

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Igazságügyi Orvostani Intézet

Funkcionális morfológiai vizsgálatok az égési sérülés patomechanizmusának kutatásában

Dr. Somogyi Endre, az orvostudomány doktora

Érkezett: 1988. 05. 10.

Kulcsszavak: égési sérülés, sejtmembrán, permeabilitási zavar

Szerző a bőrt ért első és másodfokú égési sérülésekben vizsgálta a helyi és a távoli szöveti reakciókat. Az elváltozásokat a nagy feloldású elektronmikroszkópos autoradiográfia és a nyomjelzés módszerével követte. Az első és másodfokú égési sérülésekben a sejtek ^{35}S -szulfát és ^3H -timidin felvétele az alkalmazott biokémiai és morfológiai módszerekkel egybehangzóan különbözőséget mutat. Ez a regeneráció folyamatában is kifejezésre jut. Az elektronmikroszkópos ferritin nyomjelző módszerrel másodfokú égési sérülésben távoli hatásként korán kialakult a májsejt-membránok permeabilitási zavara. A folyamat kifejezésre jut abban, hogy a jelző anyag intracellulárisan kimutatható. Az alkalmazott citokémiai módszerek alkalmasak az égési sérülés patomechanizmusának mélyebb szintű megismerésére és terápiás konzekvenciák levonására. A regenerációban részt vevő sejtek működésének stimulálása, a membrán stabilizálása elősegítheti az égési sérülések gyógyulását, a távolhatásként kialakuló következmények kivédését.

Az égési sérülések az összbaleseti statisztikákban az első helyek egyikén állnak. A Semmelweis Orvostudományi Egyetem Igazságügyi Orvostani Intézetében a termikus hatásra kialakuló helyi és általános reakciók vizsgálata több évtizedes múltat tekint vissza (4—8.).

A kültakaró bármely eredetű égési sérülése nemcsak a bőrt érinti, hanem valamennyi szervre kiterjedő súlyos funkcionális és strukturális károsodást is eredményez. A magas hőhatásra kialakuló kórélettani folyamatok és morfológiai változások

részletes elemzése és megismerése számos olyan adattal gazdagította tudásunkat, amelyek ismerete szerepet játszhat a gyógykezelés helyes módjának megválaszolásában.

Az égési sérülés következtében kialakuló neuroendokrin és metabolikus változásoknak meghatározó szerepe van a szervi, illetve szöveti elváltozások létrejöttében. Aligha kétséges azonban, hogy az égési sérülések patológiája, és ezen belül ultrastruktúrája szorosan összefügg a termikus károsodásról szóló elméleti és gyakorlati ismereteink összességével. Az új módszerek alkalmazásával és bevezetésével számos ismeretünk került új megvilágításba. A morfológiai kutatásban az új eljárások bevezetésével egyre mélyebb szintű, ún. funkcionális morfológiai elemzésekre van lehetőség. Az elektronmikroszkópia módszere, a nagy feloldású autoradiográfia és a nyomjelzés alkalmas a szerkezet és működés összhangjának, változásainak követésére. Az orvostudományak ma már alig van olyan területe, mely bizonyos vonatkozásban és módosításokkal nélkülözni tudná e rendkívül érzékeny technikákat. Vizsgálataink elsődleges célja az ún. korai elváltozások és azok időrendbeni alakulásának tanulmányozása volt.

Anyag és módszerek

Vizsgálatainkat mindkét nembeli Wistar típusú laboratóriumi patkányokon végeztük. Az állatokat intra-peritoneálisan nátrium-pentobarbital (30 mg/tskg) adásával altattuk el. Szórtelenített hátukat forrásban levő vízbe mártottuk 30 percig, így hozzávetőlegesen a testfelület 25–30%-ára kiterjedő égési sérülés alakult ki. A beavatkozást követően a patkányok testsúlyuk 8%-ának megfelelő Ringer-laktát oldatot kaptak intraperitoneálisan. Az ébredés követően az állatok vizet és táplálékot szabadon kaptak. A különböző morfológiai vizsgálatokat a beavatkozást követően, illetve az égési sérülés elszenvedése után, különböző időpontokban végeztük el. A ^{35}S -szulfát és a ^3H -timidin beépülésének kimutatásához *Chard* (1) módszerét használtuk. Az összehasonlítás céljából egyidejűleg metszett sérüléseket is tanulmányoztunk.

