyossága és a mikronukleuszok előfordulási gyakorisága közötti összefüggést az 1. ábra mutatja. Látható, hogy ezen két jellemző között nincs összefüggés. A mért értékek többsége 7 és 20% között van, és csak négy esetben emelkedik



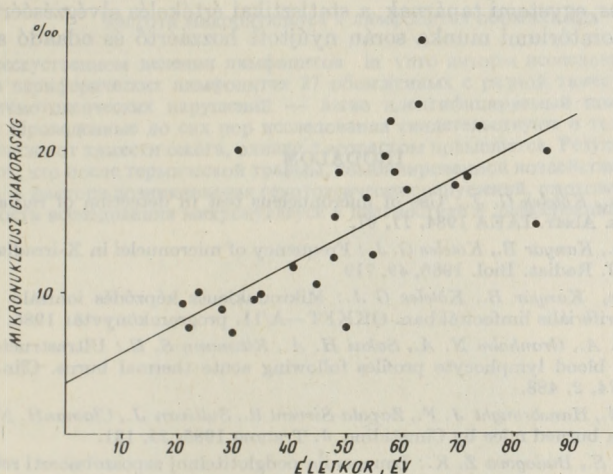
1. ábra. Az égelt testfelület (összkiterjedés) és a mikronukleusz gyakoriság között nem nyilvánult meg összefüggés

20‰ fölé. Ez a tartomány megfelel az ún. normál népességi értékeknek, mint erre a Megbeszélés fejezetben kitérünk. Ennek alapján úgy tűnik, hogy az égési sérülést követő kórfolyamat során nem szabadul fel a szervezetben olyan toxikus anyag, amely súlyos kromoszóma elváltozásokat okozna.

A betegekben észlelt mikronukleusz gyakoriságot életkoruk függvényében tüntettük fel (2. ábra). Azt találtuk, hogy az életkor emelkedésével a mikronukleusz gyakoriság is nő. A 2. ábrán feltüntetett értékek matematikai statisztikai elemzése lineáris regressziós analízissel a két jellemző között egyenes arányú összefüggést mutatott ki, 0,93 korrelációval. Az összefüggést kifejező egyenlet a következő:

$$\text{MNF} = (3,7 \pm 1,9) + (0,21 \pm 0,04) \times E$$

ahol MNF a mikronukleusz gyakoriság ezrelékben, E pedig az életkor években.



2. ábra. A vizsgált égett sérültekben az életkor emelkedésével nőtt a mikronukleusz gyakoriság

### Megbeszélés

Az égési sérültekben a mikronukleusz gyakoriság értékek a normál előfordulás tartományába esnek, amely külföldi és saját laboratóriumunkban mért eredmények szerint 3–20‰ között van (1, 2, 3, 7, 11). Ezen belül enyhe emelkedés van az életkor függvényében. Az utóbbi összefüggést kifejező egyenletünk állandója és együtthatója jól egyezik Norman és munkatársai (12) adataival. E szerzők 73 személy vizsgálata alapján közölt összefüggése ugyanis

$$\text{MNF} = 1,62 + (0,32 \pm 0,09) \times E.$$

Ebből levonható az a következtetés, hogy az égési sérülést követően a mikronukleusz gyakoriság nem nő, azaz az égési sérüléssel járó patológiás folyamatok a sejtek kromatin állományát nem károsítják. Néhány esetben azt is vizsgáltuk, hogy a sérülés után hosszabb időtartamok múlva történt-e változás, azonban növekedést a sérülést követő 2–3 hét alatt sem találtunk a vizsgált betegekben (nem közölt adatok).

További vizsgálatok szükségesek annak a feltárására, hogy az égési sérülteknél észlelt csökkent limfocita blasztos transzformáció (10, 14) mennyire befolyásolja a mikronukleusz gyakoriság megnyilvánulását, kimutathatóságának mértékét. Mindazonáltal az életkorral járó mikronukleusz gyakoriságot a genotoxikus ártalmak mértékének megállapításakor figyelembe kell venni.

