

615.7/-001.28-084/-03:616.74-031.61:577.391

MORFOLOGIE MÍSTNÍCH ZMĚN PO INTRAMUSKULÁRNÍ APLIKACI NĚKTERÝCH RADIOPROTEKTIV

Mjr. MUDr. Milan REŠL, plk. doc. MUDr. Pavel KUNA, CSc.
Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav JEP, Hradec Králové
(náčelník: genmjr. prof. MUDr. J. Vaňásek, CSc.)

I přes intenzivní výzkum v oblasti chemické radioprotekce nebyla dosud nalezena účinná látka, která by neměla významné vedlejší farmakologické účinky. Jako jedny z nejúčinnějších se dosud jeví některé látky skupiny tryptaminových derivátů a thiosloučenin, zvláště pak mexamin, cystamin a gamafos. Jejich ochranný účinek je obecně znám.

Jednou z možností výrazného omezení jejich vedlejších účinků, zvláště v oblasti hemodynamiky (8, 2), je jejich intramuskulární aplikace (3, 4).

Vzhledem k tomu, že jsme v literatuře nám dostupné nenalezli údaje týkající se místních změn po intramuskulární aplikaci radioprotektiv, provedli jsme v tomto smyslu srovnání výše uvedených substancí nebo jejich kombinace (cystamin—mexamin) v používaných rozpustidlech (injekční voda, fyziologický roztok) s místními změnami vyvolanými i. m. aplikací samotných „rozpuštědel“ u neozařených potkanů.

Výše uvedenou problematiku jsme studovali ve dvou základních experimentech (5, 6), jejichž srovnání je předmětem tohoto sdělení.

Materiál a metoda

Fyziologický roztok Imuna, Aqua pro inj. Biotika, gamafos ve fyziologickém roztoku, gamafos v injekční vodě

K experimentu bylo použito dospělých samic potkanů (*Rattus norvegicus*, Wistar) s průměrnou hmotností 200 g, dodané farmou Velaz, Praha. Potravu tvořilo standardizované peletované krmivo DOS-2b (VELAZ) a pitná voda ad libitum. Do experimentu bylo celkově zahrnuto 192 potkanů, kteří byli rozděleni do 4 skupin.

První skupině byl aplikován fyziologický roztok Imuna v dávce 0,5 ml/100 g váhy i. m. v jedné injekci.

Druhé skupině pak gamafos tuzemské výroby (Krajčovič, 1982) v dávce 200 mg/kg, 0,5 ml/

/100 g rozpuštěný ve fyziologickém roztoku i. m. v jedné injekci.

Třetí skupině byla aplikována Aqua pro inj. Biotika v dávce 0,25 ml/100 g i. m. ve dvou injekcích do pravého a levého bérce svalstva.

Čtvrté skupině rovněž gamafos, rozpuštěný v injekční vodě v dávce 200 mg/kg, dvakrát 0,25 ml/100 g i. m. do oblasti pravého i levého bérce svalstva.

Svalová tkáň z místa aplikace byla k histologickému vyšetření odebírána za 6, 24 a 72 hodin, dále pak 5., 7., 14. a 21. den po aplikaci zkoumaných látek, bezprostředně po usmrcení éterem. V každém odběrovém intervalu bylo vyšetřeno 6 potkanů.

Fyziologický roztok Imuna, cystamin ve fyziologickém roztoku, cystamin a mexamin ve fyziologickém roztoku

V tomto experimentu bylo užito potkanů obojího pohlaví i stejných laboratorních podmínek. 126 potkanů bylo rozděleno do 3 skupin.

První skupině byl i. m. aplikován fyziologický roztok Imuna v objemovém množství 0,2 ml/100 g.

Druhé skupině cystamin dihydrochlorid ve fyziologickém roztoku v dávce 60 mg báze na 1 kg tělesné hmotnosti, v objemovém množství 0,2 ml/100 g.

Třetí skupině pak kombinace cystaminu (24 mg báze na 1 kg hmotnosti) v téže objemovém množství (0,2 ml/100 g).

Odběrové intervaly: 6 hodin, 1., 2., 3., 7., 14. a 21. den po i. m. podání zkoumaných látek.

Bylo užito standardní histologické techniky. Barvení hematoxylinem — eosinem. Jako doplňujících barvicích metod bylo užito barvení podle van Giesona, Groccota a luxolovou modří.

