

8/16

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

12

ROČNÍK 20 (XLVIII)
PRAHA
PROSINEC 1975
CENA 20 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), prof. MVDr. Kolo-
man Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr.
Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr.
Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc.
MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., MVDr. Jaromír Lát, CSc.,
MVDr. Andrej Mačička, CSc., doc. MVDr. Ladislav Polák,
CSc., MVDr. Jiří Srna, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Jovanka Václavičková

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1975

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje stu-
die, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech vý-
zkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědecko-
technických informací. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56
Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné
Kčs 120,—.

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзо-
ры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по науч-
ному исследованию в области ветеринарии. Издает Институт
научно-технической информации. Выход в свет ежемесячно.
Редакция 120 56 Прага 2, Слезска 7.

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes
studies, analyses and scientific treatises about the solved
research tasks in the line of the veterinary medicine. Pu-
blished by the Institute of Scientific and Technical Inform-
ation. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2,
Slezská 7.

Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Ab-
handlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem
Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von Institut
für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint mo-
natlich. Redaktion 120 56 Prag 2, Slezská 7.

La journal scientifique VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publie
les études, analyses et traités scientifiques concernant les
tâches de recherches résous dans le domaine de médecine
vétérinaire. Publie par l'Institut des Informations Scienti-
fiques et Techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction
120 56 Prague 2, Slezská 7.

VLIV RADIOMIMETIK NA SLOŽENÍ BÍLKOVIN KREVNÍHO SÉRA PSŮ

J. Hrušovský

Vojenský výzkumný veterinární ústav, Praha

HRUŠOVSKÝ J. *Vliv radiomimetik na složení bílkovin krevního séra psů.* Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 701-704, 1975.

V práci bylo sledováno bílkovinné sérum psa po aplikaci radiomimetik β , β' -dichlórdietylsulfidem pomocí imunoelektroforézy. Použitá dávka β , β' -dichlórdietylsulfidu je 35 mg na kg živé hmotnosti psa s. c. Bylo zjištěno, že s přibýváním doby po aplikaci se množí precipitační linie v oblasti β_1 a α_2 -globulinů. Jejich dezintegraci β , β' -dichlórdietylsulfidem se mění do jisté míry síla, tvar a vzdálenost precipitačních linií ve směru elektroforetické migrace i imunodifúze. SE a IE v agaru v našem případě dávají jen hrubě semikvantitativní obraz o jednotlivých bílkovinných frakcích psího séra a jejich změnách po použitém radiomimetiku.

radiomimetika; imunoelektroforéza; proteiny; pes

Imunoelektroforéza je v současné době jednou z nejcitlivějších metod pro studium celé řady proteinů a imunoelektroforeogramy se stávají nepostradatelnou součástí dokumentace experimentálních prací v této oblasti biochemie.

Největší zájem je soustředěn na plazmatické proteiny člověka, jejichž izolace, purifikace, koncentrace a komplexní charakterizace přinesly již řadu cenných poznatků biochemických a imunologických.

V poslední době se věnuje značná pozornost složení plazmatických proteinů některých běžných druhů laboratorních zvířat. U nejběžnějších laboratorních zvířat (myš krysa) je celkem dobře známé spektrum myšího séra, zvláště jeho imunoglobulinové části (Fahey aj., 1964), a spektrum krysího séra (Doležalová, 1967).

Z větších laboratorních zvířat má celkem dobře známé složení plazmatických bílkovin pes. Vaerman a Heremans (1968) použili monospecifických antihumánních antisér IgA a IgM k identifikaci psích imunoglobulinů.

V této práci jsme použili imunoelektroforézy pro bližší kvalitativní posouzení bílkovinných frakcí krevního séra psů po aplikaci radiomimetika β , β' -dichlórdietylsulfidu.

MATERIAL A METODY

K pokusu bylo použito zdravých psů – kříženců, o hmotnosti 7 až 10 kg, ve věku 3 až 5 let. Zvířata před pokusem prošla třítýdenní karanténou, během které byla klinicky vyšetřena. Zvířata byla rozdělena do dvou skupin po šesti zvířatech. Jedna skupina zvířat byla kontrolní, druhá pokusná.

β , β' -dichlórdietylsulfid byl aplikován v dávce 35 mg kg^{-1} živé hmotnosti s. c. Krev byla odebírána před aplikací, dále 0, 6, 12, 14, 48 hodin, 3. a 4. den po aplikaci.

Pro sledování změn sérových bílkovin jsme použili mikromodifikaci IE, kterou u nás poprvé vypracoval, popsal a použil Š k v a ř i l (1961).

Její nesmírná výhoda proti předcházejícím uspořádáním je v tom, že je rychlá a že kromě jiných náležitostí spotřebuje malé množství agaru, analyzovaných vzorků a antisér. Je možné analyzovat na diapositivních sklech řadu vzorků. V našem případě jsme použili diaskla o rozměrech 8,5 × 8,5 cm.

V práci bylo použito precepitační králičí antipsí antisérum číslo 4-0763, výrobce USOL Praha.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Prostou elektroforézou v agaru (SE = simple electroforesis) se krevní sérum psů rozdělilo na tyto elektroforetické frakce: albumín, α_1 -globulin, α_2 -globulin, β_1 -globulin, β_2 -globulin, γ_1 -globulin a γ_2 -globulin. Frakce je dobře vidět na obrázcích 1 až 6. V intervalech 12 až 48 hodin po aplikaci β , β' = dichlórdietylsulfidu dochází k zmnožování α_1 -, α_2 - a β_1 -globulinů; třetí a čtvrtý den po aplikaci dochází však k výraznému úbytku α_1 -globulinů a dezintegraci β_2 - a γ_2 -globulinů. Tyto změny nacházíme u všech pokusných psů.

Za použití precipitačního králičího antipsího antiséra č. 4-0763, vytvářejícího 14 precipitačních linií, byly v krevním séru pokusných psů pozorovány některé změny.

Imunoelektroforéza nám ukazuje markantnější rozdíly jednotlivých bílkovinných subfrakcí co do jejich kvalitativního zastoupení.

Podobně jako u SE nemění se albumín a γ_2 -globulin (= IgO). Nemění se ani α_1 -antitrypsin, IgA a IgM.

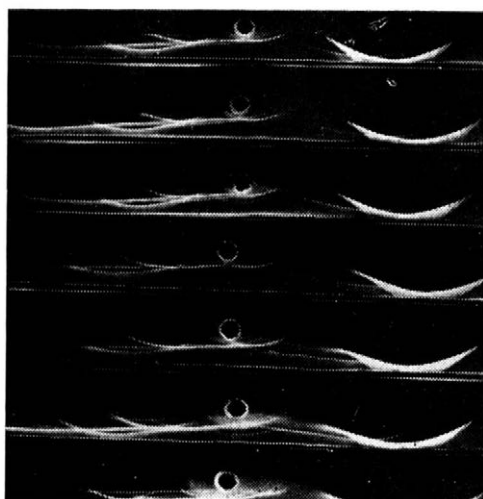
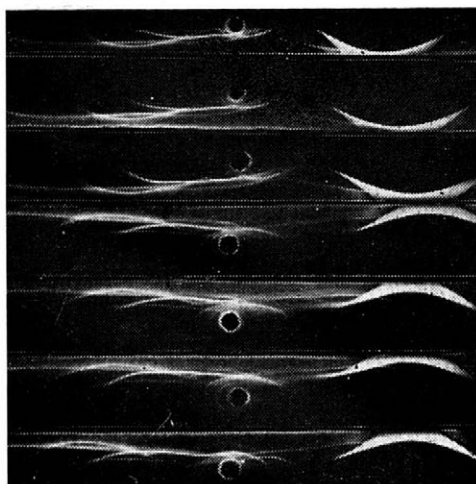
V oblasti β_1 - a α_2 -globulinů se nemění β_{1C} -, β_{1B} -, $\beta_{1(S)}$ - a β_{1A} -globulin a α_{2M} -makroglobulin. Mění se však lipoprotein β_{1L} , α_{2L} a frakce v poloze α_{2C} -ceruloplazminu. S přibýváním času od aplikace množí se precipitační linie v této oblasti β_1 - a α_2 -globulinů. Jejich dezintegraci β , β' -dichlórdietylsulfidem mění se do jisté míry síla, tvar i vzdálenost precipitačních linií ve směru elektroforetické migrace i imunodifúze.

Získané výsledky nemůžeme porovnat s jinými autory, protože jsme se v dostupných literárních pramenech nesetkali s pracemi, které by řešily tuto problematiku za daných experimentálních podmínek.

Podle zhodnocení výsledků papírové agarové elektroforézy a imuno-elektroforézy vidíme, že zjištěné výsledky po aplikaci β , β' -dichlórdietylsulfidu u psů jsou srovnatelné.