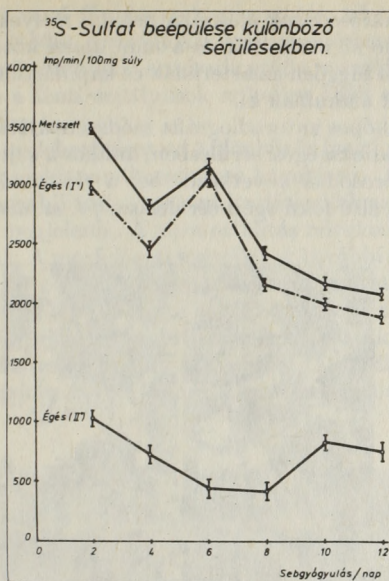
Az elektronmikroszkópos vizsgálatokhoz rutin rögzítési és beágyazási módszereket alkalmaztunk (9). A permeabilitási viszonyok követése *Srii-Ram és munkatársai* (10), az elektronmikroszkópos autoradiográfia *Salpeter* (3) módszerei szerint történt. A vizsgálatok értékelése JEOL 100B transzfúziós elektronmikroszkóppal történt. (Az alkalmazott módszerek részletes leírását a fenti irodalmi hivatkozások tartalmazzák.)

Az égési sérülések típusának meghatározása céljából minden kísérleti állatcsoportnál rutin hisztológiai vizsgálatokat végeztünk, a metszetek HE, PAS és PTAH festése után. Az első fokú égés esetében a hajszáleres hálózat területén kialakuló stasist és a felületes hámsajt-károsodást minősítettük kórjelzőnek.

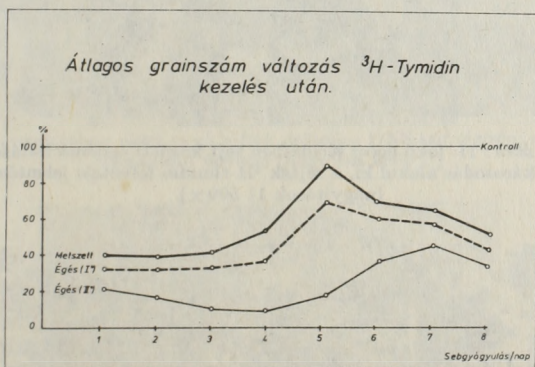
A másodfokú égés jellemzőinek a bőr hajszáleres hálózatában kialakuló permeabilitási zavart, fehérje természetű anyag kicsapódását és a részleges irhanecrosist tekintettük. A harmadfokú égés esetében az irha súlyos, kiterjedt elhalását vettük figyelembe, mint diagnosztikus értékű károsodást.

Eredmények

Az égési sérülés elszenvedése után a szervezetben az intra-peritoneálisan bejuttatott ^3H -timidin és ^{35}S -szulfát beépülése (1., 2. sz. ábra) az első és másodfokú égési sérülésben eltérést mutat. Különbözőség állapítható meg az égési sérülés és a metszett sérü-



1. sz. ábra: Metszett, I. fokú és II. fokú égési sérülésekben a sebgyógyulás idejének függvényében, a ³⁵S-szulfát beépülés eltérő

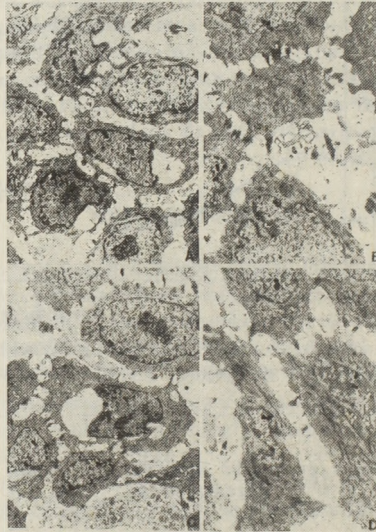


2. sz. ábra: A különböző sérüléstípusokban a ³H-timidin felvétel az I. és II. fokú égési sérülésekben jelentős eltérést mutat

