

615.7/-001.28-084/

RADIOPROTEKTIVNÍ LÁTKA WR 2721: OD VOJENSKÉHO VÝZKUMU KE KLINICKÉMU VYUŽITÍ 1. část

Doc. MUDr. Pavel PETÝREK, CSc., doc. RNDr. Jiřina VÁVROVÁ, CSc.
Ústav radiobiologie a imunologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové
(rektor: plk. doc. MUDr. Svatopluk Býma, CSc.)

Úvod

Studium mechanismů radioprotekce vede k racionálnímu použití radioprotektivních látek při různých aplikacích. Protože radioprotektivní látky působí různými mechanismy, je nezbytné rozlišovat jejich aplikaci při zevním a vnitřním ozáření během havárie, při radiačním poškození krátkodobými vysokými nebo dlouhodobými nízkými dávkami záření, při ozáření ionizujícím zářením s vysokým LPE (lineární přenos energie) během orbitálních letů a při radioprotekci normálních tkání při radioterapii. Radioprotektivní látky jsou obecně klasifikovány jako sulfhydrylové látky, jiné antioxidační látky nebo receptory zprostředkované látky (tj. bioaktivní lipidy, cytokiny a růstové faktory). Nejvýznamnější postavení mezi nimi má WR 2721 = [S-2-(3-aminopropylamino) ethyl phosphorothioic acid] = [S-2-(aminopropylamino) ethylester kyseliny fosforečné] (synonyma -amifostine, ethyofos, gamafos) pod firemním názvem Ethylol (US Bioscience, West Conshohocken, USA), které má vysokou afinitu k DNA. Budoucí výzkum by měl demonstrovat, že radioprotektivní látky mají své místo při radiačních haváriích, zvláště pokud jsou použity v kombinaci s léčivými, kterými jsou především antiemetika, purifikované kmenové buňky, G-CSF a jiné cytokiny (89).

Látky obsahující sulfhydrylové skupiny jsou nej-

lepší dnes známé radioprotektivní látky. Základními problémy jejich použití je jejich toxicita a krátká doba jejich účinnosti. Na základě dosud známých výsledků je možno říci, že dnes neexistuje radioprotektivní látka, kterou by bylo možno považovat za ideální (44).

Využití aminothiolykových sloučenin (cystein) jako radioprotektivních látek popsali Patt a spol. již v roce 1949. Při studiu radioprotektivní účinnosti aminothioly při gama ozáření střeva myši bylo prokázáno, že cysteamin a cystein mají menší radioprotektivní účinek než WR 2721 (72).

Cysteamin má radioprotektivní účinek při ozáření mozku myši za 15 min po aplikaci. Naproti tomu WR 2721 tento radioprotektivní účinek nemá, protože do mozku neproniká (73).

WR 2721 byl vyvinut jako radioprotektivní látka proti radiačnímu poškození (10). Bylo prokázáno, že chrání řadu normálních tkání, a to po defosforylaci na jeho aktivní metabolit WR-1065 [2-(3-aminopropylamino) ethanethiol].

WR 2721 je jednoduchý aminothioly, který je produktem vývojového programu, který začal v roce 1959 ve „Walter Reed Institute of Research“ armády USA. Výzkum byl zaměřen na syntézu a testování látek určených k protekci pracujících v riziku ozáření ionizujícím zářením. V rámci tohoto programu bylo syntetizováno a testováno více než 4000 látek

(80). Tato látka byla vytvořena po studiích, které prokázaly, že síru obsahující aminokyselina cystein aplikovaná před celotělovým ozářením je schopná chránit buňky kostní dřeně.

WR 2721 je inaktivní látka, která musí být defosforylována alkalickou fosfatázou na aktivní látku WR 1065. Tato látka je dále metabolizována na symetrické disulfidy (WR 33278) nebo smíšené disulfidy. Radioprotektivní účinek WR 2721 byl pozorován jen v situacích, kdy byl v organismu při expozici ionizujícímu záření. WR 2721 splňuje mnoho kritérií ideální radioprotektivní látky.

Cytoprotektivní účinek WR 2721 je dán především intracelulární koncentrací aktivního metabolitu WR 1065. WR 2721 sám prakticky nevstupuje do buněk, především díky terminální části své molekuly, která je tvořena kyselou fosfotiolovou skupinou. Při enzymatické aktivaci dochází pomocí alkalické fosfatázy k defosforylaci v oblasti terminální skupiny, čímž vzniká „aktivní“ defosforylovaný thiol WR 1065, který pomocí facilitované difuze snadno proniká do buněk, kde působí radioprotektivně. Je to právě potřeba enzymatické aktivace a následné facilitované difuze, která odpovídá za specifitu cytoprotektivního účinku WR 2721. Alkalická fosfatáza je, jako membránově vázaný enzym, přítomna ve vysoké koncentraci ve zdravých tkáních, především v endotelu krevních kapilár. Rovněž pH zdravých buněk a tkání je z hlediska optimální aktivity alkalické fosfatázy příznivé. WR 2721 je metabolicky aktivován na WR 1065 a v této podobě proniká téměř výlučně do zdravých buněk a tkání.

WR 2721 má radioprotektivní a chemoprotektivní účinek u normálních tkání. Redukuje nefrotoxicitu, neurotoxicitu, hematotoxicitu (granulocytopenii, leukopenii a trombocytopenii) a ototoxicitu. Vedlejšími účinky jsou hypotenze, nauzea, zvracení a snížení koncentrace sérového kalcia (87).

Vlastní radioprotektivní účinek WR 1065 spočívá v tom, že je donátorem vodíkového iontu (H^+) z terminální sulfhydrylové skupiny, který inaktivuje volné radikály vznikající v buňce působením ionizujícího záření. WR 1065 prostřednictvím volné sulfhydrylové skupiny (SH) také působí v místech poškození DNA, kdy usnadňuje rychlou neenzymatickou reparaci poškození.

Mechanismy radioprotekce zahrnují:

- Zachycení volných radikálů vznikajících vlivem ionizujícího záření, které se podílejí na procesech buněčné smrti, mutagenese, transformace a karcinogeneze. Protože volné radikály vznikající při ozáření mají krátkou životnost, méně než 10^{-5} s, radioprotektivní efekt WR 1065 je průkazný jen v situaci, kdy tato látka je v buňkách přítomná v době ozáření.
- Dodání atomu vodíku zlepšuje přímou chemickou reparaci v místech poškození DNA.

- Indukce antioxidačních procesů vyvolává intracelulární hypoxii.

Je možno dosáhnout rozdílné radioprotekce normálních a nádorových tkání. Hydrofilie je významný faktor pro diferenciaci radioprotekce a může hrát významnou roli při navrhování nebo výběru nejlepších radioprotektivních látek (4).

Bylo prokázáno, že WR 2721 má vyšší radioprotektivní účinnost s $DRF=2$ při hodnocení přežití kmenových buněk krvetvorby in vitro. Naproti tomu menší radioprotektivní účinnost byla prokázána při hodnocení poškození DNA ionizujícím zářením pomocí „dávku redukujícího faktoru = DRF“ ($DRF=1,2$) při nízkých dávkách ozáření. Významná radioprotekce před poškozením DNA byla prokázána po dávkách ozáření mezi 10-30 Gy (63).

WR 2721 má schopnost selektivně chránit normální tkáň před radiačním poškozením bez toho, že by docházelo k významnější protekci nádorových tkání. Stále zvyšující se rozsah klinického využití WR 2721 svědčí o tom, že WR 2721 je bezpečný a praktický při využití u pacientů, kteří jsou léčeni frakcionovanou radioterapií (82).