Výsledky

Fyziologický roztok Imuna, Aqua pro inj. Biotika, gamafos ve fyziologickém roztoku, gamafos v injekční vodě

6 hodin po aplikaci

U všech zkoumaných látek byly zjištěny jen diskrétní změny, spočívající v nevelkém intersticiálním krvácení, edému jednotlivých svalových vláken s centralizací sarkolemových jader, ojedinělých ložiscích hyalinní degenerace sarkoplazmy vláken (zvýšená eosinofilie homogenního vzhledu se ztrátou příčného pruhování). Buněčná reakce je převážně granulocytární. Z hlediska kvantitativního nebylo významnějšího rozdílu mezi jednotlivými skupinami.

12 hodin po aplikaci

Ze semikvantitativního pohledu jsou změny nejvíce vyjádřeny po podání Aqua pro inj. Spočívají ve vystupňování hyalinní, respektive již granulární degenerace sarkoplazmy (Zenkerova nekróza). Sarkolemové pochvy jsou zachová-

vány, jejich jádra pomnožena. Buněčná reakce granulocytohistiocytárního charakteru. Ojedinele edém intersticia. Charakter těchto změn byl podobný i u dalších dvou druhů látek, avšak po fyziologickém roztoku byly změny nejméně vyjádřeny.

24 hodin po aplikaci

Změny výše popsané byly opět nejvíce vyjádřeny po aplikaci Aqua pro inj., kde ložiskově přistupuje i kompletní destrukce svaloviny. Tato zcela diskrétně byla zjištěna i po gamafosu rozpuštěném v Aqua pro inj.

72 hodin po aplikaci

Charakter změn popsaný v předchozím odběrovém intervalu se v zásadě nemění, avšak v okrajích kompletně destruovaných ložisek je zachycena jednak tvorba nespecifické granulární tkáně, jednak jsou již přítomna mnohojaderná svalová symplazmata. Buněčná reakce je převážně histiocytárního charakteru. Změny jsou nejvíce vyjádřeny po aplikaci Aqua pro inj. I zde je patrný větší rozsah změn po gamafosu ve fyziologickém roztoku. V případě podání samotné Aqua pro inj. je patrná větší pokročilost změn (větší projasnění sarkoplazmy fagocytózou, výrazné pomnožení jader bazálních membrán a tvorba symplazmat). Po fyziologickém roztoku nebyly nalezeny patologické změny.

5 dní po aplikaci

Změny po podání Aqua pro inj. nejvíce vyjádřeny, jsou přítomny známky vystupňované fibroblastické aktivity i regenerační projevy ve formě tvorby buněčných pruhů. Tento projev regenerace zcela převládá po aplikaci gamafosu. V tomto ani v dalších odběrových intervalech nebyly zjištěny patologické změny po i. m. aplikaci fyziologického roztoku.

V dalších odběrových intervalech nebyly zjištěny patologické změny po i. m. aplikaci fyziologického roztoku.

V dalších odběrových intervalech, tj. 7., 14. a 21. den po i. m. aplikaci zkoumaných látek, jsou nalezeny jen reparační, respektive intenzivní regenerační změny, které s délkou intervalu od aplikace se stávají méně zřetelné a svalová tkáň se blíží normě. Po podání Aqua pro inj. byla nalezena minimální ložiska pojivové tkáně, která v případě gamafosu byla zcela diskrétní.

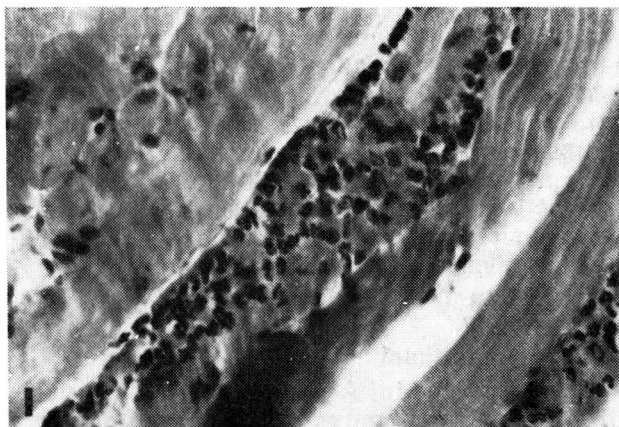
Fyziologický roztok Imuna, cystamin ve fyziologickém roztoku, cystamin a mexamin ve fyziologickém roztoku

Po i. m. aplikaci fyziologického roztoku dochází k hyalinní až granulární degeneraci jednotlivých svalových vláken, která je provázena granulocytární buněčnou reakcí. Tyto změny jeví progredující charakter od 6 do 48 hodin po aplikaci. Po 72 hodinách jsou minimální. V odběrovém intervalu 7 dní po aplikaci jsou zjištěny patologické změny.

