

616.5-001.27-085.778[:547.835.3]-097.9

STUDIE O OCHRANNÉM ÚČINKU CELKOVÉHO PODÁNÍ CHLOROQUINU PŘI POŠKOZENÍ KŮŽE MORČAT RTG ZÁŘENÍM

Tibor BIELICKÝ, Miroslav ŽÁK, Pavel BARTÁK, Lubor MALINA

Kožní klinika lékařské fakulty hygienické KU v Praze

(přednosta doc. MUDr. T. Bielický, DrSc.)

Biofyzikální ústav lékařské fakulty KU v Praze

(přednosta doc. MUDr. Z. Dienstbier, DrSc.)

Úvod

Zřetelný ochranný účinek syntetických antimalarik, např. chloroquinu, hydrochloroquinu a quinakrinu u některých fotodermatóz dal nám podnět ke zkoumání otázky, zda nemají tyto látky protektivní účinek také v oblasti ionizujícího záření.

Předběžné zjišťování účinku antimalarik in vitro a in vivo na aktivitu pentózového cyklu v lidských erythrocytech ukázalo, že chloroquin (Resochin) ji signifikantně zvyšuje (1—3).

Protože pentózový cyklus je při nemoci z ozáření utlumen (4—6), uvažovali jsme, zda může celkové podání chloroquinu příznivě ovlivnit průběh tkáňových reparačních změn v postiradiačním období.

Metodika

Pokus byl proveden na 115 morčatech, bílých samcích, přibližně stejné váhy a stejného stáří. Ozařování bylo provedeno rentgenovým přístrojem Makrophos 250 československé výroby. Ozařovací hodnoty byly voleny tak, aby byla převážně poškozena kůže. Toho se docílilo při hodnotách 75 kV na rentgence a 15 mA. Filtrace nebyla použita. Vzdálenost ohniska od kůže byla 26 cm. Polovrstva 0,23 mm Cu. Příliv za těchto podmínek činil 38,5 r/min. Dozimetrie byla prováděna dozimetrem Mekapion rakouské výroby. Dvacet čtyři hodiny před ozářením byla morčata depilována komerčním chemickým depilátorem Depilas Golgot. Kožní reakce po depilátoru nebyly zjištěny. Ozařované pole přečínalo pole depilované ve všech směrech asi o 0,25 cm a bylo ohraničeno vždy ve směru kraniokaudálním na spodním okraji průmětem spodní části os sacrum a ve směru kolmém bylo vymezeno šířkou 5 cm. Ozařované pole o rozměrech 3 × 5 cm bylo vymezeno oloveným plechem 2 mm silným, který stínil ostatní partie morčete.

Ve vlastním pokuse se přikročilo nejprve ke zjištění prahové dávky potřebné k vyvolání rentgenového erytému. Gradace dávky rentgenového záření byla volena od 100 — 2000 r. Dávka ozáření byla zvyšována po 100 r. Zvyšování dávky se docílilo prodlužováním dávky expozice při zachování všech ostatních parametrů.

Stupeň vyvolaného erytému byl odečítán pomocí srovnávací barevné šablony. Šablona byla zhotovena z plexiskla a měla 14 barevných odstínů kongočerveně.

Prahová dávka byla zjišťována celkem při 40 nezávislých expozicích, které byly dvakrát opakovány. Dávka pro vyvolání rentgenového erytému byla 1400 r. Kolísala v závislosti na ročním období v rozpětí 200 r. V létě a na začátku zimy byla zvířata rezistentnější.

Chloroquin (5% Resochin Bayer pro injectione) byl podáván intraperitoneálně. Toxická dávka pro zvíře byla 0,5 ml (0,025 mg) Resochinu. To odpovídá 0,002 ml na 1 g živé váhy zvířete. Proto byla zvolena jako maximální dávka 0,4 ml Resochinu. Mimoto byly aplikovány dávky 0,05 ml, 0,3 ml, 0,1 ml.

U jedné části pokusných zvířat byly uvedené dávky podány 2 hodiny před ozářením. U druhé stejně početné byl podán Resochin 1/2 hodiny po ozáření. Další skupina byla ozářena bez podání Resochinu a poslední skupina dostala Resochin a nebyla ozářena.

Z každého morčete byl odebrán bioptický vzorek kůže sedmý a čtrnáctý den. Excize byla provedena skalpelem bez anestézie. Materiál byl fixován v Bouinově tekutině a zpracován obvyklým způsobem v parafinu. Preparáty byly barveny hematoxylin-eozinem, metodou podle Van Giesona, podle Weigerta a metodou PAS.