Byl studován i vliv radioprotekce pomocí WR 2721 (0,6 mmol/kg i. m. před ozářením) na průběh a výsledek kombinovaného radiačního poškození a střelného poranění u prasat. Byla testována hypotéza, že střelné poranění v latentní fázi akutní nemoci z ozáření zvyšuje letální průběh poranění. Získané výsledky prokázaly, že radioprotekce pomocí WR 2721 zabrání letálnímu průběhu poranění a dále zlepšuje reepitelizaci rány a vaskularizaci granulační tkáně (5).

V poslední době byla předložena nová klasifikace radioprotektivních látek, které jsou děleny na tři skupiny:

1. radioprotektiva,
2. stimulatory radiorezistence,
3. prostředky protekce vnitřní kontaminace radioaktivními látkami.

V závislosti na orgánové (systémové) protekci jsou radioprotektivní látky děleny na myeloprotektivní, enteroprotektivní a cerebroprotektivní látky; stimulatory radiorezistence jsou děleny na látky, které jsou účinné po jednorázové nebo opakované aplikaci; prostředky prevence vnitřní kontaminace radioaktivními látkami jsou děleny na ty, které zabírají inkorporaci radiojodu do štítné žlázy, a látky, které zabírají resorpci radionuklidů z GIT (37).

Farmakodynamické vlastnosti

Protekce při radioterapii

Většina farmakodynamických studií s WR 2721 byla provedena po i. p. aplikaci myším nebo potka-

nům asi 30 min před ozáření. Obvykle byly použity dávky 200 až 400 mg/kg, ale většinou 400 mg/kg. Ozáření bylo provedeno gama a RTG zářením nebo neutrony, ojediněle i beta zářením. DRF byl obvykle použit k určení hodnoty ochrany.

Jako monoterapie

Hlavními metabolity WR 2721 jsou thiol WR 1065 a disulfid WR 33278. Oba tyto metabolity chrání před poškozením DNA vyvolaným gama zářením. Radioprotektivní účinek je vysvětlován strukturálními změnami navozenými navázáním těchto látek (71).

WR 2721 má radioprotektivní účinek u řady normálních tkání, pokud je aplikován zvířatům 15–45 min i. p. před ozářením. Byla zaznamenána protekce i při radiačním poškození krční míchy u potkanů, kterým byl WR 2721 aplikován do pravé laterální mozkové komory 45 min před ozářením. Snížení vzniku paralýzy bylo s DRF=1,3–1,6 (76). WR 2721 chrání při radioterapii s nízkým LPE, jako je gama záření ^{60}Co , ale i se středním a vysokým LPE, jako je emise neutronů u myši (2, 74). Významná protekce nebyla pozorována při ozáření ionizujícím zářením s velmi vysokým LPE (260 keV/ μm).

Ozáření psů dávkami většími než 7,5 Gy poškozuje jejich střevní sliznici a radioprotekce pomocí WR 2721 radiační poškození redukuje. WR 2721 byl aplikován v dávce 150 mg/kg i. v. 30 min před ozářením břicha dávkou 10 Gy gama záření. Přežití pokusných zvířat do 7. dne bylo významně vyšší u skupiny chráněné WR 2721 (91 % oproti 33 %). Čtvrtý den po ozáření integrita sliznice a střevní absorpce byly významně lepší po aplikaci WR 2721. Radioprotekce pomocí WR 2721 tak zvýšila přežití pokusných zvířat redukcí poškození ilea a zlepšením střevní absorpce (28).

WR 2721 aplikovaný před ozářením vede k redukcí RTG zářením vyvolaného zvýšení frekvence vzniku mikrojader u erytropoetických buněk. Genotoxický a radioprotektivní účinek WR 2721 je závislý na aplikované dávce a délce intervalu mezi aplikací WR 2721 a ozářením (45).

Taktéž bylo prokázáno, že při aplikaci WR 2721 před ozářením myši dávkou 4 Gy gama záření došlo k redukcí počtu vzniklých mikrojader buněk kostní dřeně (32).

DRF je různý pro různé tkáně a je patrná tendence jeho snižování při nízkých dávkách ozáření a frakcionovaném ozáření (3, 30, 48, 85), i když rozdíly jsou závislé na typu tkáně, jak bylo zaznamenáno v jedné studii (68). Zvýšení dávky RTG ozáření vede k významnému snížení ochrany vazy, kůže nebo ústní mukózy, méně se snižuje protekce střeva, plic a kostní dřeně. Tento trend nebyl pozorován u příušní žlázy, a naopak se protekce zvyšovala se zvyšující se dávkou u ledvin, močového měchýře a vlasových folikulů.

Protekce WR 2721 při různých dávkových režimech byla proti radiačnímu poškození plic (84) nebo

kůže (29) stejná, ať bylo ozáření jednorázové, nebo frakcionované.

Byl sledován radioprotektivní efekt WR 2721 na myši plic po ozáření 1 dávkou, 4 nebo 7 stejnými frakcemi RTG záření. Byla prokázána protekce jak pro pneumonitidu za 7 měsíců, tak pro fibrózu za 12 měsíců při dávce 300 mg/kg i. p. Radioprotekce byla stejná pro pneumonitidu a fibrózu a nebyla menší po dávkách 4 Gy na frakci. Tyto výsledky svědčí o tom, že radioprotekce myších plic pomocí WR 2721 není menší při mnoha frakcích ozáření, pokud dávka záření není větší než 4 Gy. Dále bylo prokázáno, že reparace plic myši, kterým byl aplikován WR 2721 a ozáření, byla stejná jako u myši, které byly jen ozářeny. To svědčí o skutečnosti, že WR 2721 nemění reparační kapacitu této tkáně. DRF má rozpětí od nízkých hodnot 1,3 pro plic a ledviny až po vysoké hodnoty 2,7 pro kostní dřeň (83).

Dále byla testována reakce myších plic na jednorázové a frakcionované (10 frakcí) ozáření. U myši dýchajících vzduch nebo 10% kyslík byl prokázán radioprotektivní efekt dávky 300 mg/kg WR 2721. Nízký DRF=1,2–1,4 byl zjištěn u jednorázového ozáření při dýchání vzduchu nebo 10% kyslíku a také pro 10 frakcí při dýchání vzduchu. Radioprotekce byla prokázána při ozáření 10 frakcemi u myši dýchajících sníženou koncentrací kyslíku (DRF=1,5 až 1,7) (58).

WR 2721 měl protektivní účinek, když byl aplikován lokálně do duodena u psů (25), kolon potkanů, izolovaného tenkého střeva potkanů, ale i do oka u králíků (79). Lokální aplikace WR 1065 chránila myši před alopecií, ale s. c. aplikace WR 2721 byla mnohem účinnější (19). Naproti tomu lokální aplikace WR 2721 (inhalace aerosolu WR 2721) do plic 3–4 min před ozářením nechránila před vznikem pneumonitidy u myši (41).

Optimální doba aplikace WR 2721 byla sledována u myši. Ačkoli významná protekce byla zaznamenána po i. p. nebo i. v. aplikaci 5 min před ozářením (DRF=1,3) a protektivní účinek byl pozorován v intervalech až do 90 min po aplikaci WR 2721, protekce je maximální při aplikaci WR 2721 30–60 min před ozářením (DRF=1,7–2,2) (85). V jiné studii byla pozorována malá diference při aplikaci WR 2721 15 a 60 min před ozářením. Při vysokých dávkách ozáření je větší protekce, když se interval mezi aplikací WR 2721 a ozářením zvětšuje - protekce byla maximální při intervalu 60 min (78).