1. Imunoelektroforéza
krevního séra psa číslo
1 po β , β' -dichlórdietyl-
sulfidu

K
6 hod.
12 hod.
24 hod.
48 hod.
3. den
4. den

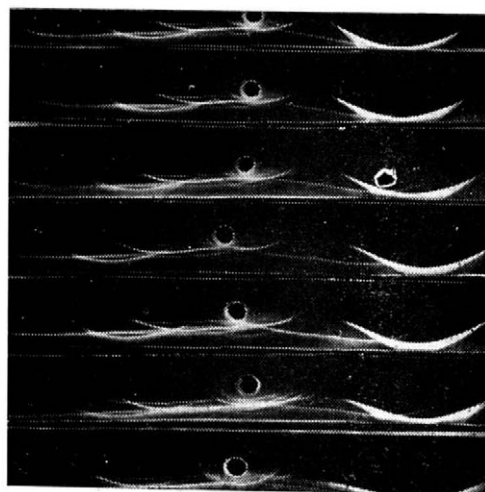


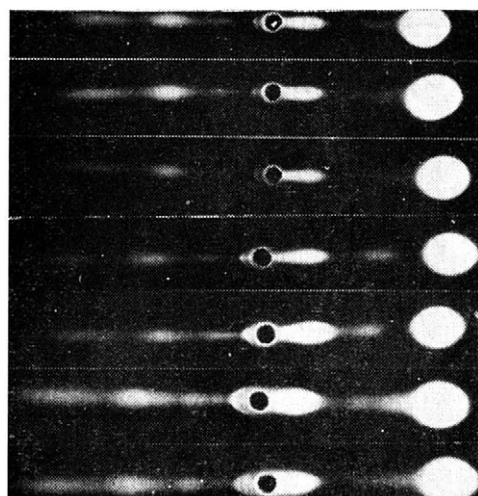
K
6 hod.
12 hod.
24 hod.
48 hod.
3. den
4. den

2. Imunoelektroforéza
krevního séra psa číslo
2 po β , β' -dichlórdietyl-
sulfidu

3. Imunoelektroforéza
krevního séra psa číslo
3 po β , β' -dichlórdietyl-
sulfidu

K
6 hod.
12 hod.
24 hod.
48 hod.
3. den
4. den





K
4. Agaroforéza krevního
séra psa číslo 1 po β , β' -
-dichlórdietyl sulfidu
6 hod.
12 hod.
24 hod.
48 hod.
3. den
4. den

K

6 hod.

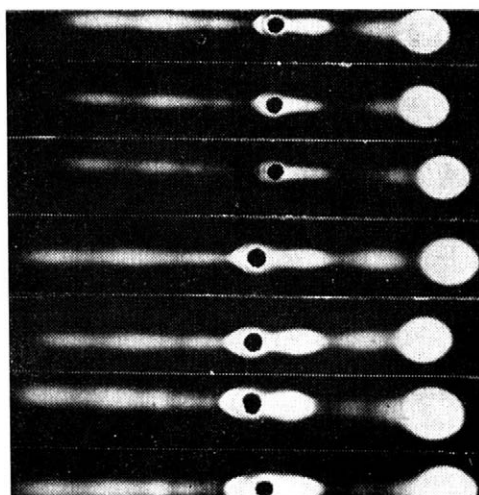
12 hod.

24 hod.

48 hod.

3. den

4. den



5. Agaroforéza krevního
séra psa číslo 2 po β , β' -
-dichlórdietyl sulfidu

K

6 hod.

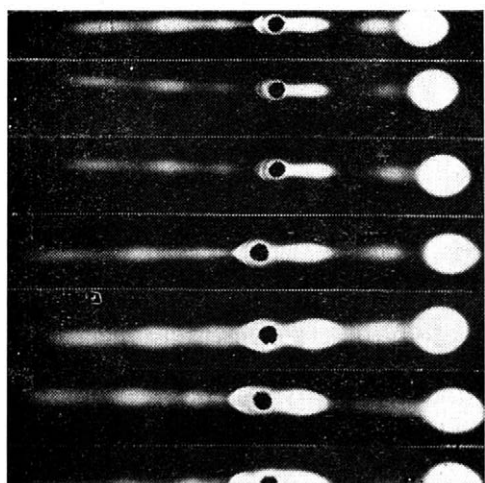
12 hod.

24 hod.

48 hod.

3. den

4. den



6. Agaroforéza krevního
séra psa číslo 3 po β , β' -
-dichlórdietyl sulfidu

Literatura

- DOLEŽALOVÁ, V.: Bílkoviny normálního kryšního séra. [Kandidátská práce.] Brno 1967. — Vysoká škola zemědělská. Fakulta veterinární.
- FAHEY, I. L. — WUNDERLICH, I. — MISHELL, R.: Immunoglobulins of mice. I. Expl Med., 120, 1964, s. 245-251.
- SKVAŘIL, F.: Mikromodifikace IE. Chemické listy, 55, 1961, s. 1069-1080.
- VAERMAN, I. P. — HEREMANS, J. F.: The immunoglobulins of the dog. I. Immunochimistry, 1968, č. 5, s. 425-432.

Došlo dne 28. 5. 1975

ГРУШОВСКИЙ Й. (Военно-ветеринарный исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Влияние радиомиметики на состав белков кровяной сыворотки у собак. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 701-704, 1975.

В статье изучалась белковая сыворотка собак после применения радиомиметиков β , β' -дихлордиэтилсульфида при помощи иммуноэлектрофореза. Примененная доза β , β' -дихлордиэтилсульфида составляет 35 мг ж. м. S. c. на собаку. Было установлено, что со временем после применения размножается преципитационная линия в области β_1 - и α_2 -глобулинов. В результате их дезинтеграции β , β' -дихлордиэтилсульфидом до определенной степени изменяется сила, форма и расстояние преципитационных линий по направлению к электрофоретической миграции и иммунодиффузии. SE и IE в агаре в нашем случае дают лишь приблизительно полуколичественную картину отдельных белковых фракций сыворотки собак и их изменения после применения радиомиметики.

радиомиметика; иммуноэлектрофорез; протеины; собака

HRUŠOVSKÝ J. (Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia). Effect of Radiomimetics on the Composition of the Proteins of Dog Blood Serum. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 701-704, 1975.

In this paper the protein serum of dogs was investigated after an application of the radiomimetics of β , β' -dichlorodiethyl sulphide by means of immunoelectrophoresis. The applied dose of β , β' -dichlorodiethyl sulphide is 35 mg of live weight s. c. per dog. It was found that together with the lengthened time after the application the precipitation lines in the sphere of β_1 - and α_2 -globulins increased. The disintegration by β , β' -dichlorodiethyl sulphide changes, to a certain extent, the strength, shape, and distance of the precipitation lines in the direction of the electrophoretic migration and immunodiffusion. In our case SE and IE in agar provide only a rough semi-quantitative picture of the different protein fractions of dog serum and of their changes after an application of radiomimetics.

radiomimetics; immunoelectrophoresis; proteins; dog

HRUŠOVSKÝ J. (Militärisches Veterinärforschungsinstitut, Praha, Tschechoslowakei). Einfluß der Radiomimetika auf die Zusammensetzung der Eiweißstoffe des Hundeserums. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 701-704, 1975.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Hundeserumeiweiß nach Applikation von β , β' -Dichlordiäthylsulfid mit Hilfe der Immunoelektrophorese verfolgt. Die benutzte Dosis des β , β' -Dichlordiäthylsulfids war 35 mg Lebendmasse s. c. je Hund. Es wurde festgestellt, daß mit der Zunahme der Zeit nach der Applikation sich die Präzipitationslinie im Bereich der β_1 - und α_2 -Globuline vergrößert. Die Desintegration derselben mit β , β' -Dichlordiäthylsulfid verändert bis zu einem bestimmten

Maß die Stärke, Form und Entfernung der Präzipitationslinien in Richtung der elektrophoretischen Migration und der Immunodiffusion. Das SE und das IE im Agar bieten in unserem Fall nur ein grobes semiquantitatives Bild über die einzelnen Eiweißfraktionen des Hundeserums und deren Veränderungen nach der Benutzung des Radiomimetikums.

Radiomimetika; Immunoелеktrophorese; Proteine; Hund

Adresa autora:

Doc. MVDr. J. Hrušovský, DrSc., Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha

VLIV X ZÁŘENÍ NA METABOLISMUS ERYTHROCYTŮ KRYŠ

J. Prokeš, S. Šromová, K. Vulterin, O. Stavovčíková, M. Prokšová

Ústav pro toxikologii a soudní chemii, FVL KU Praha

Vojenský výzkumný veterinární ústav, Praha

PROKEŠ J., ŠROMOVÁ S., VULTERIN K., STAVOVČÍKOVÁ O., PROKŠOVÁ M. *Vliv X záření na metabolismus erythrocytů kryš.* Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 705-713, 1975.

Krysy a králíci byli ozáření X-zářením v dávce 100 až 750 R celotělově. V denních intervalech byly odebírány vzorky krve do heparinu. Po přidání ^{32}P fosforečnanu byly inkubovány 35 minut při 37 °C *in vitro*. Inkorporace do erythrocytů byla signifikantně snížena od dávky 250 do 500 R. Maximální odpověď byla mezi šestým a čtrnáctým dnem. Metodu je možné použít na sledování stavu organismu ozářeného dávkou nad 250 R X-zářením. Diskutuje se o specifitě metody.

krysa; králík; erythrocyty; fosforečnan; X-záření; narkóza; dietyléter

Permeabilita erythrocytů pro ionty po ozáření byla předmětem série prací. Většina sledovala vliv po *in vitro* ozařování, což ztěžuje hodnocení praktického významu nálezů pro eventuální diagnostickou metodu. Tak Nachilnickaja aj. (1971) a Gerasimova aj. (1969) našli v pokusech *in vitro* s erythrocyty kryš po dávce 100 až 150 kR gama záření ^{60}Co snížení příjmu ^{42}K , a to snížení úměrné dávce. Po 800 R X-zářením *in vitro* neukázaly lidské erythrocyty změny příjmu K (Voigt, 1965). Snížená aktivita sodíkové pumpy v lidských erythrocytech po ozáření *in vitro* v dávkách 0,9 až 9,0 kR byla předmětem studia Brescianiho (1964). Japonští autoři Kan k u r a aj. (1969) popsali zajímavé experimenty s inkorporací ^{22}Na do lidských erythrocytů při 0 °C. Našli mimo jiné zvýšení příjmu sodíku již po 100 R. Metodika je však složitá a nevhodila by se dobře pro dané podmínky rutinního vyšetření.