Výsledky

Klinické i histologické změny bylo možno seřadit do stupnice od zcela intaktní kůže až po ireparabilní změny. Ani v jednom případě celé sestavy se intenzita nalezených klinických známek nelišila od projevů histologických. Vzhledem k tomu, že histologické změny bylo možno hodnotit mnohem exaktněji, použili jsme především histologický nálezný základ hodnocení změn. Abychom mohli změny číselně a graficky vyjádřit a statisticky hodnotit, vyčlenili jsme šest stupňů poškození a označili je indexy 0—5:

- 0 — žádné chorobné změny,
- 1 — epidermis v různém stupni atrofická, chlupových folikulů je méně, v korigu zmnožení kolagenních vláken, různě intenzivní perivaskulární infiltráty, s převahou mononukleárů,
- 2 — v epidermis je vřed, krytý krustou, jinak jsou změny obdobné jako v 1, v korigu přiměřená zánětlivá reakce,
- 3 — identický nálezný jako ve skupině 2, avšak v dermoepidermální junkci jsou úseky

Závislost intenzity rtg. erytému na dávce a době podání Resochinu Bayer

Poř. čís.	Množství podaného Resochinu v ml	Doba podání v hodinách		Index klinického a histologického poškození																Hodnota hojivé tendence mezi 7. a 14. týdnem po oz.								
		Před ozářením	Po ozářením	7 dní po ozáření								14 dní po ozáření																
				1	2	3	4	5	6	7	8	Průměr	Významnost	1	2	3	4	5	6		7	8	Průměr	Významnost				
1	0			5	5	5	4							4,74		4	4	5	4							4,25		0,49
2	0,05	2		3	5	5	5	4						4,4	Nevýznamné	3	4	4	4	4						3,8	Nevýznamné	0,6
3		0,5		3	4	4	4	4						3,8	10% hranice významnosti	2	5	4	5	4						4	Nevýznamné	-0,2
4	0,1	2		4	5	4	5	4	4					4,33	Nevýznamné	2	2	3	2	+	2					2,2	2% hranice významnosti	2,13
5		0,5		5	4	4	4	4	5					4,33	Nevýznamné	4	2	+	3	2	3					2,8	2% hranice významnosti	1,53
6	0,3	2		3	2	4	4							3,25	10% hranice významnosti	1	1	3	2							1,75	2% hranice významnosti	1,5
7		0,5		4	4	4	4	4	4					4	10% hranice významnosti	4	2	2	4	4	+					3,2	10% hranice významnosti	0,8
8	0,4	2		2	2	3	2	1	4	4	4			3,66	2% hranice významnosti	1	0	+	+	+	2	2	+			1,25	2% hranice významnosti	2,41
9		0,5		3	4	4	4	5	4	4				4	Nevýznamné	1	2	2	1	3	2	2				1,86	2% hranice významnosti	2,14
10	0,4	neozářeno		0	0	0								0		0	0	0								0		0
11	0	neozářeno		0	0	0								0		0	0	0								0		0

likvefakční degenerace bazální vrstvy, tvořící místy i malé vezikuly,

- 4 — rozsáhlý defekt epidermálního krytu s výraznou atrofií zbývající epidermis, avšak s dobrou a přiměřenou zánětlivou reakcí v korigu,
- 5 — stejné nebo těžší změny jako v 4, ale s nepřiměřeně malou nebo žádnou zánětlivou reakcí v korigu.