WR 2721 aplikovaný 30 min před ozářením měl protektivní účinek na buňky krypt kolon myši (DRF=1,4–1,6). Stejná úroveň protekce byla zaznamenána (DRF=1,6), když byla 2 h před ozářením aplikována cisplatina. DRF byl snížen na 1,3, když cisplatina byla aplikována 2 h po ozáření (30).

Radioprotekce myši kůže pomocí WR 2721 byla studována při použití jednorázového ozáření nebo 2 a 5 frakcí. Významná protekce byla pozorována

při použití dávek 200-500 mg/kg u zvířat dýchajících vzduch nebo kyslík. Hodnota radioprotekce se zvyšovala se zvyšující se dávkou a byla významně vyšší při dýchání vzduchu než kyslíku, zvláště při nízkých dávkách WR 2721 (78).

Byla provedena studie vychytávání citrátu Ga-67 slinnými žlázami u 105 pacientů s karcinomem hlavy a krku (81). Citrát Ga-67 má tendenci se akumulovat v ozářených slinných žlázách, což pak dává informaci o radiačním poškození této tkáně. Protekce pomocí WR 2721, obvykle v dávce 100 mg, 30 min před ozářením vedla ke zvýšení počtu žláz bez zachytu Ga-67 (44 %), přičemž bez WR 2721 to bylo jen 13 %.

V další studii byla testována možnost, zda WR 2721 může chránit střevní sliznici při topické aplikaci. Tenké střevo potkanů bylo eventrováno z břišní dutiny a naplněno WR 2721, Tris pufrem (pH 9) nebo jejich kombinací a střevní klička pak byla ozářena dávkou 1100 cGy. Kritériem protektivní účinnosti byl počet přežívajících buněk střevních krypt a výška sliznice 5. den po ozáření. Samotný pufr s pH 9 má malou protektivní účinnost a přežívá jen 16 % počtu buněk krypt. WR 2721 zvyšuje přežití buněk krypt na 54 % při neutrálním pH a na 83 % při pH 9. Získané výsledky svědčí o tom, že WR 2721 aplikovaný topicky působí významnou radioprotekci sliznice tenkého střeva. Protekce je největší, je-li WR 2721 v alkalickém médiu (11).

WR 2721, WR 3689, WR 151327 a WR 1065 byly aplikovány myším i. p. 30 min před ozářením dávkou 15 Gy. Počet buněk střevních krypt byl zvýšen u všech myší chráněných aminosolioly. Počty germinálních buněk testes myší chráněných aminosolioly před ozářením byly sníženy nebo se neměnily. Takže radioprotekce pomocí aminosolioly vede k limitované ochraně buněk střevních krypt, ale nechrání germinální buňky testes (77).

Byl studován i radioprotektivní účinek síru obsahujících látek MEA (cysteamin HCl), AET (2-aminoethyl-isothiuronium Br.HBr) a WR 2721 pomocí mikrojádřového testu erytropoetického systému. Myším byly radioprotektivní látky aplikovány v dávce 200 mg/kg 15 min před ozáření dávkou 6 Gy RTG záření. Získané výsledky svědčí o tom, že tento test je vhodný pro hodnocení radioprotektivního účinku (27).

Při použití testu vzniku mikrojader u myší ozářených dávkou 5 Gy RTG záření bylo prokázáno, že WR 2721 aplikovaný v dávce 200 mg/kg 15 nebo 30 min před ozářením má větší radioprotektivní účinnost než AET aplikovaný ve stejné dávce. WR 2721 aplikovaný v dávce 200 nebo 400 mg/kg myším i. p. ozářeným dávkou 6 Gy 15 nebo 30 min před RTG ozářením snižuje počet mikrojader erytropoetického systému (46).

Radioprotektivní účinek thiolů je limitován jejich toxicitou. Ukazuje se, že je možno získat radioprotektivní látky s nízkou toxicitou. Jednou takovou

látkou je alfa-methyl-homocystein thio-lakton, který má radioprotektivní účinnost vyšší než cystein nebo cysteamin, ale nižší než WR 1065. Tyto výsledky svědčí o tom, že je možno snížit toxicitu vývojem látek s obdobnou strukturou (35).

In vitro bylo sledováno klonogenní přežití buněk a obsah látky v buňkách V79-171 inkubovaných s WR 1065. Ozáření dávkami vyššími než 150 Gy nevyvolává ani významné změny celkové hodnoty látky, ani poměru thiol/disulfid v buňkách nebo v kultivačním médiu. Ozáření buněk dávkou 8 Gy nemění vstup WR 1065 do ozářených buněk, ale zvyšuje cytotoxicitu látky v buňce. Nebyla však prokázána kvalitativní diference radioprotektivní účinnosti WR 1065 u buněk, které byly předtím ozářeny dávkou 8 Gy, nebo u neozařených buněk. Při ozáření buněk dávkami od 2 do 40 Gy byla stanovena tzv. limitující hodnota pro přežívající frakci buněk V79-171, která nemůže být zvýšena zvýšením intracelulárního obsahu WR 1065. Tato limitovaná radioprotekce byla prokázána i pro jiné typy buněk (6).

Aminosolioly jsou schopny vyvolávat apoptózu, pokud jsou přítomny v kultivačním prostředí po delší dobu (1 nebo 20 h). Jím vyvolaná apoptóza je proces nezávislý na p53. Vystavení buněk vlivu WR 1065 (4 mM po dobu 15 min) nebo cysteinu (10 mM po dobu 60 min) před ozářením a během ozáření chrání buňky před vznikem dvojího zlomu DNA a apoptózy (88).

Glutathion snižuje vznik dvojího zlomu DNA po ozáření vodního roztoku DNA telecího thymu (1).

WR 2721 v kombinaci s jinými látkami a radioprotektivní účinek jiných látek

Protektivní účinek WR 2721 v kombinaci s řadou jiných radioprotektivních látek, imunomodulátorů nebo radiosenzibilizátorů byl sledován u ozářených myší. V takových kombinacích působí různé protektivní mechanismy a mohou redukovat výskyt negativních účinků spojených s WR 2721, přičemž se udrží různá protekce proti radiačnímu poškození.

Jedna i. p. aplikace WR 77913 [S-3(amino-2-hydroxypropyl) phosphorothioat] 15 min před ozářením oddálí vznik nebo zamezí vzniku katarakty (8).

Bylo prokázáno, že vitamín C v dávce 100 mg/kg a beta-karoten v dávce 50 mg/kg nemají radioprotektivní účinek u buněk myší kostní dřeně (52).

Derivát cysteaminu - kyselina guanidinoethane-sulfanyltiosulfurová má radioprotektivní účinek po dobu 2 hodin po i. p. a p. o. aplikaci (21).

Aditivní účinek ve srovnání s monoprotekcí byl získán, když WR 2721 byl před ozářením kombinován s 16,16- dimethyl dinoprostonem nebo 2-mercaptodimethyl diprostonem (27), misoprostolem (26), aspartátem zinku (66, 86). Synergický účinek byl prokázán při aplikaci kombinace WR 2721 (200 mg/kg) a 5-hydroxytryptaminu (8 mg/kg) a DRF=2,7 (43). Úprava krvetvorby byla také zlep-

šena injekcí imunomodulátoru glukanu (60) nebo denní aplikací rekombinantního G-CSF (42, 61) po ozáření, před kterým byl WR 2721 aplikován v infuzi. Poslední kombinace by mohla mít velký význam v klinice u pacientů s karcinomem.