Podobný charakter měl i test založený na sledování inkorporace ^{59}Fe do hemoglobinu *in vivo*. Jde o velmi citlivou reakci – po 500 R gama záření se snižuje inkorporace téměř k nule (H o d g s o n aj., 1966; D i k o v e n k o, 1965; B a u m, 1967; D r a g i c aj., 1969). Pro zajímavost uvádíme srovnání s pokusem *in vitro* se slepičími erythrocyty. Ihned po ozáření stoupla syntéza, v 24. hodině se vrátila na normál (K a z u e v a, 1966).

V literatuře nebyla tomuto problému, snad pro jeho banalitu, věnována dostatečná pozornost. Avšak již v roce 1958 popsali v nedostupné práci C h i h – W a n g L i a K u a n g H u a (1958), že erythrocyty kryš ozářených celotělově 800 až 1100 R inkorporují *in vitro* méně akti-

vity z podaného ^{32}P než neozářené. Pokusy se dělaly pátý a sedmý den po ozáření a v uvedených dávkách byla odpověď úměrná dávce záření.

Práce sovětských autorů R o z e n b e r g a a S m i r n o v o v é (1966), publikovaná o tři roky později, se zabývá také inkorporací ^{32}P jako fosforečnanu do erytrocytů *in vitro*. Tentokrát jsou to lidské erytrocyty pracovníků v uranovém průmyslu, kteří dostávali dávky od 0,4 do 3 R týdně. Našli mírné zvýšení u případů se začínajícími potížemi, ale spíše snížení příjmu u případů vážnějších. Dávky jsou ovšem podstatně nižší než u čínských autorů. Inkorporací anorganického orto-fosforečnanu se dále zabývají rumunští autoři B a n u aj. (1961). Jde však o pokusy *in vivo*, kdy ^{32}P v dávce 0,5 mCi kg^{-1} byl aplikován intramuskulárně psům 72 hodiny po ozáření 600 R nebo 1000 R X-záření. Krev byla odebírána za 24, 48, 96 a 144 hodiny po ozáření. Radioaktivita erytrocytů ozářených zvířat byla z počátku menší než erytrocytů kontrolních zvířat. Klesala však pomaleji, takže ke konci pokusu byl obsah ^{32}P u ozářených vyšší než u kontrolních. V podobných pokusech *in vivo* našli G a s t e v a a Č e t v e r i k o v (1963) pokles ^{32}P u erytrocytů krys po 750 R X-záření.

Snížený výdaj ^{32}P erytrocyty po ozáření byl pozorován i v pokusech *in vitro* s lidskými erytrocyty (S c h w a r z m e i e r aj. 1968).

Z těchto údajů, z předběžných pokusů, ze snadné detekce ^{32}P vyplynula pak práce, kterou předkládáme.

Z našich pokusů s yperitem a především s Endoxanem (Cyclophosphamidem) na jedné straně a s X-zářením na straně druhé vyplynulo, že poměrně dobrým indikátorem stavu ozářeného (nebo N-yperity intoxikovaného) organismu by mohla být inkorporace fosforečnanu značeného ^{32}P , event. ^{33}P .

Na myšlenku použít jako indikátoru míru příjmu ^{32}P při patologických stavech organismu přišli i sovětsští autoři B e r e z o v s k i j (1963), Š c e p e t i l n i k o v a a K a f i e v a (1958), S y č e v a (1959) a K o z l o v (1972), kteří sledovali pacienty s plicní tuberkulózou, revmatismem apod.

MATERIÁL A METODY

Z pochopitelných důvodů lze pro praktické diagnostické použití těžko využít sledování exogenně podaného indikátoru jako ^{32}P , i když je velmi citlivý. Jiná situace je ovšem *in vitro*, kde v úvahu přicházejí erytrocyty pro poměrně velmi dobrou dostupnost vzorku a především proto, že jako kritérium máme celou buňku se zachovanými metabolickými pochody tak, jak tomu bylo *in vivo*. Savčí erytrocyt neobsahuje ovšem zdaleka všechny pochody, především ne ty, které jsou spojeny s přítomností buněčného jádra. Přesto se domníváme, že erytrocyt může velmi dobře sloužit jako model průměrného stavu buněk organismu, které bychom jinak obtížně izolovali. Může sloužit jako model nejen u ozářeného organismu, ale i u organismu intoxikovaného alkylačními činidly, jako jsou yperity, at původní sirný, nebo jeho dusíkatá analogia terapeuticky používaná.

Pro zjednodušení, ale především pro zachování co nejfyziologičtěších podmínek, jsme se rozhodli pro inkubaci celé krve s přidavkem heparinu.

Zůstává otázkou, který metabolický pochod sledovat a který metabolit jako indikátor stanovovat. Je známé, že erytrocyty mají velmi intenzivní metabolismus sacharidový. Sledovat osud glukózy značené ^{14}C nebo dokonce ^3H by bylo jednak velmi nákladné, jednak by vyžadovalo velmi složitou aparaturu scintilačního počítače. Radionuklidem, který nečiní obtíže při detekci, je však ^{32}P . Fosfor v chemické formě fosforečnanu je nejen naprosto běžným obchodním artiklem radionuklidů, ale zároveň součástí většiny metabolitů sacharidů.

Radionuklid ^{32}P se získává reakcí síry s rychlými neutrony $^{32}_{16}\text{S} (\text{n}, \text{p})$ $^{32}_{15}\text{P}$. Je poměrně velmi laciný. Poločas je 14,3 dne. Vysílá pouze beta částice o energii 1,71 MeV. Jde o vysokou energii, díky čemuž lze radiofosfor 32 velmi dobře detekovat i jednoduchými přístroji. Na druhé straně může jeho použití nést s sebou při neodborném zacházení nebezpečí ozáření. To však platí pro množství daleko větší než používáme v této práci.

Z hlediska bezpečnosti práce by byl výhodnější – alespoň na první pohled – jiný radioizotop fosforu ^{33}P . Je to také čistý beta-zářič, ale s energií nižší, blíží se ^{14}C . To však podmiňuje nutnost použít daleko dražší detekční přístroje nebo daleko vyšší aktivity, a tím se dostáváme, pokud se týká rizika, do horší situace než s ^{32}P . Je to dáno větší pravděpodobností masivnějšího zamoření a jeho obtížného zjištění, tedy v důsledcích možností vnitřní kontaminace. Pro práci v dobře vybavené laboratoři má ovšem stabilní ^{33}P proti ^{32}P dost výhod, především v delším poločase.

Fosfor ^{32}P se dodává běžně ve formě orto-fosforečnanu o specifické aktivitě 1 mCi na 1 ml. Osvědčilo se nasávat tento roztok z penicilinky, ve které je dodáván, mikrostříkačkou 40 μl , přičemž penicilinka zůstává v původním olověném krytu. Tím se zmenší možnost ozáření rukou na minimum, k čemuž přispívá i silná skleněná stěna mikrostříkačky.

Délku inkubace jsme volili tak, aby byl dostatečný čas nejen k průniku fosforečnanu membránou, ale i k jeho inkorporaci do různých metabolitů. Tím je pro příjem kritický nejen stav membrány, ale i stav metabolických pochodů. Při volbě časového intervalu jsme vycházeli z práce Schilda a Maurera (1952), kteří dělili v erytrocytech syntetizované metabolity kyseliny fosforečné elektroforézou na papíře.

K pokusům jsme zvolili dva druhy pokusných zvířat, a to krysy a králíky, aby náhoda, že jde o jev typický jen pro jeden druh, byla minimální.

Pro zjištění specifiity nálezu jsme sledovali i vliv intoxikace (*in vivo*) $\text{Hg} (\text{OCN})_2$ na příjem ^{32}P erytrocyty standardní metodou dále uvedenou.

Protože byla krev odebírána krysám po dekapitaci v éterové narkóze (standardní postup v mnoha minulých pokusech), zjišťovali jsme také vliv narkózy na příjem erytrocytů *in vitro* normálních neozářených i ozářených krys.

V dalších pokusech bylo stanoveno, jak se mění příjem ^{32}P erytrocyty v závislosti na době odběru krve.

Ve vlastním pokuse byl sledován příjem fosforečnanu ^{32}P erytrocyty *in vitro* po ozáření 100, 250, 500 a 750 R jednorázově a průběh inkorpo-

race po X-ozáření krys 500 R. Průběh inkorporace u králíků byl sledován po dvou dávkách, a to po 500 R a 750 R.

Pro srovnání uvádíme i průběh inkorporace po aplikaci Cyclophosphamidu u krys a ulidí.

ZVÍŘATA

Bílé krysy Wistar vlastního chovu. Do pokusů byly brány jen samice o hmotnosti 180 až 210 g.

Králíci plemene činčila o hmotnosti 3 až 4 kg, samice.

RADIONUKLID ^{32}P

Jako indikátoru bylo použito ^{32}P ve formě orto-fosforečnanu. Byl použit preparát PBS 2P z The Radiochemical Center, Amersham, England, s obsahem 1 mg P ml⁻¹, a to o aktivitě 1 mCi ml⁻¹. Roztok byl z původní penicilinky odebírán mikrostříkačkou o celkovém objemu 40 μl (výrobek družstva Instrumenta). Tento způsob se ukázal jako nejvhodnější ze všech zkoušených.

ODBĚR KRVE

Krysy byly narkotizovány dietyléterem a dekapitovány. Krev se odebírala za stálého míchání do kádinek o obsahu 50 ml, do nichž byl dán předem Heparin Spofa plv. jako antikoagulans.

Králíci – krev byla odebírána bez narkózy přímo intrakardinální punkcí do stříkačky s Heparinem Spofa.

HEMATOKRIT

Byl stanovován na speciální mikrohematokritové centrifúze Unipan typ 316 (Polsko) v kapilárách s koncem utěsněným plastelinou.