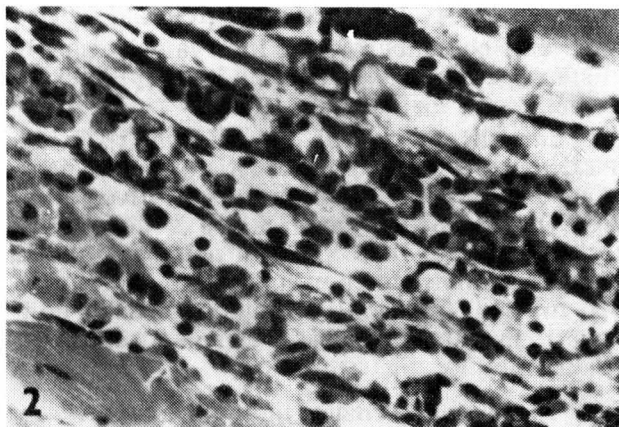
Po i. m. aplikaci cystaminu jsou zjištěny ne-

výrazné změny za 6 hodin po aplikaci, avšak významné poškození je shledáno až za 24 hodin. Změny spočívají v granulární degeneraci sarkoplazmy jednotlivých svalových vláken s hojnou granulocytární a histiocytární reakcí.

V další fázi procesu buněčná reakce nabývá charakteru převážně histiocytárního. Tyto elementy postupnou fagocytózou projasňují sarkoplazmu. Změny stejného charakteru jsou dobře patrné v časovém intervalu 48–72 hodin po aplikaci. Bazální membrány jsou zpravidla zachovány. Ložiskově je však nalezena i kompletní nekróza svalové tkáně. Projevy regenerace jsou nalezeny 7. den po aplikaci a pokračují v dalších odběrových intervalech, tj. 14. a 21. den po podání. Téměř kompletní regenerace je přítomna 7. den po aplikaci.



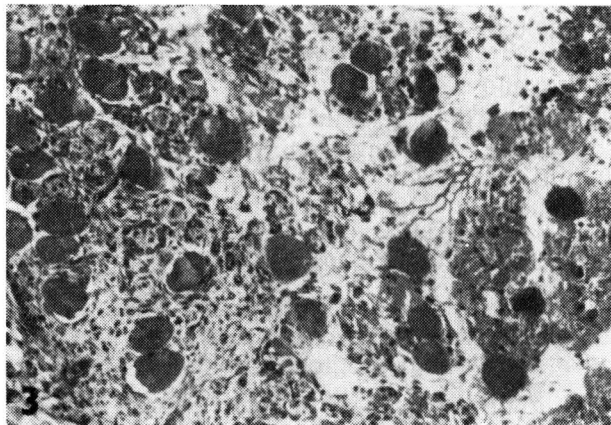
Obr. 1. Podélně zachycené svalové vlákno s ložiskově vyjádřenou granulární degenerací sarkoplazmy a převážně granulocytární buněčnou reakcí. Fyziologický roztok, 6 hodin po aplikaci. HE, 120krát



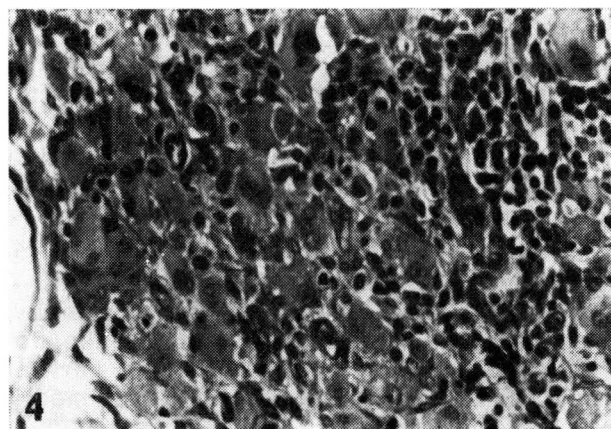
Obr. 2. Pevážně histiocytární úklidová reakce destruované sarkoplazmy, zachované linie bazálních membrán. Cystamin — mexamin, 24 hodin po aplikaci. HE, 120krát