WR 2721 aplikovaný myším v dávce 200 mg/kg 30 min před gama ozářením a G-CSF 125 µg/kg/den s. c. aplikovaný od 1. do 16. dne po ozáření při hodnocení LD_{50/30} dosahuje DRF=1,64. Při aplikaci samotného WR 2721 byl DRF=1,44 a samotného G-CSF DRF=1,06. Studie prokázala, že léčebná aplikace G-CSF zrychluje obnovu krvetvorby z kmenových a progenitorových buněk chráněných WR 2721 (59).

U myši ozářených gama zářením dávkou 17 Gy byla kombinovaná radioprotekce optimální, když WR 2721 byl v dávce 200 mg/kg aplikován i. p. 30 min před ozářením a Broncho-Vaxom v dávce 25 mg/kg i. p. 24 hodin před ozářením nebo 4-8 hodin po ozáření (15).

V pokusech na myších, králících a opicích byla prokázána léčebná účinnost aplikace leukinterferonu aplikovaného za 4 hodiny nebo 10 dní po ozáření. Při letálním ozáření myši se významně zvýšilo přežívání pokusných zvířat. Terapie vedla ke snížení závažnosti pancytopenie a trombocytopenie, což svědčí o tom, že došlo ke stimulaci krvetvorby poškozené zářením (31).

Přírodní radioprotektivní látky jsou perspektivní při nízkých dávkách ozáření, protože ovlivňují regulační systémy ozářeného organismu, mobilizují zpětnou vazbu endogenní radiorezistenci a zvyšují intenzitu celkové nespecifické odolnosti organismu. Jsou to přírodní málo toxické nebo netoxické látky, které mohou být požitý s potravou (36).

Kombinovaná aplikace extraktu z *Ocimum sanctum* (10/mg i. p. po 5 následujících dnů) a jednorázová aplikace WR 2721 i. p. v dávkách 100-400 mg/kg myším před ozářením dávkou 4,5 Gy vedla k dosažení DRF=6,68, což je dvojnásobné zvýšení ve srovnání s aplikací samotného WR 2721 v dávce 400 mg/kg. Radioprotektivní účinek byl hodnocen pomocí počtu chromozomálních aberací buněk kostní dřeně (18).

Cytokiny, hormonům podobné proteiny, které jsou produkovány stimulovanými buňkami a tkáněmi, mají radioprotektivní účinek při ozáření vedoucím k projevům dřeňového syndromu akutní nemoci z ozáření. Radioprotektivní účinek byl prokázán po aplikaci IL-1, TNF, IL-12 a SCF 18-24 h před ozářením. Naproti tomu TGF-beta zvyšuje letalitu myši. Radioprotektivní účinky cytokinů mohou být založeny na vyvolání buněčného cyklu u primitivních progenitorových buněk (IL-1, SCF), zabránění vzniku apoptózy (SCF) a indukci proteinů a enzymů (IL-1, TNF), které redukuje oxidativní poškození (57).

Některé cytokiny, včetně TNF-alfa, chrání u myši krvetvorný systém, když jsou aplikovány před ozá-

řením nebo bezprostředně po ozáření. V pokusech byl sledován protektivní účinek TNF-alfa in vitro na lidské kmenové buňky CD34+. Tyto buňky byly vystaveny krátkodobé expozici TNF-alfa bezprostředně po ozáření dávkami 0,454-9 Gy. Došlo k významnému zvýšení přežití kmenových a progenitorových buněk, které bylo významnější u nižších dávek ozáření (33).

TEMPOL (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-*n*-oxyl) aplikovaný do přední oční komory 15 min před ozářením 2krát 11 Gy RTG záření s intervalem 48 h významně snižoval závažnost a stupeň vzniklé katarakty. Přibližně o 70 % byl snížen počet zlomů DNA po jednorázovém ozáření dávkou 11 Gy. Pravděpodobným mechanismem radioprotektivního účinku je vychytání záření vzniklých peroxidů s následným zabráněním vzniku hydroxylových radikálů a poškození DNA (70).

Cimetidin je schopen redukovat klastogenní účinek malých dávek gama a neutronového záření - u myši ozářených dávkami 1,5; 2,25; 3,375 a 5,06 cGy rychlých neutronů, kterým byl 2 hodiny před ozářením aplikován cimetidin v dávce 15 mg/kg i. p. Projevem radioprotektivního účinku bylo 1,5 až 2násobné snížení počtu mikrojader. I když mechanismus radioprotektivního účinku není dosud přesně znám, pravděpodobně jde o zachycení volných radikálů zesíleným glutathionovým systémem (53).

Po aplikaci Zinc-desferrioxaminu (Zn-DFO) byla popsána ochrana slinných žláz před radiačním poškozením. Potkanům byl Zn-DFO aplikován i. p. v dávce 20 mg/kg 90 min před ozářením hlavy a krku dávkou 15 Gy RTG záření. Funkčním vyšetřením slinných žláz za dva měsíce po ozáření bylo prokázáno, že Zn-DFO snižuje rozsah radiačního poškození gl. parotis, ale nechrání gl. submandibularis (56).

Po i. v. nebo topické (intraluminální) aplikaci tirilazad mesylátu byl sledován jeho radioprotektivní účinek při ozáření tenkého střeva myši. Tirilazad byl aplikován před ozářením kličky tenkého střeva dávkou 11 Gy RTG záření. Získané výsledky ukázaly, že tirilazad nemá systémový radioprotektivní účinek, ale naopak má významný protektivní účinek na sliznici při topické aplikaci do lumen tenkého střeva a nedochází ke vzniku radiační enteritidy (16).

Účinky thiolů na přežití po léčbě

Přežití laboratorních zvířat se po ozáření zvyšuje, pokud byl WR 2721 kombinován s:

- 16,16-dimethyl dinoprostonem (62),
- misoprostolem (26),
- lyofilizovanou frakcí nebo extraktem z 8 druhů bakterií z horní části GIT (DRF=1,92, 1,17 a 2,07 pro WR 2721, extrakt a kombinaci),
- 2-mercaptopropionylglycinem (66),
- aspartátem zinku (17),
- rG-CSF (DRF=1,44, 1,06 a 1,64 pro WR 2721,

- rG-CSF a kombinaci),
 - glukonem nebo glukonem a selénem (60). Když byl selén přidán k WR 2721 a glukonu, pak se přežití ve srovnání se samotnými látkami nezvyšovalo.

Carboxymethylglukan je rozpustný derivát beta-1,3-glukanu, který zlepšuje úpravu krvetvorby u subletálně gama zářením ozářených myší a zvyšuje přežití letálně ozářených pokusných zvířat při aplikaci 24 hodin před ozáření. Aplikace carboxymethylglukanu po záření má příznivý vliv na přežití v případě, že je použit v kombinaci s aplikací cystaminu před ozáření (65).

Ozáření významně zkracuje dobu života léčebných zvířat (22, 64). U myší aplikace WR 2721 15 nebo 30 min před ozáření vede ke snížení rychlosti hynutí ve srovnání se samotným ozáření (77, 22). Největší ochrana byla pozorována během prvních 800 dní po léčbě a DRF (na základě LD_{50/30} nebo LD_{100/30}) byl 1,21 až 1,26 (65). Ochrana normálních tkání WR 2721 před ozáření také zvýšila přežití pokusných zvířat.