VLASTNÍ INKORPORACE

Odebraná heparinizovaná krev byla odpipetována v množství 1,0 ml do skleněných centrifugačních zkumavek označených čísly zvířat a postavených ve stojánku z nerez (pro další inkubaci ve vodní lázni). Do každé zkumavky bylo mikrostříkačkou 40 μl (Instrumenta) přidáno 10,0 μl roztoku fosforečnanu (PBS 2P), směs byla důkladně promíchána a stěny opláchnuty nakláněním zkumavky za stálého otáčení kolem podélné osy. Celý stojan se zkumavkami byl vložen ihned poté do Dubnofova inkubátoru (Vývojové dílny ČSAV) s nastavenou teplotou 37 °C a rychlostí třepání 8. Po 35minutové inkubaci za třepání byly zkumavky vloženy do centrifugy T 23 Jantzki a odstředěny při 4000 G po dobu 10 minut. Plazma byla co nejlépe odtahována do připravené sady nových zkumavek a uschována v lednici pro nanášení k měření. Erytrocytární masa byla opatrně rozmíchána s 1,0 ml ledového fyziologického roztoku a opět centrifugována za stejných podmínek. Supernatant včetně blanky leukocytů byl pak odtahován do radioaktivního odpadu a erytrocytární masa opět rozmíchána s dalším 1,0 ml ledového fyziologického roztoku. Erytrocyty byly odcentrifugovány opět standardním způsobem, superna-

tant odsát do radioaktivního odpadu a přidáním 1,0 ml ledové H₂O provedena hemolýza. Tato operace se dělala s každou zkumavkou individuálně, aby bylo možné nanést vzorky dvakrát po 0,10 ml hemolýzátu ihned po vyčištění, ale ještě před srážením hemoglobinu. Vzorek byl nanášen v množství 0,10 ml mikropipetou, v poslední době pak mikropipetou typu Eppendorf (Vývojové dílny ČSAV) pro podstatně lepší reprodukovatelnost i přesnost. Z každého hemolýzátu byly připraveny dva vzorky (od krys, od králíků při inkubaci vždy dvojice vzorků, tedy celkem čtyři na každé zvíře).

Po ukončeném nanášení hemolýzátu byly nanесeny také vzorky plazmy ve stejném objemu (vždy dva vzorky od jedné krysy po 0,10 ml a čtyři vzorky ve stejném objemu od jednoho králíka).

STANOVENÍ RADIOAKTIVITY VZORKŮ

Pro stanovení aktivity bylo použito automatu pro měření radioaktivních vzorků Tesla NZQ-615 ve spojení se scintilační sondou osazenou plošným beta detektorem SPD-22 Tesla. Vzorky byly nanесeny na standardních mističkách z hliníku o průměru 25 mm s vloženým kotoučkem chromatografického papíru Whatman No 3.

Napětí na sondě: 1400 V

Předzesilovač: vstupní citlivost 0,3

Derivační konstanta: 20 μ sec.

ZPŮSOB HODNOCENÍ INKORPORACE

Především byly ze všech hodnot hemolýzátů a ze všech hodnot plazmy od téhož zvířete vypočítány průměry. Ty byly pak zpracovány takto:

1. Pokud byla k dispozici simultánní kontrolní skupina (v pokusech s krysy), byla za 100 % inkorporace vzata průměrná inkorporace do erytrocytů kontrolní skupiny a hodnoty pokusných krys byly podle toho přepočítány.

2. Jako míra inkorporace byl vzat poměr aktivit hemolýzátu a plazmy jednotlivých zvířat.

3. Skutečná inkorporace byla přesně propočítána podle vzorce:

$$\% \text{ inkorporace} = \frac{100 a (1 + hk)}{a (hk + 1) + b (1,0 \div hk)}$$

kde: a — aktivita hemolýzátu (0,10 ml)

b — aktivita plazmy (0,10 ml)

hk — hodnota hematokritu

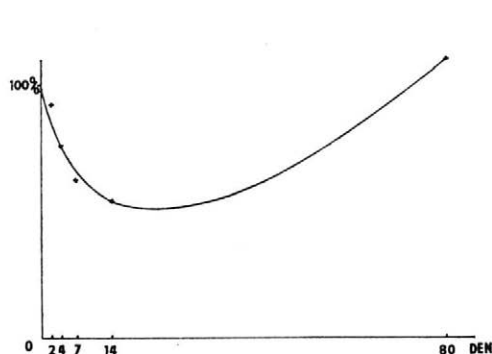
Celková aktivita erytrocytů v 1,0 ml původní krve je pak $10 a (1 + hk)$, celková aktivita plazmy je v 1,0 ml původní krve $10 b (1 - hk)$.

Pro praktické potřeby bude zbytečné stanovovat hodnotu hematokritu a výsledky hodnotit poměrně složitým způsobem. Nebereme-li hodnotu hematokritu v úvahu, pak se projeví jeho snížení — jako následek event. ozáření — markantněji ve výsledku „inkorporační aktivity“.

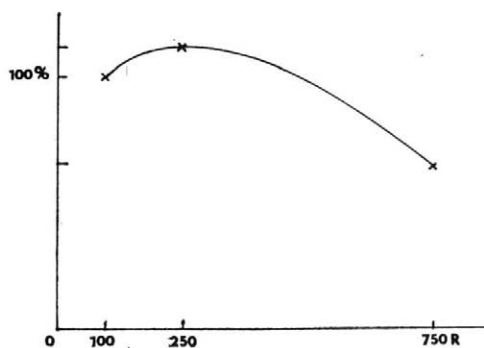
4. Při zaručené přesnosti – použitím Eppendorfských mikropipet – bude stačit pouze hodnota aktivity hemolyzátu jako kritérium stavu zvířete, popř. pacienta, za předpokladu znalosti aktuální aktivity preparátu ^{32}P . Tento způsob se nám jevil jako velmi výhodný s možností jednoduché automatizace.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Z výsledků uvedených v obr. 1 až 4 vyplývá, že jak u králíka, tak i u krysy je metabolismus o-fosforečnanu erythrocyty narušen X-zářením. Jde o přímou poruchu erythrocytu, protože inkorporace probíhá *in vitro*, přičemž předtím bylo vlastní ozáření celotělové. Zřetelná porucha příjmu fosforečnanu nastává u krys od určité hranice, která v našich experimentech byla mezi 250 R a 500 R. Podobné poměry (hodnotu prahové dávky) lze očekávat i u králíka, který při našich pokusech odpovídal zhruba stejně jako krysa. Změny metabolismu ^{32}P nenastávají okamžitě, jejich maximum – minimum příjmu je u krys po 500 R 14. den, u králíka po stejné dávce pak 8. den. Nejde tedy o změny primární, ale o změny odpovídající spíše stavu celého organismu. Tak podobně byla také práce myšlena – nikoliv včasná diagnostika ozáření, ale diagnostické kritérium zasaženého organismu dávkou, která může již být pravděpodobně smrtelná.



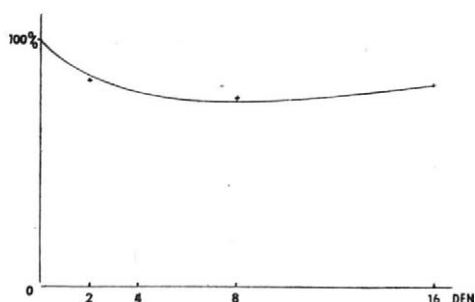
1. Inkorporace ^{32}P do erythrocytů krys po 500 R (100 % = hodnoty kontrolní skupiny)



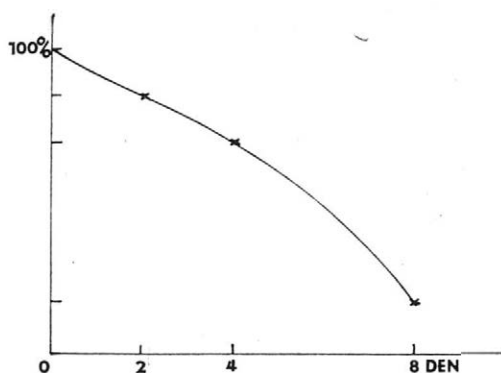
2. Inkorporace ^{32}P do erythrocytů krys šestý den po 100 R, 250 R a 750 R (100 % = hodnoty kontrolní skupiny)

Podle našich výsledků je zřejmé, že při krátkodobé inkubaci (5 min.), kdy jde především o absorpci ^{32}P a transport, se projevuje větší rozdíl v příjmu ^{32}P po 500 R u krys než při inkubaci 35 minut. Tato doba byla používána v celém experimentu, aby bylo možné výsledky srovnávat se staršími výsledky s Cyclophosphamidem u zvířat a u lidí i s gama zářením u krys.

Zbývá s tím související otázka specifiity námi pozorované inhibice inkorporace. Protože se všechny starší pokusy dělaly na krysách dekapitovaných v éterové narkóze, museli jsme si ověřit, jak dalece narkóza ovlivní příjem fosforečnanu a zda se mění odpověď na ozáření u narkotizované krysy proti normální kontrolní. Zjistili jsme, že narkóza ovliv-

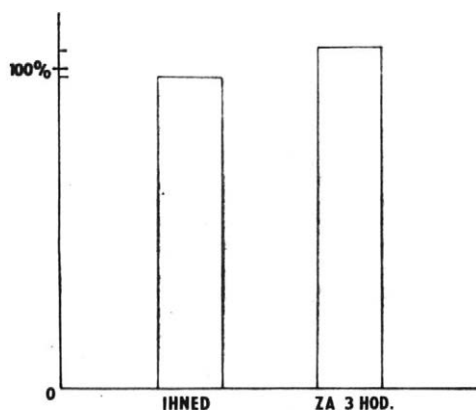


3. Inkorporace ^{32}P do erytrocytů králíků po 500 R (100 % = hodnoty před ozáření)



4. Inkorporace ^{32}P do erytrocytů králíků po 750 R (100 % = hodnoty před ozáření)

ňuje negativně příjem fosforečnanu erytrocyty *in vitro*, ale není tím změněna reakce erytrocytu na ozáření ve srovnání s výsledky v obrázcích. Je nutné tedy vždy při použití narkotizovaných zvířat mít i narkotizovaná zvířata neozařená jako kontrolu (tak tomu bylo i v našich pokusech). Králíci nebyli narkotizováni, a proto u nich takový pokus nebyl nutný. Shodné výsledky u králíků a u krys (obr. 1 až 4) s příslušnými kontrolami ukazují, že pokles inkorporace o-fosforečnanu do erytrocytů *in vitro* po ozáření zvířat *in vivo* není podmíněn narkózou, jak by bylo možné jinak namítat.