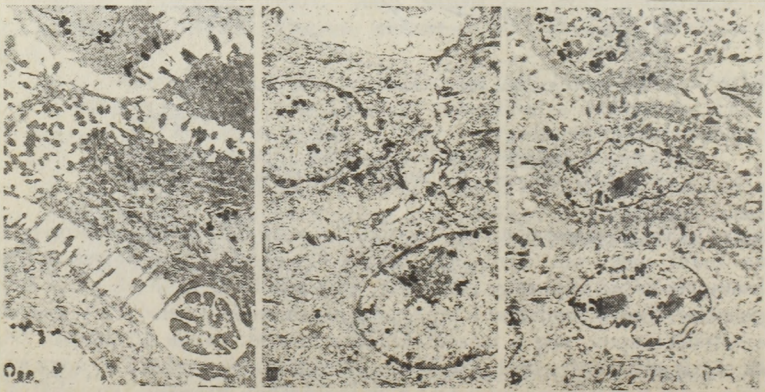
lés izotóp beépülési folyamataiban is. A másodfokú égési sérülésben az izotóp felvétele lassabban indul meg, ami arra utal, hogy a fibroblastok mucopolysaccharida és alapszubsztancia-képző képessége elhúzódik, azaz később következik be. A ³H-timidin megjelenése, illetve beépülése a sejtekbe a maximumot az első fokú égési sérüléseknél az ötödik napon, míg a másodfokúnál a hetedik napon következik be, ami a DNS szintézis változására utal. Ebből az a következtetés vonható le, hogy az égési sérülés súlyossági típusaiban a reparáció vonatkozásában eltérések állapíthatók meg. A termikus hatásra a hámrétegben az első és másodfokú égési sérülés eseteiben jelleg-

zetes ultrastrukturális károsodások alakulhatnak ki, melyek a hámsejteket, a tonofilamentumokat kapcsoló struktúrákat és a hám alatti kötőszövet rétegeit érintik. Az égési sérülés típusától függően az arteriolák és kapillárisok alszerkezetében különböző típusú elváltozások alakulnak ki.

Az elektronmikroszkópos autoradiográfia módszere alátámasztotta azt a korábbi megfigyelést, hogy másodfokú égési sérülésben, amikor a sejtek közötti oedema hatására tonofilamentum-károsodás következik be, a ^3H -timidin felvétele (3. sz. ábra) lényegesen kisebb, mint első fokú égési sérülésben (4. sz. ábra).



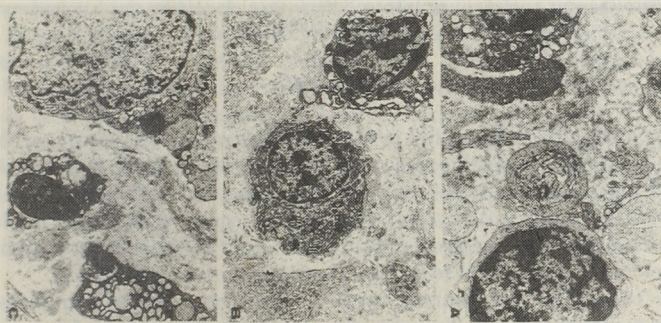
3. sz. ábra: II. fokú égési sérülésben sejt közötti oedema hatására tonofilamentum-károsodás alakul ki, a sejtek ^3H -timidin felvétele jelentősen csökken (nagyítások 11 500 \times)