WR 77913 v dávce 815 mg/kg 30 min před ozáření hlavy králíka dávkou 15 Gy vede k významnému prodloužení intervalu mezi ozáření a vznikem katarakty. Dávky WR 77913 menší než 350 mg/kg, které jsou netoxické, působí neúplnou protekci, i když vývoj katarakty je významně prodloužen. U nižších dávek ozáření (12,5 a 10 Gy) se radioprotekce projevila méně významně (40).

Byl studován radioprotektivní účinek siru obsahujících látek MEA (cysteamin HCl), AET (2-aminoethylisothiuronium Br.HBr) a WR 2721 pomocí testu vzniku mikrojadér v erythropoetickém systému. Myšim byly radioprotektivní látky aplikovány v dávce 200 mg/kg 15 min před ozáření dávkou 6 Gy RTG záření. Získané výsledky svědčí o tom, že tento test je vhodný pro hodnocení radioprotektivního účinku (25).

Účinky na karcinogenezi, spontánní metastázy a mutogenezi jsou WR 2721, WR 1065 a disulfid WR 33278 účinnou protekcí před vznikem zářením vyvolané mutogeneze (39).

WR 2721 a jeho aktivní volný thiol WR 1065 redukuje mutace vznikající vlivem ionizujícího záření. Na nedělicích se lidských buňkách GO T-lymfocytech byl studován radioprotektivní účinek WR 2721 a WR 1065. Bylo prokázáno, že cytotoxicita gama záření byla redukována jen v případech, kdy v buňkách byl WR 1065 (8). Na stejném modelu bylo prokázáno, že WR 1065 redukuje mutace vzniklé po ozáření, a to i v případě, že byl v buňkách až po ozáření (7).

Vysoké hodnoty aminothioliu WR 1065 chrání buňky před ionizujícím zářením, přičemž mnohem menší hodnoty této látky nebo jejího disulfidu WR 33278 mají antimutagenní účinek. WR 1065 není dobrý substrát pro polyaminové transportní me-

chanismy, a tak vstupuje do buněk především nezpřetržovanou pasivní difuzí (50).

WR 2721 aplikovaný i. p. 30 min před ozáření snižuje následný vznik zářením vyvolaných nádorů u myší léčených pro primární fibrosarkom končetiny s DRF=1,75 (29). Stejná aplikace WR 2721 také chrání před smrtí myší ozářené na nádory a snižuje počet a velikost preneoplastických změn, které vznikají u ozářených potkanů (23).

U myší kombinovaná protekce suboptimálními dávkami WR 2721 a aspartátu zinku aplikovaných 10 a 30 min před ozáření významně redukuje zářením vyvolanou karcinogenezi ve srovnání s aplikací samotných látek (incidence lymfoidního nádoru byla 9,1 %, 62,5 %, 50 % a 90 % pro kombinovanou léčbu, WR 2721, aspartát zinku a bez léčby) (17).

I. p. aplikace WR 2721 30 min před ozáření nebo aplikací cyclofosfamidů významně redukovala záření nebo cytotoxickou látkou vyvolanou zvýšenou tvorbu plicních metastáz u myší; DRF=2,5 a 1,8 (49).

In vitro výsledky ukázaly, že WR-1065 redukoval incidenci zářením vyvolaných mutací buněk křečka. WR 2721 také redukoval frekvenci mutací buněk od ozářených myší (24, 34). WR 2721 chránil myší buňky kostní dřeně před mutagenním účinkem jednorázových dávek gama záření. Změny v intervalu mezi aplikací WR 2721 a začátkem ozařování mají malý účinek na protekci buněk.

CHO AA8 buňky byly vystaveny in vitro vlivu 30 nM selenitanu sodného a 4 mM WR 1065 před ozáření dávkou 8 Gy a byla zjištěna protekce před vznikem radiačních mutací. Naproti tomu nebyl prokázán radioprotektivní účinek samotného selenitanu sodného nebo jeho kombinace s WR 1065. Tyto výsledky svědčí o tom, že protektivní účinek obou látek má rozdílný mechanismus a stimulace glutation peroxidázy selénem je pravděpodobný mechanismus antimutagenního účinku selénu (12).

Hypokalcemické účinky

WR 2721 u lidí vyvolává hypokalcémii. Střední hodnoty celkového kalcia byly významně sníženy o 18 % po každé z 18 i. v. aplikací WR 2721 v dávkách 430-910 mg/m² před protinádorovou léčbou u 16 pacientů s metastázami nebo rekurentními nádory (20). Ultrafiltrabilní a ionizovaný kalcium byly redukovány proporcionálně. Hodnoty Ca dosáhly nejnižší hodnoty během 2-4 hodin, zůstaly sníženy 24 hodin po infuzi WR 2721 a vracely se na normu během týdne. Navzdory významné hypokalcémii byly hodnoty sérového imunoreaktivního parathyreoideálního hormonu (PTH) a magnézia významně redukovány na 66 a 23 %. Urinární exkrece cAMP, který reguluje uvolňování zásobního PTH, odrážela snížení sérové hodnoty PTH (52% redukce) a urinární exkrece Ca byla významně zvýšena (o 170 %).

Mechanismus protektivních účinků studovaný in vitro

Ionizující záření usmrcuje buňky chemickou změnou DNA vyvolanou jednak ionizací DNA, jednak produkcí vysoce reaktivních difuzibilních volných radikálů (zahrnujících hydroxylové radikály) generované ionizací jiných buněčných součástí. Endogenní thioly a jejich ionty reagují s oběma volnými radikály a zářením vyvolanými DNA radikály a mohou zvýšit přežití buněk, když k interakci dojde dříve, než dojde k poškození DNA a jeho fixaci (55). Thioly také chrání buňky kompeticí s kyslíkem, když tak brání interakcím kyslíku s DNA radikály, které mohou vytvářet potenciálně poškozující hydroperoxydy, což vede k fixaci poškození a zvýšení rizika buněčné smrti. Naproti tomu přidání atomu kyslíku z thiolových skupin je jeden možný mechanismus chemické reparace.

WR 2721 patrně působí stejným mechanismem jako endogenní thioly. Takže radioprotektivní efekt je pravděpodobně částečně zprostředkovan cestou odstranění kyslíku a navození hypoxie (14), což je efekt vyvolaný oxidačními reakcemi thiolů (13). Inkubace buněk s WR 2721 nebo jeho aktivním metabolitem WR 1065 in vitro podporuje hypotézu, že WR 2721 v konečné fázi snižuje intracelulární koncentraci kyslíku (13, 67, 81). Změny v tkáňové konzumaci kyslíku a změna buněčného metabolismu kyslíku byly stanoveny na základě výsledků u 19 pacientů (20).

Protektivní účinek WR 2721 je částečně závislý na tenzi kyslíku a je maximální u částečně hypoxických buněk (9, 13, 78). Rozdíly v tenzi kyslíku různých orgánů a tělesných systémů mohou snad hrát roli v rozdílné radioprotekci vyvolané WR 2721.

WR 2721 také vede k na kyslíku nezávislé protekci, protože hypoxie per se nebrání protektivnímu účinku WR 2721. Tento na kyslíku nezávislý mechanismus zahrnuje vychytávání radikálů a/nebo reakce s dodáním kyslíku (13, 75), což bylo dříve pozorováno s WR 1065 in vitro. Tyto rozdíly jsou spíše vysvětlením pro selektivní protekci WR 2721 u zdravých tkání, protože aktivní metabolit WR 1065 je jedinou formou látky, která je absorbována buňkami. Defosforylační aktivita je také u zdravých tkání rozdílná. WR 2721 je defosforylován na WR 1065 při kyselém pH žaludku nebo AF (alkalická fosfatáza) v jiných orgánech.