Konfrontace klinického i histologického nále-

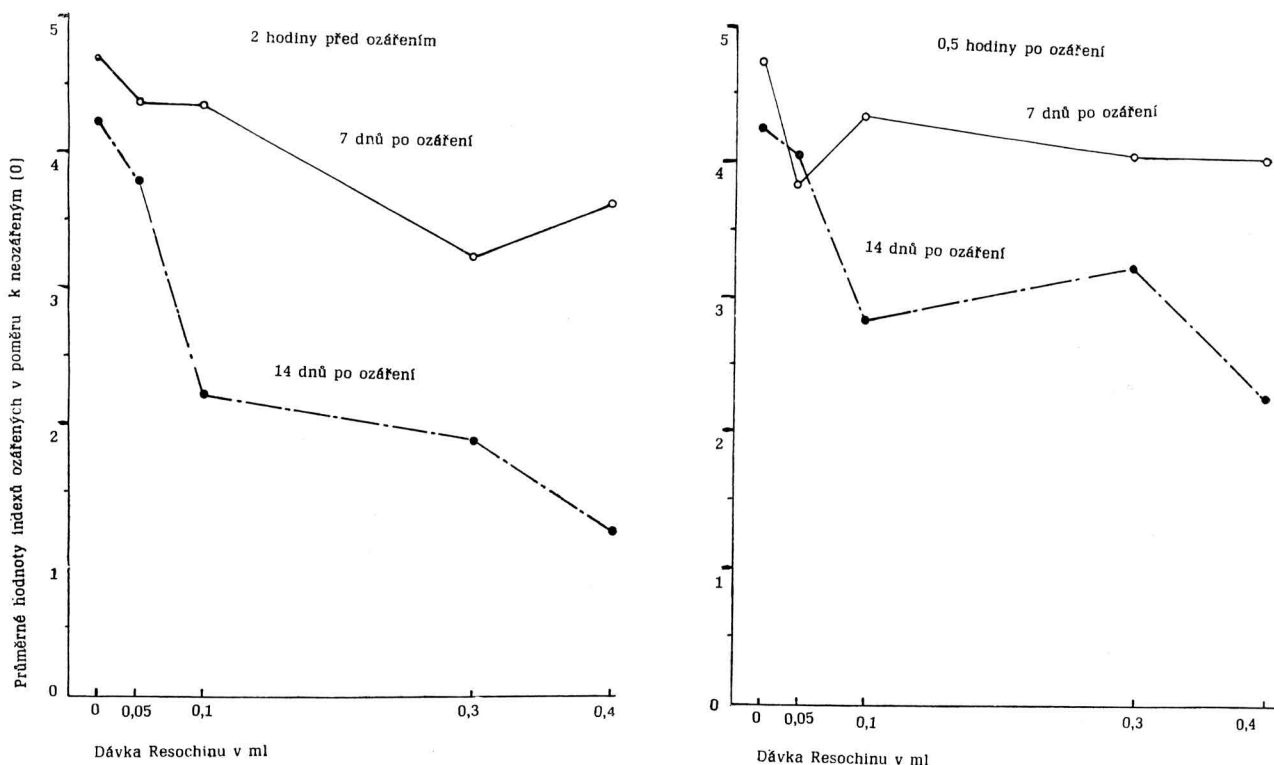
zu s aplikovanou dávkou záření a Resochinu byla vždy prováděna teprve ex post.

Závislost intenzity rentgenového poškození na dávce a době podání Resochinu je vyjádřena v tabulce 1.

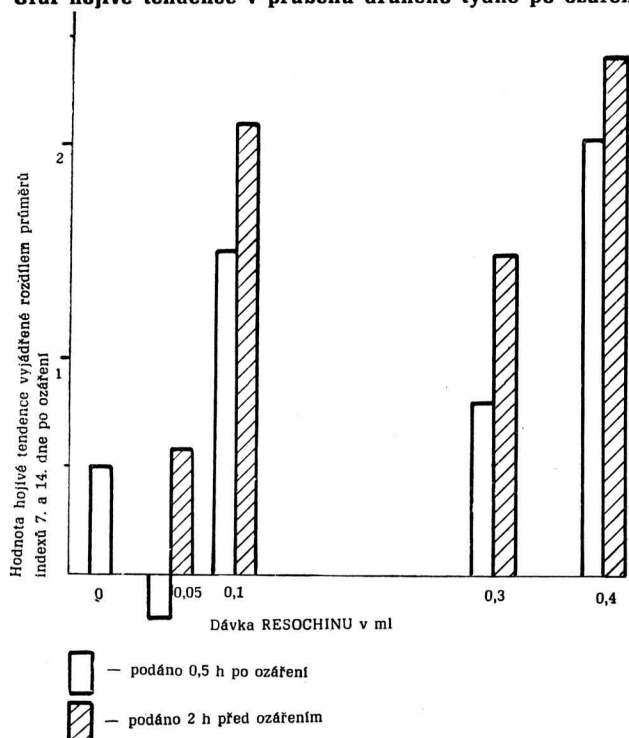
Indexy individuálního poškození kůže jednotlivých zvířat byly vyhodnoceny statisticky pořadovým testem podle Wilcoxon.

Graf 1 znázorňuje závislost průměru indexů klinického a histologického nálezu po podání Resochinu.

Graf závislosti poškození kůže rtg. zářením na dávce podaného Resochinu Bayer



Graf hojivé tendence v průběhu druhého týdne po ozáření



Z tabulky i grafu je zřejmé, že se zvyšováním dávky Resochinu se radiální poškození kůže zmenšuje. Resochin podaný 2 hodiny před ozářením měl progresivnější účinek. Graf hojivé tendence dokresluje předchozí výsledky.