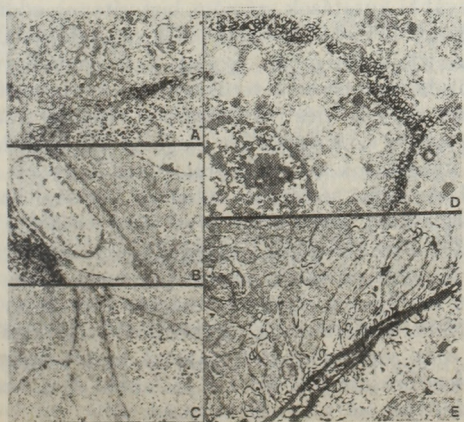
4. sz. ábra: I. fokú égési sérülésben a sejtek ^3H -timidin felvétele a II. fokúhoz viszonyítva kifejezetten erőteljesebb (nagyítás 11 500 \times)

A reparációban részt vevő fibroblastok, fibrocyták ^3H -timidinfelvétele az első fokú égési sérülésben az ötödik, másodfokú égési sérülésben a hetedik napon erőteljes, amit az elektronmikroszkópos autoradiográfia vizsgálatok is megerősítenek és igazolják, hogy abban a fenti sejttípusok erőteljes DNS szintézisének van meghatározó szerepe (5. sz. ábra).

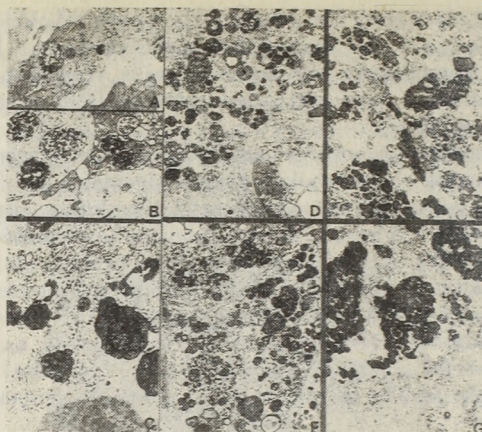
A nyomjelzés módszere lehetőséget ad különböző típusú permeabilitási változások, membránfolyamatok elektronmikroszkópos követésére. Az égési sérülések általános reakciói közül a permeabilitási zavar nem korlátozódik az égett területre, hanem távolabbi szövetekben is megjelenik. A permeabilitás növekedéséért felelős folyamatok részleteit már ismerjük. A morfológiai vizsgálatok további adatokat szolgáltatnak e kérdések tisztázásához. A példaként bemutatott májszövet esetében ép körülmények között (6. sz. ábra) a jelző anyag a sejtbe csak aktív transzport útján került, ezzel szemben másodfokú égési sérülésben már a harmadik naptól a jelző anyag intenzív intracelluláris felhalmozódása figyelhető meg (7. sz. ábra), ami egyértelműen igazolja, hogy az égési sérülés távoli hatásának következményeként permeabilitási zavar alakul ki.



5. sz. ábra: A reparációban részt vevő sejtek erőteljes DNS-szintézisére utal a kifejezett ^3H -timidin felvétel (nagyítás 9800 \times)



6. sz. ábra: Az ép májsejtek a ferritinjelző anyagot a sejtmembránokon lokalizálják (nagyítás 10 800 \times)



7. sz. ábra: II. fokú égési sérülésben korán kialakul a sejtmembrán permeabilitás változása, ami a jelzőanyag intracelluláris megjelenésében jut kifejezésre (nagyítás 10 800×)

Megbeszélés

Annak ellenére, hogy az utóbbi években az égési sérülések és az ezzel kapcsolatos halálózás számszerűen is emelkedett, viszonylag kevés kísérlet és klinikai patológiai feldolgozás foglalkozik az égés okozta szívkárosodásokkal. Ez elmúlt években hazai szerzők (2, 11) kiterjedt kutatásokat végeztek az égési sérülés után kialakult szív-működés-változások tanulmányozásában és az égési sérülések patológiai következményeinek elemző feltárásából levonható terápiás vonatkozásokban.