Byl studován in vitro vliv WR 1065 na kultivované endoteliální buňky bovinní aorty po ozáření dávkou 5 Gy. Bylo prokázáno, že WR 1065 zabránil vzniku morfologických změn. Tento účinek je zprostředkovan jak expresí adhezních molekul, tak reorganizací cytoskeletu (51). Radiační poškození normálních tkání je částečně limitováno poškozením cévního endotelu. In vitro byl studován protektivní účinek WR 2721 na endoteliální buňky bovinní aorty. Buňky byly exponovány WR 1065 dvě hodiny před ozářením. Získané výsledky svědčí o

tom, že WR 1065 umožňuje úpravu tkáně po ozáření vyvoláním replikace endoteliálních buněk, a to pravděpodobně mechanismem nezávislým na glutathionu (69).

WR 1065 in vitro u ovariálních buněk čínské křečka (CHO) vede k akumulaci buněk v G2 fázi buněčného cyklu, která je vyvolána inhibicí aktivity topoizomerázy II alfa (54).

K celkovým účinkům je nutno připomenout i to, že WR 2721 může redukovat poškození krevetvorby vyvoláním proliferace kmenových buněk krevetvorby. Patnáctiminutová inkubace s WR 2721 stimulovala růst některých primitivních progenitorových buněčných linií in vitro, růst se nezvýšil prodloužením inkubace s WR 2721 na 24 hodin (38).

Souhrn

WR 2721 byl původně vyvinut jako radioprotektivní látka pro vojenské použití v armádě USA. U lidí a zvířat chrání normální tkáně před radiačním poškozením. Protekce nádorů je obecně, ve srovnání s normálními tkáněmi, menší. WR 2721 snižuje poškození normálních tkání při radioterapii. Redukce radiačního poškození se manifestuje snížením výskytu a závažností infekčních komplikací a s neutropenií spojenou s horečkou a sepsí. Také počet dnů, kdy je nutná aplikace antibiotik, a délka hospitalizace se po aplikaci WR 2721 zkracují. Nepříznivé účinky spojené s aplikací WR 2721 jsou hypotenze, nauzea a zvracení, somnolence a kýchání.

U zvířecích modelů je WR 2721 selektivně defosforylován na WR 1065, který je absorbován buňkami normálních tkání. Aplikace WR 2721 chrání před časným i pozdním radiačním poškozením. Protekce normálních tkání byla největší, když byl WR 2721 aplikován 30 až 60 min před ozářením. Úroveň ochrany je různá u různých tkání a u mnoha tkání je snižena při nízkých dávkách ozáření nebo frakcionovaném ozáření. Po aplikaci WR 2721 dochází ke snížení mortality po celotělovém ozáření.

Ve srovnání s aplikací jen WR 2721 je radioprotekce zvýšena, když je WR 2721 aplikován s jinými látkami, včetně rekombinantního G-CSF. U pokusných zvířat WR 2721 také redukuje incidenci post-radiační karcinogeneze nebo mutagenese.

WR 2721 aplikovaný p. o. nemá radioprotektivní účinek. Po i. v. aplikaci jednorázově nebo v 15minutové infuzi je rychle (s poločasem asi 0,9 min) vychytáván z plazmy. WR 2721 se neváže na proteiny a u lidí i pokusných zvířat se rozděluje v různých tkáních heterogenně.

In vitro analýzy ukázaly, že WR 2721 je rychle metabolizován alkalickou fosfatázou na aktivní metabolit WR 1065 a neorganické fosfáty. Výsledkem metabolismu WR 2721 je skutečnost, že jen malá část (celkově asi 6 %) je vyloučena ledvinami jako nezměněná látka nebo její metabolity.