Diskuse

Z výsledků vyplývá, že chloroquin (Resochin Bayer) příznivě ovlivňuje reparaci kožních změn způsobených ionizačním zářením. Jeho účinek se zlepšuje se stoupající dávkou antimalarika. Nejlepšího efektu se docílilo aplikací léku dvě hodiny před ozářením pokusných zvířat.

Z vlivů, které jsou schopny vést k pozorovanému účinku musíme v první řadě uvažovat o stimulační činnosti pentózového cyklu. Je známo, že na něm závisí regenerace tkání. Tento enzymatický cyklus je jediným zdrojem ribózo-5-fosfátu (7, 8) a dále hlavním zdrojem redukovaného trifosfopyridinnukleotidu (NADPH). Z toho vyplývá schopnost produkce základních součástí nukleových kyselin, stejně jako purinů a pyrimidinů, dále pak schopnost prostřednictvím předávání disponibilního vodíku z NADPH

- udržovat v redukovaném stavu SH-skupiny,
- redukcí kyseliny listové v kyselinu tetrahydrolistovou umožňovat syntézu purinů a pyrimidinů,

- stimulovat tvorbu lipidů a fosfolipidů.

Ve všech těchto metabolických procesech nalézají se při nemoci z ozáření značné patologické změny.

Řada pracovníků zjistila, že aktivita pentózového cyklu je přímo úměrná míře tkáňového růstu a novotvorby. Tyto poznatky učinili na mladých tkáních za fyziologických poměrů i na tkáních tumorózních (9—13).

Ať již je útlum aktivity pentózového cyklu po ozáření způsoben sníženou hladinou redukovaných nikotinamidových nukleotidů, jak se někteří autoři domnívají (14), nebo porušenou vazbou mezi enzymy a koenzymy, jak si to představují jiní (15), dá se reálně předpokládat, že každý faktor aktivity Pc in vivo stimuluje provede k urychlení syntetických tkáňových regeneračních procesů. Jako takový se chloroquin v našem pokuse předběžně osvědčil. I když nelze jenom toto jediné teoretické vysvětlení přijmout jako vyčerpávající zdůvodnění, poskytuje v tomto směru určitou základní premisu pro další zevrubné zkoumání vztahu postiradiačních změn a regulace glycidového metabolismu.

Závěr

Byl sledován vliv celkové aplikace chloroquinu (Resochin^R) na ochranu kůže morčat vůči ionizačnímu záření. Jak plyne z výsledků, zvyšující se dávkou, podanou dvě hodiny před ozářením, stoupá ochranný účinek. Při podání chloroquinu půl hodiny po ozáření nebylo docíleno tak význačného účinku.

V diskusi autoři hovoří o možné roli Resochinem aktivovaného pentózového cyklu užití glukózy v postiradiačních reparačních tkáňových procesech.

Literatura

- Bielický, T., Šonka, J., Malina, L.: Acta dermat.-venereol. (Stockholm) 44, 1963, 273.
- Bielický, T., Malina, L., Šonka, J.: Acta dermat.-venereol. (Stockholm) 45, 1965, 218.
- Bielický, T., Malina, L., Šonka, J.: Čs. Dermat. 39, 1964, 82.
- Šonka, J., Malina, L., Pospíšil, J., Dienstbier, Z.: Voj. zdrav. Listy. Sborník 2, 1959, 67.
- Šonka, J., Pospíšil, J., Dienstbier, Z.: Čas. Lék. čes. 103, 1964, 1343.
- Šonka, J., Nosek, J., Vích, Z., Pospíšil, J., Dienstbier, Z.: Atompraxis 11, 1965, 157.
- Cohen, S. S., Barner, H. D., Lichtenstein, J.: J. biol. Chem. 236, 1961, 1448.
- Reichard, P., Balenstein, A., Ruthberg, L.: J. biol. Chem. 236, 1961, 1150.
- Wenner, C. G., Weinhouse, S.: J. biol. Chem. 222, 1956, 399.
- Dubovský, J., Šonka, J.: Čas. Lék. čes. 94, 1955, 1027.
- Abraham, S., Cady, P., Chaikoff, L. I.: Proc. amer. Ass. Cancer Res. 2, 1956, 89.
- Kit, S.: Cancer Res. 16, 1956, 70.
- Weber, G., Banerjee, G., Morris, H. P.: Cancer Res. 21, 1961, 933.
- Šonka, J., Hilgertová, J., Dienstbier, Z., Pospíšil, J.: Atompraxis (v tisku).
- Stoppani, A. O. M., Millstein, C.: Biochem. J. 64, 1957, 406.