

2 SOUHRN

Bioindikátory zánětu, oxidačního a nitračního stresu u potkana kmene Wistar po celotělovém a lokálním ozáření plic

Úvod

Radiační pneumonitida a fibróza limitují intenzitu radioterapie, zvyšují morbiditu a zhoršují kvalitu života nemocných s nádory plic a prsu, či Hodgkinovou nemocí. Radiační pneumonitida je akutní zánětlivá reakce, která ustupuje spontánně nebo po léčbě kortikosteroidy. Při jejím vzniku se významně uplatňují volné radikály. V závislosti na dávce vyvolávají lipoperoxidaci, poškození DNA, aktivaci proapoptotických dějů a změny aktivity enzymů. Na zánětlivou reakci iniciované volnými radikály se podílejí především epiteliální buňky a buňky zánětu, které uvolňují řadu cytokinů (TNF- α , IL-1, IL-6, TGF- β , aj.). Radiační fibróza plic se rozvíjí jako pozdní následek radioterapie (> 3 měsíce). Může vyústit do chronické respirační insuficience a způsobit smrt. Makroskopickým nálezem je proliferace fibroblastů, ukládání kolagenu a destrukce plicního parenchymu.

Cíle práce a použité metody

Předložená práce se zaměřila na změny v metabolické dráze arginin-oxid dusnatý vyvolané v dýchacích cestách a v jiných částech organismu ionizujícím gama zářením a to v časně fázi (do 72 h) a ve fázi radiační pneumonitidy (7 týdnů) po celotělové expozici i lokálním ozařování hrudníku potkana Wistar. Byly zkoumány možnosti využití bioindikátorů oxidačního a nitračního stresu při biodozimetrii a predikci rozvoje radiační pneumonitidy. Koncentrace vydechaného oxidu dusnatého (eNO) byla vyšetřována neinvazivně chemiluminiscenční metodou. Arginin, dusitany a dusičnany (NOx) a malondialdehyd (MDA) byly stanoveny vysoce účinnou kapalinovou chromatografií ve vzorcích plazmy, tekutiny z bronchoalveolární laváže (BAL) a v homogenátu plicní tkáně. Ve vzorcích plicní tkáně byla hodnocena exprese indukovatelné formy syntázy oxidu dusnatého (iNOS) metodou Western blot a genová exprese iNOS, argináza a transportérů pro arginin (CAT) metodou RT-PCR. Radiační pneumonitida byla prokazována histochemicky (vzdušnost plic a počet neutrofilů v plicní tkáni). V další části práce byly hodnoceny radioprotektivní účinky vybraných látek s vlastnostmi antioxidantů a inhibitorů NOS [methylester nitro-L-argininu (L-NAME), aminoguanidin (AG), acetyl-L-karnitin (ALC)].

Výsledky

V intervalu 72 h po celotělovém ozáření (2-50 Gy) nedošlo v dýchacích cestách k významnější indukcii tvorby NO a projevům nitračního stresu. Expresi iNOS v plicích ozářených potkanů nebyla zachycena a v játrech se nelišila od neozářených kontrol. Koncentrace eNO ozářených a kontrolních potkanů byly srovnatelné jak v časně fázi po celotělové expozici tak ve fázi radiační pneumonitidy po ozáření hrudníku. V rozmezí 2-10 Gy bylo zaznamenáno dávkově závislé zvýšení NOx v plazmě na čtyřnásobek kontrolní hodnoty ($P < 0,001$). Jednorázová aplikace L-NAME a pětidenní podávání ALC před celotělovým ozářením (8 Gy) zlepšily přežívání potkanů v období 30 dnů po expozici z 35% na 75% ($P < 0,005$). Látka L-NAME potlačila nárůst NOx, zatímco látka ALC zabránila zvýšení MDA v plazmě ozářených potkanů. V 7. týdnu po lokálním ozáření hrudníku (20 Gy) byla v BAL potkanů s histologicky dokumentovanou radiační pneumonitidou vyšší koncentrace bílkoviny (5-krát, $P < 0,01$) a MDA (1,8-krát, $P < 0,05$). Dále došlo k nárůstu genové exprese arginázy I a transportérů CAT 1, 2 a 3 ($P < 0,05$). Všechny studované látky zvýšily vzdušnost plic a/nebo snížily zánětlivý infiltrát v plicní tkáni v 7. týdnu po ozařování hrudníku (15 Gy). Aplikace ALC navíc zlepšila přežívání potkanů z 30% na 80% ($P < 0,05$) a snížila expresi arginázy I a transportérů CAT1 a CAT3 v plicní tkáni ($P < 0,05$).

Závěry

Výsledky práce ukazují, že neinvazivní vyšetření eNO není možné použít jako biodozimetrický ukazatel ani jako prediktor rozvoje radiační pneumonitidy u potkana. Změny v metabolické dráze L-arginin-NO vyvolané ionizujícím zářením v dýchacích cestách potkana jsou mírné. Látky L-NAME a ALC mají radioprotektivní účinek vůči celotělovému ozáření dávkou 8 Gy. Při hodnocení v intervalu 7 týdnů po ozáření hrudníku dávkou 15 Gy má ze srovnávaných potenciálních radioprotektiv nejlepší ochranný účinek látka ALC. Snížení exprese arginázy I a transportérů CAT1 a CAT3 u ozářených potkanů chráněných ALC by mohlo být signálem, že látka snižuje zánětlivou odpověď vedoucí k poškození plicní tkáně a tím klesají nároky na dostupnost argininu a polyaminů potřebných k jejímu hojení.

Klíčová slova: ionizující záření, radiační pneumonitida, radioprotekce, vydechaný oxid dusnatý