5. Vliv stárnutí erytrocytů králíků na příjem ^{32}P (100 % = hodnoty při zpracování ihned po odběru)

Jinou otázkou praktického významu bylo, jak dlouho po odběru krve byl příjem ^{32}P erytrocyty konstantní. Výsledky tohoto pokusu, uvedené na obr. 5 ukazují, že nejméně do tří hodin po odběru se metabolická aktivita erytrocytů krys signifikantně nemění, pokud se týká inkorporace ^{32}P . U králíků není rozdíl, pokud bereme v úvahu poměr aktivit hemolýzát: plazma, ale aktivita samotného hemolýzátu se po jednohodinovém stání krve při pokojové teplotě zvýšila při významnosti na 5 % hranici.

Otázka specifičnosti byla řešena sledováním metabolismu erytrocytů krys intoxikovaných $\text{Hg}(\text{OCN})_2$. Nejen že nebylo nale-

zeno snížení jako u ozářených zvířat, ale dokonce se příjem zvýšil, i když nesignifikantně. Lze tedy říci, že snížení příjmu fosforečnanu erytrocyty ozářených zvířat není známkou jakéhokoliv poškození organismu, ale že je v příčinné souvislosti s poškozením způsobeným zářením.

Literatura

- BANU, I. — DRAGON, V. L. — CASAT, S.: Étude de l'incorporation du phosphore radioactif (^{32}P) dans éléments figurés du sang, sous l'action des rayons X. *Neoplasma*, 8, 1961, s. 177-183.
- BAUM, S. J.: Erythrocyte stem cell kinetics in the postirradiation rat. *Radiation Res.*, 30, 1967, č. 2, s. 316-324.
- BEREZOVSKIJ, B. S.: *Radiologia*, 82, 1963, č. 2.
- BRESCIANI, F. — AURICCHIO, F. — FIORE, C.: Effect of X-rays on movements of sodium in human erythrocytes. *Radiation Res.*, 21, 1964, č. 3, s. 394-412.
- DIKOVENKO, E. A.: *Vopr. Fiziol., Eksperim. Patol. i. Radiobiol.*, Tr. Inst. Eksper. Patol. i Terap. Akad. Med. Nauk SSSR, 1965, s. 389-392.
- DRAGIC, M. — NINKOV, V. — IVANOVIC, Z. — HAJDUKOVIC, S. — KARANOVIC, J.: Effect of irradiation on the erythropoiesis of rats after starvation and bleeding. *Strahlentherapie*, 138, 1969, č. 2, s. 224-228.
- GASTEVA, S. V. — ČETVERIKOV, D. A.: Tretja Vses. Konf. Biokhim. Nervoi Sistemy, Akad. Nauk Arm. SSR, Inst. Biokhim., 1962, Sb. Dokl., Erevan, 1963, s. 597-606.
- GERASIMOVA, G. K. — NACHILNICKAJA, E. N.: K analizu rannych narušenij transporta ionov oblučennych eritrocitov. *Dokl. Akad. Nauk Univ. SSSR*, Pd 5129, 184, 1969, č. 3, s. 709-712.
- HODGSON, G. — ESKUCHE, I.: Recuperacion de la eritropoyesis despues de la irradiacion en ratas con niveles plasmaticos altos de aritropoyetina endogena. *Arch. Biol. Med. Exp.*, 3, 1966, č. 2-3, s. 85-92.
- CHIH-WANG-LI, KUANG HUA: Shen Li Hsueh Pao, 22, 1958, s. 305-311.
- KANKURA, T. — NAKAMURA, W. — ETO, H. — NAKAO, M.: Effect of ionizing radiation on passive transport of sodium ion into human erythrocytes. *J. Radiat. Biol.*, 15, 1969, č. 2, s. 125-136.
- KAZUEVA, T. V.: Vlijaniye obščego rentgenovskogo oblučeniya na biosintëz gema in vitro gemolizatami eritrocitov kur. *Radiobiologiya*, 6, 1966, č. 6, s. 817-818.
- KOZLOV, G. S.: Intensivnost' pogloščeniya eritrocitami ^{32}P i Glicina $^2\text{-C}^{14}$ kak pokazatel' sostojaniya metaboličeskich processov v organizme. *Med. Radiobiol.*, 17, 1972, č. 7, s. 35-39.
- NACHILNICKAJA, E. N. — GERASIMOVA, G. K. — STRŽIŽOVSKIJ, A. D.: Ionnyj transport i energetičeskij metabolism v oblučennych eritrocitoch. *Radiobiologiya*, 11, 1971, č. 3, s. 345-350.
- ROZENBERG, P. A. — SMIRNOVA, M.: *Med. Radiol.*, 6, 1961, č. 1, s. 23-25.
- SCHILD, K. T. — MAURER, W.: *Papieroelektrophoretische Untersuchung des Phosphorstoffwechsels menschlicher Erythrozyten (Untersuchung mit Radio-Phosphor ^{32}P)*. *Biochem. Z.*, 323, 1952, s. 235-244.
- SCHWARZMEIER, J. — MOSER, K. — FRISCHAUF, H.: Einfluß von Röntgenstrahlen auf den Erythrozyten-Stoffwechsel. *Metab. Membrane Permeability Erythrocytes Thrombocytes*, Int. Symp., 1968. Stuttgart, 1968, s. 122-129, Georg Thieme Verlag.
- SYČEVA, J. M.: Pronicajemost' eritrocitov po otnošeniju k radioaktivnomu fosforu pri nekotorych vnutrennich zabolevanijach. *Klin. Med.*, 37, 1959, č. 4, s. 43-46.
- ŠČEPETILNIKOVA, O. G. — KAFIEVA, E. A.: Opredelenije pronicajemosti eritrocitov u boľnych tuberkulezom s pomoščju mečenogo fosfora. *Klin. Med.*, 36, 1958, č. 4, s. 104-107.
- VOIGT, S. D.: AEC Accession No 28924 Rep. No AED — Diss. 1965.

Došlo dne 28. 5. 1975

ПРОКЕШ Й., ШРОМОВА С., ВУЛТЕРИН К., СТАВОВЧИКОВА О., ПРОКШОВА М. (Институт токсикологии и судебной химии, Факультет общей медицины КУ, Прага, Военно-ветеринарный исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Влияние X-лучей на метаболизм эритроцитов крыс. *Vet. Med. (Praha)* 20 (12) : 705-713, 1975.

Крысы и кролики облучались X-лучами в дозе 100—750 Р по всему телу. В суточных интервалах отбирались образцы крови до гепарина. После добавки ^{32}P фосфата они были инкубированы 35 мин. при 37°C *in vitro*. Включение в эритроциты было значительно понижено с дозы 250 до 500 Р. Максимальный ответ был между 6 и 14 днями. Этот метод можно применить для изучения состояния организма, облученного дозой свыше 250 Р X-лучами. Обсуждается специфичность метода.

крысы; кролик; эритроциты; фосфаты; X-лучи; наркоз; диэтилефир

PROKEŠ J., ŠROMOVÁ S., VULTERIN K., STAVOVČÍKOVÁ O., PROKŠOVÁ M. (Institute of Toxicology and Forensic Chemistry of the Faculty of General Medicine of Charles University, Praha, Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia). *Effect of X-Radiation on the Metabolism of Rat Erythrocytes*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 705-713, 1975.

Rats and rabbits were whole-body irradiated with X-rays in the dose of 100 to 750 R. At daily intervals samples of blood were collected and kept in heparin. After addition of ^{32}P phosphate they were incubated for 35 minutes at 37°C *in vitro*. Incorporation in the erythrocytes was decreased significantly from the dose of 250 to 500 R. The maximum response was obtained between the 6th and 14th day. The method can be applied for the examination of the state of the organism irradiated with the dose higher than 250 R of X-radiation. The specificity of the method is discussed.

rat; rabbit; erythrocytes; phosphate; X-radiation; narcosis; diethyl ether

PROKEŠ J., ŠROMOVÁ S., VULTERIN K., STAVOVČÍKOVÁ O., PROKŠOVÁ M. (Institut für Toxikologie und Gerichtsmedizin der Karlsuniversität, Praha, Militärisches Veterinärforschungsinstitut, Praha, Tschechoslowakei). *Einfluß der X-Strahlung auf den Metabolismus der Erythrozyten bei Ratten*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 705-713, 1975.

Ratten und Kaninchen wurden mit X-Strahlen in Dosen von 100 bis 750 R ganzkörperlich bestrahlt. In Tagesintervallen wurden Blutproben in Heparin entnommen. Nach Beigabe von ^{32}P Phosphat wurden dieselben 35 Minuten lang bei 37°C *in vitro* inkubiert. Die Inkorporation in die Erythrozyten wurde signifikant verringert ab Dosis von 250 bis 500 R. Die maximale Reaktion war zwischen dem 6. und dem 14. Tag. Die Methode kann zur Verfolgung des Zustandes des mit einer Dosis von mehr als 250 R bestrahlten Organismus benutzt werden. Es wird die Spezifität der Methode erläutert.