Literatura

- ADHIKARY, A. - JAIN, V.: Studies on the modulation of DNA damage. 1: A simple kinetic model for radioprotection of DNA in aqueous solution. *Indian. J. Biochem. Biophys.*, 1997, vol. 34, p. 409-418.
- AFZAL, SMJ. - AINSWORTH, EJ.: Radioprotection of mouse colony forming units-spleen against heavy-charged particle damage by WR 2721. *Radiat. Res.*, 1987, vol. 109, p. 118-126.
- BEGG, AC. - Terry, NHA.: Modification of stromal radio-sensitivity by misonidazole and WR 2721. *Br. J. Radiol.*, 1983, vol. 56, p. 565-570.
- BROWN, DQ., et al.: Differential radioprotection of normal tissues by hydrophilic chemical protectors. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1984, vol. 10, p. 1581-1584.
- CAKIČ, J., et al.: Utičaj gamažena na tok i ishod hirurškog lecenija udružene radijacione povrede u svinja. *Vojnosanit. Pregl.*, 1994, vol. 51, p. 179-191.
- CALABRO-JONES, PM., et al.: The limits to radioprotection of Chinese hamster V79 cells by WR-1065 under aerobic conditions. *Radiat. Res.*, 1998, vol. 149, p. 550-559.
- CLARK, LS., et al.: Hprt mutations in human T-lymphocytes reflect radioprotective effects of the aminothiol, WR-1065. *Carcinogenesis*, 1996, vol. 12, p. 2647-2653.
- CLARK, LS., et al.: The aminothiol WR-1065 protects T lymphocytes from ionising radiation-induced deletions of the HPRT genes. *Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev.*, 1997, vol. 6, p. 1033-1037.
- DÁM, AM., et al.: Radiation response of E.coli after combined treatment with misonidazole and WR 2721 at various oxygen concentrations. *Acta Oncol.*, 1990, vol. 29, p. 1055-1058.
- DAVIDSON, DE., et al.: Biological characteristics of some improved radioprotectors. In *Radiation Sensitizers*, 1980, p. 309-320.
- DELANEY, JP., et al.: Radioprotection of the rat small intestine with topical WR-2721. *Cancer*, 1994, vol. 40, p. 2379-2384.
- DIAMOND, AM., et al.: The inhibition of radiation-induced mutagenesis by the combined effects of selenium and the aminothiol WR-1065. *Mutat. Res.*, 1996, vol. 356, p. 147-154.
- DU RAND, RE. - OLIVE, PL.: Radiosensitisation and radio-protection by BSO and WR 2721: the role of oxygenation. *Br. J. Cancer*, 1989, vol. 60, p. 517-522.
- DURAND, RE., et al.: Radioprotection by WR 2721 *in vitro* at low oxygen tensions: implications for its mechanism of action. *Br. J. Cancer*, 1983, vol. 47, p. 387-392.
- FEDOROČKO, P., et al.: Radioprotective effects of WR-2721, Broncho-Vaxom and their combinations: survival, myelopoietic restoration and induction of colony-stimulating activity in mice. *Int. J. Immunopharmacol.*, 1994, vol. 16, p. 177-184.
- FELEMOVICIUS, I., et al.: Radioprotection of the rat intestinal mucosa by tirilazad. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1998, vol. 73, p. 219-223.
- FLOERSHEIM, GL., et al.: Radiation-induced lymphoid tumors and radiation lethality are inhibited by combined treatment with small doses of zinc aspartate and WR 2721. *Int. J. Cancer*, 1992, vol. 52, p. 604-608.
- GANASOUNDARI, A., et al.: Enhancement of bone marrow radioprotection and reduction of WR-2721 toxicity by Ocimum sanctum. *Mutat. Res.*, 1998, vol. 397, p. 303-312.
- GENG, L., et al.: Topical or systemic 16,16 dm prostaglandin E₂ or WR 2721 (WR 1065) protect mice from alopecia after fractionated irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1992, vol. 61, p. 533-537.
- GLOVER, D., et al.: Hypocalcemia and inhibition of parathyroid hormone secretion after administration of WR 2721 (a radioprotective and chemoprotective agent). *N. Eng. J. Med.*, 1983, vol. 309, p. 1137-1141.
- GRAČEV, SA., et al.: Opyt izyskanija novych radiozaščitnyh vščestv prolorigirovannovo dějstvija. *Radiats. Biol. Radioecol.*, 1996, vol. 36, p. 190-194.
- GRDINA, DJ., et al.: Protection against late effects of radiation by S-2- (3- aminopropyl) -ethylphosphorothioic acid. *Cancer Res.*, 1991, vol. 51, p. 4125-4130.
- GRDINA, DJ., et al.: Protective effects of S-2- (3-amino-propylamino) - ethylphosphorothioic acid against induction of altered hepatocyte foci in rats treated once with γ -radiation within one day after birth. *Cancer Res.*, 1985, vol. 45, p. 5379-5381.
- GRDINA, DJ., et al.: The radioprotective WR 2721 reduce neutron-induced mutations at the hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase locus in mouse splenocytes when administered prior to or following irradiation. *Carcinogenesis*, 1992, vol. 13, p. 811-814.
- HALBERG, FE., et al.: Intraoperative raditherapy with localized radioprotection: diminished duodenal toxicity with intraluminal WR 2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1991, vol. 21, p. 1241-1246.
- HANSON, WR., et al.: Radiation protection *in vivo* by prostaglandins and related compounds of the arachidonic acid cascade. *Pharmacol. Ther.*, 1988, vol. 39, p. 347-356.
- HANSON, WR., et al.: Radiation protection of murine intestine by WR 2721, 16,16-dimethyl prostaglandin E₂ and the combination of both agents. *Radiat. Res.*, 1987, vol. 111, p. 361-371.
- HERRERA, JL., et al.: Effect of radiation and radioprotection on small intestinal function in canine. *Dig. Dis. Sci.*, 1995, vol. 40, p. 211-218.
- HUNTER, NL., et al.: Modification of radiation-induced carcinogenesis in mice by misonidazole and WR 2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1992, vol. 22, p. 795-798.
- ITO, H., et al.: Protection by WR 2721 against radiation plus cis-diamminedichloroplatinum II caused injury colonic epithelium in mice. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1994, vol. 28, p. 899-903.
- IVANOV, AA., et al.: Protivolučevye terapevčičkije svojstva leikinferona. *Radiats. Biol. Radioecol.*, 1998, vol. 38, p. 62-70.
- JAGETIS, GC.: Influence of chlorpromazine, bleomycine and WR-2721 singly or in combination on the formation of radiation-induced micronuclei in mice bone marrow. *Strahlen-ther. Oncol.*, 1994, vol. 170, p. 648-653.
- KARKANITSA, LV., et al.: Abrogation of radiation injury to human hematopoietic stem cells with tumor necrosis factor- α . *Stem Cells*, 1997, pl 2, p. 95-102.
- KATAOKA, Y., et al.: Antimutagenic effects of radioprotector WR 2721 against fission spectrum neutrons and ⁶⁰Co γ -rays in mice. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1992, vol. 61, p. 387-392.
- KOCH, KE., et al.: Radiation protection by alpha-methyl-homocysteine thiolactone *in vitro*. *Life Sci.*, 1997, vol. 60, p. 341-350.
- KUDRIJAŠOV, JB.: Očimičeskoj zaščitě ot ionizirujuščej radiatsii nizkoj intensivnosti. *Radiats. Biol. Radioecol.*, 1997, vol. 17, p. 673-675.
- LEGEZA, VI. - VLADIMIROV, VG.: Novaja klasifikacija profilaktičeskich protivolučevych sredstv. *Radiats. Biol. Radioecol.*, 1998, vol. 38, p. 416-425.
- LIST, AF., et al.: Stimulation of hematopoiesis by amifostine in patients the myelodysplastic syndrome. *Blood*, 1997, vol. 90, p. 3364-3369.
- LIU, SC., et al.: Repression of c-myc gene expression by the thiol and disulphide forms of the cytoprotector amifostine. *Carcinogenesis*, 1997, vol. 18, p. 2457-2459.
- LIVESEY, JC., et al.: Inhibition of radiation cataractogenesis by WR-77913. *Radiat. Res.*, 1995, vol. 141, p. 99-104.
- LOCKHART, SP.: Inhaled thiol and phosphorothiol radioprotectors fail to protect the mouse lung. *Radiother. Oncol.*, 1990, vol. 19, p. 187-191.
- Mac WITTIE, TJ., et al.: Enhanced recovery from supra-lethal radiation exposure using combined modality WR 2721 plus recombinant human (rh) G-CSF (abstract) *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 1992, vol. 33, p. 505.
- MAISIN, JR., et al.: Reduction of short-term radiation lethality by biological response modifiers given alone or in association with other chemical protectors. *Radiat. Res.*, 1993, vol. 135, p. 332-337.