Po podání kombinace cystaminu s mexaminem jsme nezjistili kvalitativně odlišné změny oproti i. m. aplikaci samotného cystaminu. Tyto však nastupují v kratším časovém intervalu po podání. Již po 6 hodinách je zjištěna granulární degenerace sarkoplazmy s granulocytární

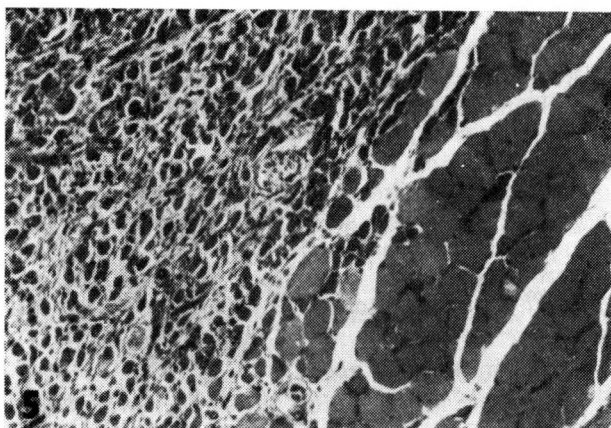
buněčnou reakcí. I v případě podání kombinace nedochází k rozsáhlejší kompletní destrukci svalových vláken, která bývá jen ojediněle nalezena. Projevy regenerace jsou přítomny 7. den po aplikaci. Ojediněle je však nalezena i výraznější intervence pojivové tkáně.



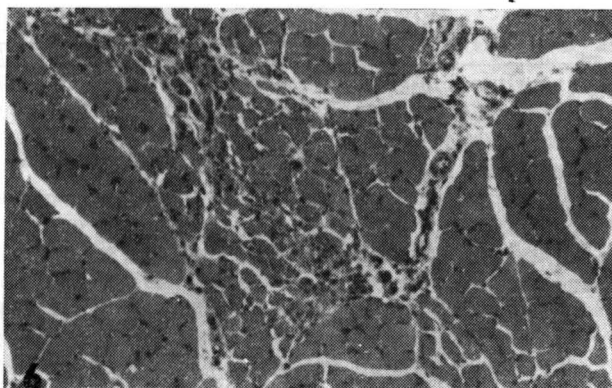
Obr. 3. Granulární degenerace až kompletní nekróza příčně zachycených svalových vláken. Aqua pro inj., 72 hodin po aplikaci. HE, 50krát



Obr. 4. Obrovské buňky svalového typu za 72 hodin po aplikaci gamafosu in aqua. HE, 120krát



Obr. 5. Zóna regenerace 7 dní po aplikaci gamafosu in aqua. HE, 50krát



Obr. 6. Reziiduální změny po gamafosu ve fyziologickém roztoku 7 dní po aplikaci. HE, 50krát

Diskuse

Výše uvedené výsledky ukazují, že po i. m. aplikaci zkoumaných látek (gamafosu, cystaminu — mexaminu, injekční vody a fyziologického roztoku) byly první změny zachyceny 6 hodin po jejich podání. Spočívaly v edému jednotlivých svalových vláken, hyalinní až granulární degeneraci sarkoplazmy. Buněčná reakce byla v této fázi převážně granulocytární. Tyto změny byly nalezeny u všech zkoumaných látek. Další dynamika vyvolaného poškození závisela na druhu podané látky.

Z hlediska „semikvantitativního“ bylo nejmenší poškození vyvoláno i. m. podáním samotného fyziologického roztoku (Imuna), kdy po 72 hodinách již nebyly nalezeny patologické změny, a to jak po aplikaci objemového množství $0,2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$, tak i po $0,5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Po obou aplikačních formách gamafosu došlo k rozvoji granulární degenerace sarkoplazmy (Zenkerova nekróza) s následnou fagocytózou histiocytárními elementy. Jen zcela ojediněle byla pozorována kompletní nekróza svalových vláken po podání gamafosu v injekční vodě. Z hlediska „semikvantitativního“ však tyto změny ve srovnání s i. m. aplikací cystaminu, a zvláště pak jeho kombinace s mexaminem, byly méně vyjádřeny.