Kísérletes kutatásaink további célkitűzése annak tanulmányozása, hogy égéssel kombinált sugársérülések esetén az égés ténye mennyire befolyásolja az esetlegesen differenciáldiagnosztikai jelentőségű teszt eredményeit (8).

#### Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki a téma támogatásáért dr. Sztanyik B. László főigazgató-főorvos, egyetemi tanárnak, a statisztikai értékelés elvégzéséért Kerekes Andornak, a laboratóriumi munka során nyújtott hozzáértő és odaadó segítségért Győr Saroltának.

#### IRODALOM

1. Almássy Zs., Köteles G. J.: Use of micronucleus test in detection of radiation effect. Health Physics Res. Abstr. IAEA 1984, 11, 97.
2. Almássy Zs., Kanyár B., Köteles G. J.: Frequency of micronuclei in X-irradiated human lymphocytes. Int. J. Radiat. Biol. 1986, 49, 719
3. Almássy Zs., Kanyár B., Köteles G. J.: Mikronukleusz képződés ionizáló sugárzások hatására emberi perifériális limfocitákban. OKKFT—A/11. programkönyvtár 1985, 248, 6.
4. Beathard G. A., Granholm N. A., Sakai H. A., Ritzmann S. E.: Ultrastructural alterations in peripheral blood lymphocyte profiles following acute thermal burns. Clin. Immunol. Immunopathol. 1974, 2, 488.
5. Bender EM., Hansbrought J. F., Zapata-Sirvent R., Sullivan J., Claman H. N.: Restoration of immunity in burned mice by Cimetidine. J. Trauma 1985, 25, 131.
6. Budagov R. S., Budagova Z. K.: Izmenenija podglotitelnoj szposzobnoszti retikuloendotelialnoj szisztemi pri kombinirovannom radiacionno-termiceszskom porazsenii. Radiobiologija 1984, 24, 383.
7. Countryman P. I., Heddle J. A.: The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated culture of human lymphocytes. Mutat. Res. 1976, 41, 321.
8. Kerekes J., Novák J., Almássy Zs., Köteles G. J.: Mikronukleusz előfordulási gyakoriság égési sérülést szenvedett személyek perifériás limfocitáiban. Izotóptechnika 1985, 28, 262
9. Krepinsky A. B., Heddle J. A.: Micronuclei as a rapid and inexpensive measure of radiation-induced chromosomal aberrations. In: Radiation Induced Chromosome Damage in Man (Eds.: Ishiara and coworkers), Alan R. Liss Inc., New York, 1983. 93. old.
10. Munster A. M., Winchurch R. A., Birmingham W. J., Keeling P.: Longitudinal assay of lymphocyte responsiveness in patients with major burns. Ann. Surg. 1980, 192, 772.
11. Neilan B. A., Taddeini L., Strae R. G.: T lymphocyte rosette formation after major burns. JAMA 1977, 237, 493.
12. Norman A., Cochran S., Bass D., Roe D.: Effects of age, sex and diagnostic X-rays on chromosome damage. Int. J. Radiat. Biol. 1984, 46, 317.
13. Pochonina N. A., Rjavcsenko N. I., Britun A. I.: Izsledovanije raspada kromatina lejkcitov perifericeszskoj krovi krisz v pervie troje szutok poszle kombinirovannovo radiacionno porazsenija. Radiobiologija 1984, 24, 210.
14. Wolfe J. H. N., Wu A. V. O., O'Connor N. E., Alieni: Anergy, immunosuppressive serum and impaired lymphocyte blastogenesis in burn patients. Arch. Surg. 1982, 117, 1266.

*C.S.M. J. Kerekes D.V.M. M.C., col. J. Novák M.D.M.C., J. Kőteles M.D.:*

### MICRONUCLEUS INCIDENCE IN LYMPHOCYTES OF BURNED PATIENTS

With forced division of lymphocytes *in vitro*, the authors investigated the incidence of micronucleus — an easily identifiable biological indicator of genotoxic damage, a sort of chromosome aberration — in peripheric lymphocytes of 27 burned patients with different degree of burns. Investigations till now suggest that this indicator does not depend on the severity of burn but increases with the age. Results show that burn disease after thermic injury combined with ionizing radiation effect — a genotoxic damaging factor — does not influence the diagnostic and differential diagnostic value of micronucleus incidence.