44. MAISIN, JR.: Bacq and Alexander award lecture - chemical radioprotection: past, present, and future prospects. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1998, vol. 73, p. 443-450.
45. MAZUR, L.: Frequency of micronuclei in mouse peripheral blood erythrocytes following WR-2721 application and x-irradiation. *Folia Biol. (Krakow)*, 1995, vol. 43, p. 111-114.
46. MAZUR, L.: Effects of sulphur-containing compounds and X-rays on the mouse erythropoietic system assayed by in vivo peripheral blood. *Strahlenther. Onkol.*, 1996, vol. 172, p. 25-29.
47. MAZUR, L.: The modulatory effect of aminothiols on the clastogenic activity of x-rays assayed by the vivo mouse micronucleus test. *Folia Biol. (Krakow)*, 1996, vol. 44, p. 55-59.
48. MEISTRICH, ML., et al.: Cytotoxic effects of WR 2721 on mouse testicular cells. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1984, vol. 10, p. 1551-1554.
49. MILAS, L., et al.: Protection by S-2-(3-aminopropylamino) - ethylphosphorothioic acid against radiation- and cyclophosphamide-induced attenuation in antitumor resistance. *Cancer Res.*, 1984, vol. 44, p. 2382-2386.
50. MITCHELL, JL., et al.: Involvement of the polyamine transport system in cellular uptake of the radioprotectants WR-1065 and WR-33278. *Carcinogenesis*, 1995, vol. 16, p. 3063-3068.
51. MOOTERI, SN., et al.: WR-1065 and radioprotection of vascular endothelial cells. II. Morphology. *Radiat. Res.*, 1996, vol. 145, p. 217-224.
52. MORALES, RP., et al.: Effect of vitamin C or beta-carotene on SCE induction by gamma rays in radiosensitized murine bone marrow cells in vivo. *Mutagenesis*, 1998, vol. 13, p. 139-144.
53. MOZDARANI, H. - KHOSHBIN KHOSHNAZAR, AR.: In vivo protection by cimetidine against fast neutron-induced micronuclei in mouse bone marrow cells. *Cancer Lett.*, 1998, vol. 124, p. 65-71.
54. MURLEY, JS., et al.: WR-1065, an active metabolite of the cytoprotector amifostine, affect phosphorylation of topoisomerase II alpha leading to changes in enzyme activity and cell cycle progression in CHO A48 cells. *Cell. Prolif.*, 1997, vol. 30, p. 283-294.
55. MURRAY, D., et al.: Radioprotective agents as modulators of cell and tissue radiosensitivity. *Cancer Bull.*, 1992, vol. 44, p. 137-144.
56. NAGLER, R., et al.: Novel protection strategy against x-ray-induced damage to salivary glands. *Radiat. Res.*, 1998, vol. 149, p. 271-271.
57. NETA, R.: Modulation with cytokines of radiation injury: suggested mechanisms of action. *Environ. Health Perspect.*, 1997, p. 1463-1465.
58. PARKINS, C., et al.: Lung Radioprotection by WR-2721 at low X-ray doses per fraction. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 1984, vol. 20, no. 11, p. 1445-1450.
59. PATCHEN, ML. - MacVITTIE, TJ.: Granulocyte colony-stimulating factor and amifostine (Ethyol) synergize to enhance hemopoietic reconstitution and increase survival in irradiated animals. *Semin. Oncol.*, 1994, vol. 21, p. 26-32.
60. PATCHEN, ML., et al.: Combined modality radioprotection: the use of glucan and selenium with WR 2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1990, vol. 18, p. 1069-1075.
61. PATCHEN, ML., et al.: Postirradiation treatment with granulocyte colony-stimulating factor and preirradiation WR 2721 administration synergize to enhance hemopoietic reconstitution and increase survival. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1992, vol. 22, p. 773-779.
62. PENHALIGON, M.: Radioprotection of mouse skin vasculature and the RIF-1 fibrosarcoma by WR 2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1984, vol. 10, p. 1541-1544.
63. PETROVECKI, M., et al.: Relationships between DNA damage and the survival of murine bone marrow cells irradiated in situ. *Radiat. Res.*, 1994, vol. 138, p. 443-450.
64. PETÝREK, P. - ŠPELDA, S.: Studium využití fluorochinolonů při prevenci a léčbě septických komplikací radiačního poškození. (Závěrečná zpráva vědeckého úkolu). Hradec Králové, VLA JEP, 1995. 123 s.
65. POSPIŠIL, M., et al.: Hemopoiesis stimulating and radioprotective effects of carboxymethylglucan. *Physiol. Res.*, 1991, vol. 40, p. 377-380.
66. PRASANNA, PGS. - UMA DEVI, P.: Modification of WR 2721 radiation protection from gastrointestinal injury and death in mice by 2-mercaptopyrionylglycine. *Radiat. Res.*, 1993, vol. 133, p. 111-115.
67. PURDIE, JW., et al.: Interaction of cultured mammalian cells with WR 2721 and its thiol, WR 1065: implications for mechanisms of radioprotection. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1983, vol. 43, p. 517-527.
68. ROJAS, A., et al.: The influence of X ray dose levels on normal tissue radioprotection by WR 2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1984, vol. 10, p. 2351-2356.
69. RUBIN, DB., et al.: WR-1065 and radioprotection of vascular endothelial cells. I. Cell proliferation, DNA synthesis and damage. *Radiat. Res.*, 1996, vol. 145, p. 210-216.
70. SASAKI, H., et al.: TEMPOL protects against lens DNA strand breaks and cataract in the x-rays rabbit. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1998, vol. 39, p. 544-552.
71. SAVOYE, C., et al.: Thiol WR-1065 and disulphide WR-33278, two metabolites of the drug Ethyol (WR-2721), protect DNA against fast neutron-induced strand breakage. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1997, vol. 71, s 193-202.
72. SCHUMACHER, C., et al.: Mice's brain radioprotection: comparative efficacy of a series of aminothiols and amino-thiol precursors. *Farmacol.*, 1997, vol. 52, p. 725-727.
73. SCHUMACHER, C., et al.: Mice's rectum radioprotection: comparative efficacy of a series of aminothiols and amino-thiol precursors. *Farmacol.*, 1997, vol. 52, p. 729-731.
74. SIGDESTAD, CCP., et al.: A comparison of radioprotection from three neutron sources and ⁶⁰Co by WR 2721 and WR 151327. *Radiat. Res.*, 1986, vol. 106, p. 224-233.
75. SMOLUK, GD., et al.: Radioprotection of cells in culture by WR 2721 and derivatives: form of the drug responsible for protection. *Cancer Res.*, 1988, vol. 48, p. 3641-3647.
76. SPENCE, AM., et al.: Radioprotection in rat spinal cord with WR 2721 following cerebral lateral intraventricular injection. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1986, vol. 12, p. 1479-1482.
77. STEEL, GL., et al.: Comparative intestinal and testes toxicity of four aminothiols in irradiated and nonirradiated mice. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 1993, vol. 23, p. 439-447.
78. STEWART, FA. - ROJAS, A.: Radioprotection of mouse skin by WR 2721 in single and fractionated treatments. *Br. J. Radiol.*, 1982, vol. 55, p. 42-47.
79. STONECIPHER, KG., et al.: The radioprotective effects of WR 2721 on radiation-induced goblet cell loss. *Cornea*, 1992, vol. 11, p. 41-43.
80. SWEENEY, TR.: A survey of compounds from the antiradiation drug development program of the U.S. Army medical research and development command. Walter Reed Army Institute of Research, Washington, D. C., 1979. 851 p.
81. TAKAHASHI, I., et al.: Clinical study of the radioprotective effects of amifostine (ZM-08310. WR 2721) on chronic radiation injury. *Int. J. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 12, 1986, p. 935-938.
82. TANNEHILL, SP. - MEHTA, MP.: Amifostine and radiation therapy: past, present, and future. *Semin. Oncol.*, 1996, vol. 23, no. 4, Suppl. 8, p. 69-77.
83. TRAVIS, EL. - DeLUCA, AM.: Protection of mouse lung by WR 2721 after fractionated doses of irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1985, vol. 11, p. 521-526.
84. TRAVIS, EL., et al.: Protection of mouse bone marrow by WR 2721 after fractionated irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1988, vol. 15, p. 377-382.
85. TRAVIS, EL., et al.: The time course of radioprotection by WR 2721 in mouse skin. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1982, vol. 8, p. 843-845.
86. UMA DEVI, P. - PRASANNA, PGS.: Radioprotective effect of combinations of WR 2721 and mercaptopyrionylglycine on mouse bone marrow chromosomes. *Radiat. Res.*, 1990, vol. 124, p. 165-170.
87. VIELE, CS. - HOLMES, BC.: Amifostine drug profile and nursing implications of the first pancytotectant. *Oncol. Nurs. Forum*, 1998, vol. 25, p. 515-523.

88. WARTERS, RL., et al.: Modulation of radiation-induced apoptosis by thiolamine. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1997, vol. 72, p. 439-448.
89. WEISSE, JF: Pharmacologic approaches to protection against radiation-induced lethality and other damage. *Environ. Health Perspect.*, 1997, pl 6, p.1473-1478.

Klíčová slova: Ionizující záření; Radiační poškození; Radioprotekce; WR 2721; WR 1065; Amifostine; Kombinace radioprotektivních látek; Člověk; Laboratorní zvířata; Normální tkáně; Nádory; Radioterapie; Farmakodynamika; Monoterapie; Cytokiny; Hypokalcémie; In vitro.

Do redakce došlo 1. 6. 1999