Nejvýraznějších změn bylo nalezeno po aplikaci samotné Aqua pro inj. Biotika, kde zpravidla dochází ke kompletní nekróze svalových vláken, která je v další fázi částečně reparována nespecifickou granulární tkání, částečně regenerována formací buněčných pruhů. Poškození bylo zjištěno 6 hodin po podání s následnou rychlou progresí do ložiskové kompletní destrukce svalové tkáně již za 24 hodin po aplikaci.

Je obecně známou skutečností, že absorbce i. m. podané látky je ovlivněna její koncentrací, jejím pH, ale i jinými faktory včetně možného jizvení při opakovaném podání, které může dát vznik komplikacím až ortopedického charakteru (Lloyd - Roberts et al. 1964, Alvarez et al. 1980, Shanmugasundram 1980. Citace 1). V experimentech na zvířatech bylo prokázáno, že opakovaná i. m. aplikace může vést

k tvorbě lymfatické tkáně, která je pravděpodobně odpovědná za rychlejší vstřebávání aplikované látky (Gray 1967. Citace 1). Na základě studia místních změn po i. m. aplikaci gamafosu rozpuštěném ve fyziologickém roztoku v jeho účinné koncentraci jsme tyto změny neprokázali po čtyřikrát opakované aplikaci v třítydenních intervalech.

Z našich výsledků je tedy zřejmé, že místní změny po i. m. aplikaci gamafosu nedosahují rozsahu a intenzity změn vyvolaných i. m. podáním samotné Aqua pro inj. Biotika neozářeným potkanům. Srovnání těchto změn s místními změnami po cystaminu nebo po jeho kombinaci s mexaminem ukázalo, že gamafos rozpuštěný ve fyziologickém roztoku je jednou z možných i. m. aplikačních forem, neboť vyvolává menší poškození svalové tkáně potkanů než i. m. aplikovaná radioprotektiva s ním srovnávaná.

Souhrn

U neozářených potkanů je popsána dynamika morfologických změn po intramuskulárním podání fyziologického roztoku Imuna, Aqua pro inj. Biotika, gamafosu (tuzemské výroby) rozpuštěném ve fyziologickém roztoku nebo v injekční vodě, cystaminu a jeho kombinace s mexaminem rozpuštěném ve fyziologickém roztoku neozářeným potkanům. Nejméně vyjádřené místní změny byly nalezeny po aplikaci samotného fyziologického roztoku, nejvýraznější pak po samotné Aqua pro inj. Biotika. Ze srovnávaných aplikačních forem zkoumaných radioprotektiv je nejvhodnější gamafos ve fyziologickém roztoku.

Literatura

1. COCKSHOT, W. et al.: Intramuscular or intralipomatous injection. N. Engl. J. Med., 307, 1982, č. 6, s. 356 až 358.
2. KUNA, P.: Radioprotektivní účinek cystaminu po různých způsobech parenterálního podání myším a krysám. In: Sborník vědeckých prací VLVDÚ JEP. 88. Hradec Králové, VLVDÚ JEP 1981, s. 3—23.
3. KUNA, P.: Radioprotective and hemodynamic action of cystamine given intramuscularly in rats. Radiobiol. Radiother., 22, 1981, č. 6, s. 793—800.
4. KUNA, P. - VOLENEC, K. aj.: Radioprotective and hemodynamic effects of WR-2721 and cystamine in rats, time course studies. Neoplasma, 30, 1983, č. 3, s. 349 až 357.
5. REŠL, M. - KUNA, P.: Histopathological study of local changes after intramuscular administration of cystamine or its combination with mexamine in non — irradiated rats. Radiobiol. Radiother. (V tisku)
6. REŠL, M. - KUNA, P.: Local changes after intramuscular administration of gammaphos (WR-2721) in rats. Radiobiol. Radiother. (V tisku)
7. REŠL, M. - KUNA, P.: Místní změny po opakovaném i. m. podání gamafosu (WR-2721) neozářeným potkanům. In: Sborník vědeckých prací VLVDÚ JEP. (V tisku)
8. VOLENEC, K.: Hemodynamické změny ozářených krys chráněné cystaminem a jejich farmakologické ovlivnění. [Kandidátská disertace.] Hradec Králové 1980. 166 s. — Univerzita Karlova. Fakulta lékařská.

Klíčová slova: Patologie; Přičně pruhovaná svalovina; Radioprotektika.