*Главстаршина м/с Я. Керекеш, полковник м/с Я. Новак, Дь. Кётелеш:*

#### Частота микронуклеуса в лимфоцитах обожженных

При искусственном делении лимфоцитов *in vitro* авторы исследовали частоту микронуклеуса в периферических лимфоцитах 27 обожженных с разной тяжести ожога, как одну из форм генотоксических нарушений — легко идентифицируемый показатель абберации хромосом. Проведенные до сих пор исследования свидетельствуют о том, что этот показатель не зависит от тяжести ожога, однако с возрастом повышается. Результаты по-видимому показывают, что после термической травмы, комбинированной воздействием ионизирующего облучения — фактора возникновения генотоксических нарушений, ожоговая болезнь не уменьшает ценность исследования микронуклеуса в диагностике и дифференциальной диагностике.

# Cavinton<sup>®</sup> tableta

## ÖSSZETÉTEL

1 tableta 5 mg vinpocetinomot tartalmaz.

## HATÁS

A Cavinton javítja az agyi perfúziót és ezáltal az agy oxigénellátását.

## JAVALLATOK

*Ordlisan:* különböző eredetű (postapoplexiás, posztraumás vagy sclerotikus), agyi keringészavarok psychés vagy neurológiai tüneteinek: emlékezőzavarok, aphasia, apraxia, mozgászavarok, szédülés, fejfájás csökkentésére, a klimakterium szindróma vasovegetatív tüneteinek kezelésére.

Hypertensiv encephalopathia, intermittáló vascularis cerebri Insufficiencia, angiospasticus agyi körképek, továbbá endarteritis cerebri.

Ischaemiás agyi károsodásokban, előrehaladott agyi arteriosclerosisban a kollaterális keringés javítására.

Szemészetben az érhártya és ideghártya vascularis, elsősorban arteriosclerotikus, ill. angiospasmus okozta maculadegenerációk, partialis

thrombosisok, érelzáródás következtében kialakuló másodlagos zoldhályog.

Fülészetben korral járó vascularis vagy egyes toxikus (gyógyszeres) halláscsökkenés, labyrinth eredetű szédülés.

## ELLENJAVALLAT

Terhesség.

## ADAGOLÁS

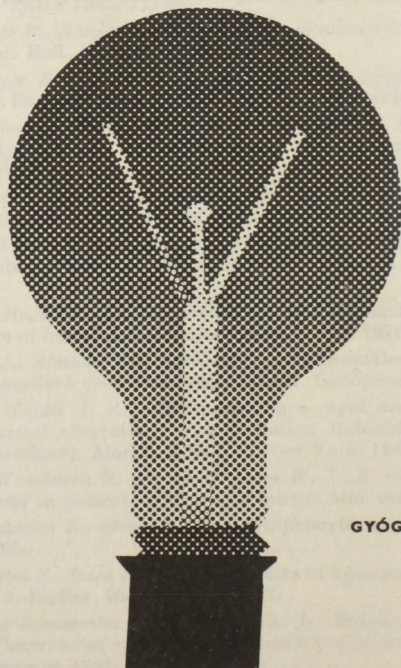
Naponta 3 x 1-2 tabl., a fenntartó adag napi 3 x 1 tabl., hosszabb időn keresztül.

## GYÓGYSZERKÖLCSONHATÁS

Az eddigi tapasztalatok szerint a tabl. interakciót nem okoz, ezért kombinációs kezelésre is alkalmas.

## MELLÉKHATÁS

Kismértékű vérnyomáscsökkenés, ritkán tachycardia, extrasystole fordulhat elő. Tartós kezelés esetén a vérképet ellenőrizni kell időnként.



KÖBÁNYAI  
GYÓGYSZERÁRUGYÁR  
BUDAPEST