Ratte; Kaninchen; Erythrozyten; Phosphat; X-Strahlung; Narkose; Diäthyläther

Adresa autorů:

Doc. RNDr. PhMr. J. Prokeš, CSc., S. Šromová, prom. ped., RNDr. K. Vulterin, ing. O. Stavovčíková, Ústav pro toxikologii a soudní chemii, FVL KU Praha
PhMr. M. Prokšová, Vojenský výzkumný veterinární ústav, 150 06 Praha

Maximálně účinná terapie fasciolózy a
žaludečních, střevních a plicních helmintóz u
skotu, ovci a koz.

NILZAN

orální suspenze

Spojuje všechny přednosti dvou vynikajících
anthelmintik v jednom přípravku.

Nilzan obsahuje jednak:

* tetramisol (Nilverm), vysoce účinné léčivo
proti širokému spektru gastrointestinálních
nematodů a proti hlístům druhu *Dictyocaulus*.
Má také dosud nepřekonanou účinnost proti
nezralým formám nematodů.

* oxyclozanid (Zanil), bezpečné a účinné
antifasciolikum, které ničí prakticky všechny
trematody žlučových cest bez ohledu na stupeň
jejich zralosti. Oxyclozanid též do jisté míry
pusobí na tasemnice druhu *Moniezia*.

V jediné společné dávce jsou obsaženy
jednotlivé terapeutické dávky obou léčiv a tak je
Nilzan anthelmintikem s nejširším spektrem
účinnosti pro přezývkavce jakéhokoli stáří.

NILZAN

Obsahuje 1,7% levamisol hydrochloridu a 3,4%
oxyclozanidu ve vodné suspenzi.

Nilzan je chráněná známka.

Výrobu tohoto přípravku zahájil n.p. Galena v
Opavě pod názvem Helmisan a dodává se v 5
litrovém balení.

Výhradní zastoupení a
obchodní a vědecké informace
zajišťuje v CSSR
ZENIT/INEXCO ARGOSY LTD.
Jirečkova 11
170 00 Praha 7



Imperial Chemical Industries Ltd.
Pharmaceuticals Division
Alderley Park Macclesfield
Cheshire, England

TERAPIE ČASNÝCH PŘÍZNAKŮ NEMOCI Z OZÁŘENÍ U PSŮ PYRIMETINEM

F. Lehký, E. Dobšínská

Vojenský výzkumný veterinární ústav, Praha

LEHKÝ F., DOBŠÍNSKÁ E. *Terapie časných příznaků nemoci z ozáření u psů Pyrimetinem*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 715-721, 1975.

Byl sledován antiemetický účinek Pyrimetinu (V. V. M. I.) u psů celotělově ozářených gama paprsky dávkou 500 R, podávaného *per os*, intramuskulárně a subkutánně, bezprostředně před expozicí a po ní, v průběhu počátečních příznaků nemoci z ozáření. Utlumení emese nastalo po perorálním podání Pyrimetinu těsně před celotělovým ozářením psů. Po vnitrosvalovém podání před celotělovým ozářením zvraceli dva psi a při *i. m.* podání po celotělovém ozáření vrhnul jeden pes. Podkožní aplikace Pyrimetinu psům před celotělovým ozářováním i po něm mělo 30% terapeutický efekt.

akutní nemoc z ozáření; terapie Pyrimetinem; pes

Požadavky na komplexnost léčby nemoci z ozáření vzhledem k její patogenezi a patofyziologii, jakož i klinickému průběhu, umožňují toliko v malé míře využívat farmaka symptomatické terapie obdobných stavů imitujících prodromální stadium u ozářených jedinců. Z toho vyplývá snaha rozšířit paletu přípravků pro terapii časných postiradiačních reakcí, neboť léčba akutní nemoci z ozáření nutně musí zahrnovat i terapii nauzey, zvracení a psychických alterací.

Rozsáhlé oblasti otázek časných postiradiačních reakcí a jejich ovlivnění vhodnými farmaky je věnována soustavná pozornost. V roce 1963 Timofejev zdůvodňuje potřebu vytypování efektivních léků, které zmírňují nebo upravují časné stadium nemoci z ozáření.

Dostál (1965) uvádí pět skupin léčiv, které jsou využitelné pro terapeutické nebo preventivní ovlivnění specifických příznaků časného stadia nemoci z ozáření: 1. stimulancia a psychofarmaka, 2. antiemetika a antinauzeozní přípravky, 3. anti-anorektika a anabolika, 4. spasmolytika, střevní adstringencie a antiseptika, 5. radioprotektiva.

Višňovský (1972) v možnostech terapeutického ovlivnění časných postiradiačních poruch poukazuje i na současný stav výzkumu této problematiky. Uvádí, že nauzeu a vrhnutí ozářených psů je možno odstranit především ferrotiazinovými antiemetiky (výrazně tlumí CNS); cituje práce Santhy (1967), který měl nadějně výsledky s metoclopramidem.

Ideální prostředek by měl nejen vrhnutí a nauzeu potlačovat, ale i zabránit jejich nástupu či rozvoji.

Že se problematika terapie časné reakce po ozáření dostala z experimentální úrovně do stadia praktické využitelnosti, dokazuje i Seznam československých farmaceutických přípravků SPOFA (1971), kde jsou uvedeny MEDRIN a NAVYTON

jako přípravky komerčně vyráběné a indikované při nauzeozních stavech nemoci z ozáření.

Bulharští odborní pracovníci, kteří se podíleli na řešení problematiky komplexních preparátů pro terapii časných postiradiačních příznaků nemoci z ozáření, vyvinuli kombinovaný preparát PYRIMETIN (V. V. M. I.).

Přezkoušení jeho účinnosti pokusem na celotělově ozářených psech gama paprsky letální dávkou záření a různém způsobu jeho aplikace bylo předmětem naší práce.

MATERIÁL A METODY

Do pokusu byli zařazeni celkem 42 psi plemene beagle, obojího pohlaví, ve věku jeden až dva roky, živé hmotnosti 15 až 18 kg. Zvířata byla chována ve skupinách, po zařazení do pokusu jednotlivě. Byla krmena jedenkrát denně standardní dietou, vodu dostávala *ad libitum*.

Přehled rozdělení psů do pokusných skupin podle aplikace přípravku je uveden v tab. I.

I. Skupiny pokusných psů ozářených ^{60}Co a léčených Pyrimetinem

Pokus číslo	Celotělová expozice v R	Léčivo	Způsob podání	Doba podání	Počet psů
1	500	Pyrimetin	<i>per os</i>	před ozářením	6
2	500	Pyrimetin	<i>per os</i>	po ozáření	6
3	500	Pyrimetin	<i>s. c.</i>	před ozářením	6
4	500	Pyrimetin	<i>s. c.</i>	po ozáření	6
5	500	Pyrimetin	<i>i. m.</i>	před ozářením	6
6	500	Pyrimetin	<i>i. m.</i>	po ozáření	6
7	500	kontroly			

Zvířata byla ozařována gama paprsky ozařovacím zařízením ^{60}Co , celotělovou dávkou 500 R. Pracovní postup při ozařování zvířat, hygiena a bezpečnost práce pro obsluhu, jakož i popis technické části radiačního pracoviště je uvedeno v práci Ďurčíka aj. (1971).

Použit byl PYRIMETIN vyráběný bulharským farmaceutickým průmyslem. Preparát s antiemetickým a stimulačním účinkem jsme měli k dispozici v tabletách a ampulích po 2 ml roztoku bez bližšího udání množství účinné látky.

Pyrimetin v roztoku jsme aplikovali pokusným zvířatům *i. m.* nebo *s. c.* v dávce 2 ml. Pyrimetin v tabletách byl aplikován perorálně, v dávce jedna tableta pro psa. Přípravky byly uvedenými způsoby podávány jednak těsně před ozářením, tj. jednu až dvě minuty před umístěním zvířete do klece a instalací radiačního prostoru, jednak bezprostředně po ozáření, tj. do šesti minut po expozici gama paprsky.

Kontrolním zvířatům byl podáván sterilní fyziologický roztok stejným způsobem, ve stejných časových intervalech a stejném objemu jako účinná látka.

Psi po vyjmutí z radiačního prostoru ozařovacího zařízení byli umístěni po jednom ve zvláštní místnosti. V této místnosti zůstal se psem vždy

jeden pracovník, se kterým se pes již dříve seznámil. Současně zde byla zvířeti ihned podávána sledovaná látka. Od toho okamžiku započalo průběžné sledování jednotlivých kritérií časného postiradiačního stadia.

V časových intervalech 2, 5, 7, 10, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105 a 120 minut a dále za 2 $\frac{1}{4}$, 2 $\frac{1}{2}$, 2 $\frac{3}{4}$, 3, 3 $\frac{1}{4}$, 3 $\frac{1}{2}$, 3 $\frac{3}{4}$ a 4 hodiny. Po aplikaci zkoušeného preparátu byla u pokusných psů sledována soustavně sestava vybraných klinických kritérií, a to: neklid, slinění, slzení, zvracení, zvracení volní, kňučení, zalézání, olizování, polykání, frekvence dechu, vrcení ocasem, skákání, štěkání a dorážení, schlíplost ohonu, pištění, vrčení, chvění, třes, sezení v koutě, stání v útlumu, stání se svěřenou hlavou, kálení, močení a ulehnutí (Grossmann, 1973).

Po čtyřhodinovém soustavném sledování byli psi převedeni do určených kotců a bylo jim podáno krmivo a pitná voda. Dále sledování pokračovala v jednotlivých časových intervalech (po 1 hodině) až do 24 hodin po ozáření a podání léčiva. V jednom dnu byli ozařováni vždy nejméně dva psi, z nichž jednomu byla podána sledovaná látka a druhý byl kontrolou, aby mohly být zachovány shodné podmínky průběhu pokusu.