Minden tudományágat, annak tartalmi lényegét, azoknak hitelességét alapmódszertana is meghatározza. A módszertan ezért mindig szerves része a tudományos kutatásnak. Az önálló módszertani kezdeményezések a tudományos megfigyelésekkel ekvivalens jelentőségűek lehetnek, nemcsak akkor, ha új eredményekhez vezetnek, hanem akkor is, ha további kutatások számára biztosítanak eddig még fel nem tárt lehetőséget. Az igazságügyi orvostan szemléletének és gyakorlatának változása mindenkor az orvostudomány fejlődésével járt együtt. Az új eredmények felhasználásával és új kutatási eszközök bevezetésével e területen is a leíró, morfológiai szemléletet fokozatosan a szerkezet és működés összefüggését vizsgáló irányzat váltotta fel. Napjaink tudományos igénye szükségszerűen megköveteli, hogy a megfelelő kritikával végzett kísérletes vizsgálatok szoros kapcsolatban legyenek az orvostudomány gyakorlati kérdéseivel. Az égési sérülésben elhaltak hatósági boncolásra kerülnek, így módon azok patológiájának kérdéseiben a sérülési típusok klasszifikálásával, a szövödmények és halálok elemzésével az igazságügyi orvosszakértő közvetlenül foglalkozik. Abban egyértelműen érdekelt, hogy a patomechanizmus vonatkozásában új ismeretek birtokába kerüljön, melyeknek terápiás konzekvenciái is lehetnek, és így módon segíthetik a termikus trauma gyógykezelését végző szakember munkáját. Az elmúlt években az égési sérülések patológiájának kutatásában az érdeklődés középpontjában a termikus hatásra közvetlenül kialakuló elváltozásoknak és az ún. távoli, szervi következményeknek a tanulmányozása áll.

Saját vizsgálati eredményeink is megerősítették azt a tényt, hogy a morfológiai elváltozásokhoz jellegzetesnek mondható funkcionális változások társulnak. Az első

és másodfokú égési sérüléstípusokban a ^3H -timidin és ^{35}S -szulfát beépülése az idő függvényében eltéréseket mutat, ami egyértelműen kifejezésre juttatja azt a tényt, hogy a regeneráció folyamata már ezen két típusban is élesen elkülönül egymástól. A fenti kísérleti tapasztalatoknak bizonyos fokú terápiás konzekvenciái is lehetnek, különös tekintettel a sérülések lokális kezelését illetően. Azok a lokálisan ható gyógyszerek, amelyek a reparációban részt vevő sejtek mucopolysaccharida szintézisét fokozzák, serkenthetik a gyógyulás folyamatát.

Az égési sérülések után jelentős plazmavesztés alakul ki, amely függ a felszín károsodásának mértékétől, az endotel sejtek aktuális állapotától. Az égés után olyan funkcionális és morfológiai változások alakulhatnak ki az endotel sejtekben, melyek következménye a sejtmembrán átteresztőképességének jelentős fokozódása. A folyamat nem direkt hőhatás, hanem kémiai mediátorok által létrehozott következmény. A folyamat viszonylag gyorsan kialakul és az égési sérülés nagyságától függően már másodfokú égésben a májszövet esetében igen jelentős májsejt-membrán permeabilitási zavarral járhat. A sejtmembrán átjárhatósága a ferritin molekulával szemben arra utal, hogy a permeabilitás-zavar valószínűleg a sejtkárosodás első jeleinek egyike. A patomechanizmus vonatkozásában természetesen további vizsgálatok szükségesek, azonban a tapasztalatok aláhúzzák annak a terápiás konzekvenciának a jelentőségét, hogy a membrán stabilizálása vagy az átjárhatóság csökkentése az égési sérülések szervi következményeinek megelőzésében döntő fontosságú lehet.

Az elektronmikroszkópos nagy feloldású autoradiográfia és a nyomjelzéses módszer ma már a morfológus számára is lehetővé teszi, hogy a szerkezeti károsodások dinamikáját, azok következményeit, a funkciók változásait vizsgálja. Az égési sérülések patológiájának megértésében ezek a módszerek, tapasztalataink szerint, rendkívül értékes információk hordozói. A folyamat összetett és bonyolult jellegéből adódóan a részletkérdések feltárása, az összefüggések megértése, az égési sérülések patomechanizmusának valószínű tisztázását teszik lehetővé.