VÝSLEDKY

Všichni kontrolní psi zvraceli. První dávení bylo u nich zjištěno za 75 minut a poslední za tři hodiny po ozáření. Celkem za tuto dobu zvířata zvracela třinákrát.

U psů, kterým byl podán Pyrimetin v tabletách *per os* před ozářením, nebylo pozorováno zvracení. Jejich klinický stav nevykazoval velkých změn proti zvířatům kontrolním.

Ze skupiny psů, které byly podány tablety Pyrimetinu bezprostředně po ozáření, tři psi zvraceli, u tří psů vrhnutí nebylo pozorováno. Zvracení se objevilo za 90 minut po expozici a trvalo až do 2 hodin 45 minut.

U pokusné skupiny šesti psů, které byl podán Pyrimetin podkožně před ozářením, zvraceli tři psi v časovém rozmezí od 75 minut po ozáření do 2 $\frac{3}{4}$ hodiny. Frekvence zvracení byla velmi nízká, psi zvraceli pouze čtyřikrát, ve značně velkých intervalech. Od prvních okamžiků po ozáření někteří psi jevíli značný neklid, charakterizovaný přecházením a kňučením. Ze psů, kterým byl podán Pyrimetin podkožně po celotělovém ozáření, zvraceli pouze tři, a to v časovém rozmezí 75 minut až 3 hodiny 15 minut.

U sledovaných psů, kterým byl před celotělovým ozářením podán Pyrimetin *i. m.*, zvraceli pouze dva psi. Jeden pes zvracel jednou (za 2 hodiny po ozáření), druhý pes vrhnul dvakrát, a to za 3 hodiny po expozici.

Z pokusné skupiny šesti psů, kterým byl podán Pyrimetin *i. m.* po celotělovém ozáření, zvracel pouze jediný pes, a sice za 2 hodiny 15 minut po celotělovém ozáření.

Souborně doba a frekvence zvracení psů celotělově ozářených dávkou 500 R, kterým byl podán Pyrimetin *per os*, *s. c.* a *i. m.* před iradiací a po ní, je uvedena v tab. II.

II. Doba a frekvence zvracení u psů celotělově ozářených dávkou 500 R, kterým byl podán Pyrimetin per os, s. c. a i. m. před ozářením a po něm

Preparát	Způsob aplikace	Číslo psa	Doba v min. po aplikaci a počet zvracení																						
			2	5	7	10	20	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240	255	270	295
PYRIMETIN	tabl. per os před CTO	78																							
		68																							
		67																							
		73																							
		71																							
		79																							
	tabl. per os po CTO	59											2	2											
		52										2				2	2								
		62									1	1	2	2											
		65																							
		64																							
		63																							
	sol. i. m. před CTO	83																							
		85																							
		82																							
		80																							
		94																2							
		84												1											
	sol. i. m. po CTO	77																							
		74																							
		76													1	1									
		70																							
		72																							
		75																							
	sol. s. c. před CTO	81													1										
		97																							
		99													1		1								
		98																							
		87																							
		93								1															
	sol. s. c. po CTO	58																	1						
		54																							
		61																							
		69															1	2							
		60								1		1					2								
		66																							
	kontroly	89								1	1														
		86										1													
		95																							
		90														1	2	1							
		46								1		2													
		47									1	1				1									

V této práci jsme využili zkušeností, které jsme získali při ověřování účinku reserpinu na průběh období počátečních příznaků nemoci z ozáření u psů (Lehký, Dobšínská, 1973).

Na jejich základě jsme přistupovali k aplikaci Pyrimetinu jednak bezprostředně po celotělovém ozáření, jednak těsně před ozářením, kdy celý organismus, včetně gastrointestinálního traktu, není ještě ionizujícím zářením poškozen.

Pyrimetin bulharské provenience je kombinovaný preparát, ve kterém jednou z hlavních složek je metoclopramid. Výrobce je deklarován jako prostředek s antiemetickým a stimulačním účinkem, používaný při všech stavech emese, včetně zvracení při nemoci z ozáření. Zároveň výrobce uvádí, že se tento preparát vyrábí ve dvou formách, a sice v tabletách k perorálnímu použití v roztoku pro s. c. a i. m. aplikaci. V návodu na použití není uvedeno, jaké množství účinné látky je obsaženo v jedné tabletě nebo v jedné ampuli s 2 ml roztoku. Vycházeli jsme z ústního doporučení jednoho z autorů receptury a podávali jsme psům buď jednu tabletku nebo 2 ml roztoku jednorázově pro jedno zvíře.

Dosažené výsledky jsme zhodnotili především vzhledem k době aplikace a zjistili jsme, že lepších výsledků bylo dosaženo tehdy, když preparát byl podáván těsně před ozářením bez ohledu na to, zda byl aplikován perorálně nebo parenterálně. To lze dokumentovat tím, že z 18 psů, kterým byl podán Pyrimetin před expozicí, jich zvracelo pět a z 18 psů, kterým byl podán Pyrimetin po ozáření, jich zvracelo sedm.

V dalším byly srovnány jednotlivé způsoby aplikace léčiva vzhledem k emesi zvířat a došli jsme k závěru, že při perorálním podání Pyrimetinu v tabletách těsně před ozářením nezvracel z pokusných skupin psů žádný, zatímco při perorálním podávání Pyrimetinu po celotělovém ozařování zvraceli tři psi. Dobrých výsledků bylo dosaženo dále i při i. m. podání Pyrimetinu jak před celotělovým ozářením (zvraceli dva psi), tak i po celotělovém ozáření (zvracel jeden pes). Při s. c. aplikaci tohoto preparátu před celotělovým ozářením zvracela vždy tři zvířata ze šestičlenných skupin. Zvracení se zhruba objevilo v 75. minutě a skončilo přibližně za tři hodiny po ozáření. Frekvence zvracení byla proti zvracení u psů, u kterých byla zkoušena jiná antiemetika (např. reserpin), zcela nízká (Lehký, Dobšínská, 1973).

Naše výsledky se ztotožňují s prací S a n t h y (1970), který sledoval vliv různých antiemetik u celotělově ozářených psů, holubů a žab a který prokázal, že nejúčinnějším léčivem je u všech použitých zvířat metoclopramid. Citovaný autor také uvádí, že preparát nemá na ozářené myši depresivní účinek, což podle našeho názoru nelze tak jednoznačně potvrdit u psů, u kterých byl téměř ve všech skupinách zjišťován určitý stupeň skleslosti a ospalosti. Je však otázka, nakolik se na této depresi podílí vlastní celotělové ozáření a nakolik samotný zkoušený lék Pyrimetin.

Na základě výsledků považujeme Pyrimetin za vhodný lék komplexní terapie nemoci z ozáření ve shodě se S a n t h y m (1970), který označuje jeho složku metoclopramid za perspektivní antiemetikum právě pro prodromální stadium sledovaného onemocnění.

Literatura

DOSTÁL, M.: Period načalných reakcií na obľučenie i lečenie prodromálnych symptomov ľučevoj choroby. Experimentálneho izučenie ranných ľučevých reakcií, Sofia, s. 33-43.

ĐURČÍK, M. — LEHKÝ, F. — HRUŠOVSKÝ, J.: Ozařovací zařízení kobaltu 60 pro středně velká zvířata. Sborník vědeckých prací VVVÚ, 1971, č. 7, s. 49-58.

GROSSMANN, V.: 1972, in: LEHKÝ, F. aj.: Provéření antiemetického účinku vybraných léčiv u celotělově ozářených psů jako součásti komplexní terapie nemoci z ozáření. [Závěrečná zpráva.] Praha, Vojenský výzk. veter. ústav 1972. s. 34.

LEHKÝ, F. — DOBŠINSKÁ, E.: Vliv reserpinu na průběh počátečních příznaků nemoci z ozáření u psů. Sborník vědeckých prací VVVÚ, 1973, č. 9, s. 45-54.

SANTHA, A.: New antiemetics in the prophylaxis and therapy of early radiation reaction. Programme of Radiobiological Symposium and Fifth Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology. Špindlerův Mlýn. s. 56.

Seznam československých farmaceutických přípravků. Spofa. Praha, 1971-1972, s. 446-447.

TIMOFEEV, V. I.: Pervičnaja reakcija na obščee obľučenie i vozmožnosti jeje kupirovanija. Vojenno-Med. žurnal, 1963, č. 2, s. 49-52.

VIŠŇOVSKÝ, P.: Poruchy gastrointestinálnej motility v ožiarenom organizme. Čs. Gastroenterol. Výživa, 26, 1972, č. 6, s. 275-281.

Došlo dne 28. 5. 1975

ЛЕГКИ Ф., ДОБШИНСКА Е. (Военно-ветеринарный исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Терапия ранних признаков болезни после облучения собак Пириметрином. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 715-721, 1975.

Изучалось противорвотное действие Пириметина (V. V. M. I.) у собак, облученных по всему телу гамма-лучами дозой 500 Р, вводимого через рот, внутримышечно и подкожно, непосредственно до и после экспозиции, во время начальных признаков болезни после облучения. Подавление рвоты произошло после подачи Пириметина через рот непосредственно до облучения собак. После внутримышечной подачи до облучения по всему телу рвало две собаки и при внутримышечной подаче с облучением по всему телу рвало одну собаку. Подкожное введение Пириметина собакам до и после облучения по всему телу имело 30 % терапевтический эффект.

острое лучевое заболевание; терапия Пириметина; собака

LEHKÝ F., DOBŠINSKÁ E. (Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia). Therapy of Early Symptoms of Radiation Sickness in Dogs by means of Pyrimetin. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 715-721, 1975.