IRODALOM

1. *Chard T.*: An introduction to radioimmunoassay and related. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1986.
2. *Novák J., Bertényi C., Papp T., Ménesi I.*: Az égési sérülés patológiájának néhány terápiás vonatkozása. *Magy. Traumat.*, 1988, 31, 26.
3. *Salpeter M. M.*: General area of autoradiography at the electron microscope level. In: Prescott D. M.: *Methods in cell. physiology.* New York, 1966, 2, 229.
4. *Somogyi E., Rózsa Gy., Sótónyi P.*: Histochemische und fluoreszenzoptische Untersuchungen der Strommarke. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.* 1964. 13, 311.
5. *Somogyi E., Rózsa Gy., Sótónyi P., Orovecz B., Irányi J., Irányi C.*: L'étude de la fluorescence et de la polarisation optique. *Acta Med. Leg. Soc.*, 1966. 19, 223 >.
6. *Somogyi E., Sótónyi P., Rózsa Gy., Nevelős A., Varga T.*: Data regarding the morphology of electroshocks experimentally applied to the heart. *Zacchia* 1967, 42. 389.
7. *Somogyi E., Varga T.*: Functional and morphological changes of the liver induced by electric shock. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.*, 1971, 19, 363.
8. *Somogyi E.*: Az elektromos áramhatás és villámhatás okozta ultrastrukturális és molekuláris biológiai változások. *Eü. Min. beszámoló*, 1980.
9. *Sommerville J., Scheer U.*: *Electronmicroscopy in molecular Biology.* IRL Press, Oxford, 1987.
10. *Srii Ram J., Tawde S. S., Pierce G. P., Midgley A. R.*: Preparation of antibodyferritin conjugates for immuno-electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 1963, 17, 673.
11. *Szabó K.*: A szív működés változása égési sérülés után. *Orvostudomány Akt. Problémái*, 1987, 56, 71.

Szerző címe: 1146 Budapest, Szabó József u. 14/a

E. Somogyi M.D.D.Sc.

FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL STUDIES IN ELICITING PATHOMECHANISM OF BURN INJURIES

The author investigated local and remote tissue reactions in first-degree and second-degree skin burns. Changes were detected by high-resolution electronmicroscopic autoradiography and radioindication. The applied biochemical and morphological methods equally showed differences between first- and second-degree burns in ^{35}S -sulfate and ^3H -thymidine intake. This is evidenced in the regeneration process, too. In second-degree burns, electronmicroscopic ferritine radioindication showed early permeability disorder of liver cell membranes. The process is proved by the intercellular presence of the tracer element. The applied cytochemical methods are suitable to intensify our understanding of the pathomechanism of burns and to develop an adequate treatment. Cells stimulation involved in the regeneration and membrane stabilization may promote healing process and prevent distant secondary effects of burn injuries.

Э. Шомоди:

ФУНКЦИОНАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ИЗУЧЕНИИ ПАТОМЕХАНИЗМА ОЖОГОВОГО ПОРАЖЕНИЯ КОЖИ

Автор исследовал местные и более удаленные тканевые реакции при ожогах I и II степени. Изменения были выявлены применением электронно-микроскопической автордиографии и метода радиоиндикации. Примененные биохимические и морфологические методы единогласно показали различия между ожогами I и II степени в поглощении ^{35}S -сульфата и ^3H -тимидина клетками. Это выражается и в процессе регенерации. При ожогах II степени, в качестве удаленного действия рано развивается нарушение проницаемости мембран печеночных клеток. Процесс выражается в том, что индикаторное вещество внутриклеточно выявимо. Примененные цитохимические методы позволяют более глубоко понимать патомеханизм ожогового поражения и выработать, соответственно этому, адекватную терапию. Стимуляция клеток, участвующих в регенерации, стабилизация мембраны могут содействовать лечению ожоговых поражений и предотвращению отдаленных последствий.