The antiemetic effect of Pyrimetin (V. V. M. I.) in dogs whose whole body had been irradiated with gamma rays with the dose of 500 R, administered per os, intramuscularly, and subcutaneously, immediately before the exposure and after it in the course of the initial symptoms of the radiation sickness was studied. Decreased emesis occurred after per os administration of Pyrimetin immediately before the whole body irradiation of the dogs. After an intramuscular application before the whole body irradiation two dogs vomited, and in the case of an i. m. administration after the whole body irradiation one dog vomited. Subcutaneous application of Pyrimetin to dogs before the whole body irradiation and also after it produced only a 30 p. c. therapeutic effect.

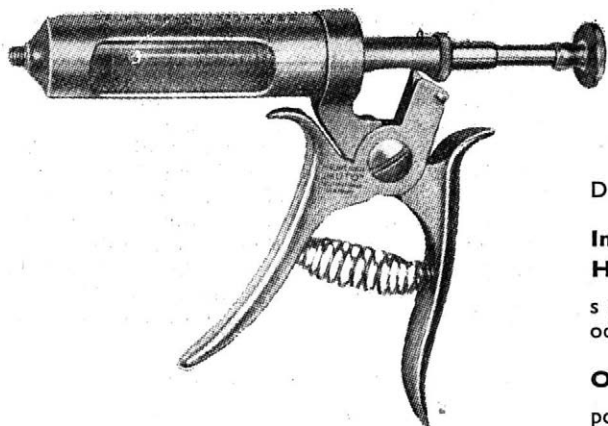
acute irradiation sickness; therapy with Pyrimetin; dog

LEHKÝ F., DOBŠINSKÁ E. (Militärisches Veterinärforschungsinstitut, Praha, Tschechoslowakei). *Die Therapie der Frühsymptome der Erkrankung von Hunden nach Bestrahlung mit Applikation des Pyrimetins*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 715-721, 1975. Es wurde die antiemetische Wirkung des Pyrimetins (V. V. M. I.) bei mit Gammastrahlen in Dosen von 500 R ganzkörperlich bestrahlten Hunden untersucht. Das Präparat wurde *per os*, intramuskulär und subkutan unmittelbar vor und nach der Exposition, im Verlauf der anfänglichen Erkrankungssymptome nach Bestrahlung verabreicht. Nach Verabreichung des Pyrimetins *peroral* unmittelbar vor der ganzkörperlichen Bestrahlung der Hunde kam es zu einer Unterdrückung der Emesis. Nach intramuskulärer Verabreichung von der gesamtkörperlichen Bestrahlung erbrachen zwei Hunde und bei Verabreichung *i. m.* nach der gesamtkörperlichen Bestrahlung erbrach ein Hund. Die subkutane Applikation des Pyrimetins bei Hunden vor der Gesamtkörperbestrahlung und nach derselben hatte einen 30prozentigen therapeutischen Effekt.

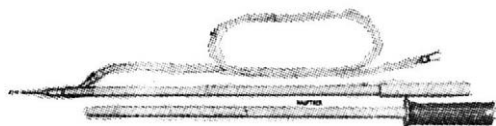
akute Erkrankung nach Bestrahlung; Therapie mit Applikation des Pyrimetins; Hund

Adresa autorů:

MVDr. F. Lehký, CSc., MVDr. E. Dobšínská, CSc., Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha



„KVALITA SE VYPLÁČÍ“



HAUPTNER

VETERINÁRNÍ PŘÍSTROJE

Dva příklady z našeho programu:

Injekční stříkačka „MUTO“ od firmy Hauptner

s automatickým dávkováním, nastavitelná od 0,25 ml do 1 ml a od 1 ml do 5 ml.

Očkovací tyč

podle dr. Beringmeiera z lehkého kovu, podstatně usnadňující očkování ve spojení s očkovací stříkačkou MUTO - EXPRES nebo s jinou automatickou stříkačkou.

Vyžádejte si prosím katalog A.

H. HAUPTNER

D-5650 Solingen, Postfach 220271

BIOCHEMICKÝ INDIKÁTOR POSTIRADIAČNÍHO POŠKOZENÍ U SKOTU

B. Zícha, P. Otoupal, V. Švantnerová, J. Janeček, V. Kalousová

Vojenský výzkumný veterinární ústav, Praha

ZÍCHA B., OTOUPAL P., ŠVANTNEROVÁ V., JANEČEK J., KALOUSOVÁ V. *Biochemický indikátor postiradiačního poškození u skotu.* Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 723-732, 1975.

Byl vypracován biochemický indikátor postiradiačního poškození, který zachytí zvýšené vylučování metabolitů nukleových kyselin v moči celotělově ozářeného skotu v prvních šesti až dvanácti hodinách po expozici. Podstatou tohoto testu je stanovení deoxycytidinových látek testem s kyselinou thiobarbiturovou po předchozí izolaci ionexovou chromatografií. Bylo zjištěno významné zvýšení exkrece deoxycytidinových látek, které je úměrné dávce záření a umožňuje rozdělení ozářeného skotu na lehkou, střední a těžkou formu nemoci z ozáření.

akutní nemoc z ozáření; biochemické indikátory; diagnostika; deoxycytidinurie

Biologické indikátory radiačního poškození jsou důležité pro stanovení stupně poškození a stanovení prognózy. Vyhodnocení klinického stavu a hematologické vyšetření periferní krve, event. kostní dřeně zůstávají klasickými a nejlépe propracovanými vyšetřovacími postupy při sledování biologické ozvy nemoci z ozáření. V posledních letech k tomu přistupuje skupina biochemických indikátorů s cílem prohloubit a zpřesnit časnou diagnostiku nemoci z ozáření, speciálně v jejím latentním stadiu. Zájem o tuto problematiku dokumentují tři mezinárodní symposia konaná v posledních letech (Stuttgart 1970, Vídeň 1971, Budapešť 1975). Biochemické změny lze sledovat na různých úrovních, ovšem praktická a technická hlediska je omezují na snadno přístupné orgány a exkrekty, v prvé řadě moč. Vhodným indikátorem musí být prakticky finální degradační produkt, který by se vylučoval z ozářeného organismu a odpovídal destrukčnímu účinku záření na některé radiosenzitivní tkáně.

Záření, jak známo, blokuje syntézu kyseliny deoxyribonukleové, což má za následek zvýšenou exkreci degradačních produktů nukleových kyselin z poškozených tkání, a to především lymfocytů. Byla prokázána zvýšená exkrece deoxycytidinových látek, které mají odlišnou biotransformaci u různých druhů hospodářských zvířat, která souvisí s různou schopností organismu deaminovat tento deoxypyrimidin. V předchozí práci jsme potvrdili využitelnost deoxycytidinurie u prasat (Zícha aj., 1973).

V této práci jsme sledovali použitelnost deoxycytidinurie jako biochemického indikátoru postiradiačního poškození u skotu.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÁ ZVÍŘATA

Pokus byl proveden na třech skupinách skotu – jalovičkách kříženkách dánské červinky a červenostrakatého skotu ve věku od 7 do 9 měsíců a hmotnosti 180 až 220 kg. Zvířata byla nakoupena vesměs z jednoho chovu (JZD Rudá záře, Horoměřice). V tomto chovu se nevyskytly během sledovaného období žádné infekční choroby. Zvířata byla ustájena v podmínkách běžných pro chov zvířat, ustájení bylo po zoohygienické stránce vyhovující. Zvířata byla krmena peletovanou stravou a stejným režimem jako u původního majitele.

TECHNICKÉ PODMÍNKY OZÁŘENÍ

Zvířata byla ozářena celotělově vícebodovým prostorovým zdrojem ^{60}Co při expoziční rychlosti k 1. 1. 1974 o hodnotě $23,7 \text{ R min}^{-1}$ ve středu ozařovací kobky.

STANOVENÍ DEOXYCYTIDINOVÝCH LÁTEK V MOČI

Deoxycytidinové látky v moči byly izolovány ionexovou chromatografií na sloupcích obsahujících Dowex 1 a Dowex 50.

Dowex 1 $\times$ 8 (200-400 mesh) Serva (Heidelberg) byl převeden do acetátového cyklu a plněn do kolon Sephadex (Uppsala, Švédsko) $10 \times \times 200 \text{ mm}$.

Dowex 50 $\times$ 8 (200-400 mesh) byl převeden do K^+ cyklu a plněn stejným způsobem jako Dowex 1.

Vzorek filtrované moče v množství 10 ml byl navrstven na kolonu Dowex 1 pomocí peristaltické pumpy (vývojové dílny ČSAV Praha). Obě kolony byly navzájem propojeny a promývány cca 100 ml destilované vody (silikonová kapilára $1,8 \times 2,0 \text{ mm}$, efektivní průtok $1,7 \text{ ml min}^{-1}$). Frakce byly jímány v pětiminutových intervalech pomocí sběrače Ultrarac 7000 (LKB Švédsko) a monitorovány registračním záznamem UV absorpce pomocí Uvicordu II 8300 (LKB Švédsko). Po vymizení UV absorpce byl systém rozpojen a kolona Dowex 50 byla promyta ve stejném technickém uspořádání 50 ml $0,1 \text{ N KOH}$.

STANOVENÍ DEOXYCYTIDINU TESTEM S KYSELINOU THIOBARBITUROVOU

Potřeby: $0,5 \text{ N}$ kyselina chloristá p. a (MERCK); 2 N citran sodný, pH 2,3, upraveno skleněnou elektrodou (kompenzátor Metrohm E 388, Herisau, Švýcarsko); kyselina jodistá (LACHEMA) – 228 mg at 10 ml $0,6 \text{ N H}_2\text{SO}_4$; arsenitan sodný (MERCK) – $0,5 \text{ N HCl}$; kyselina thiobarbiturová (MERCK) – 700 mg at 20 ml neutralizováno NaOH na pH 7.

Provedení reakce:

K 6 ml alkalické reakce vytékající z kolony Dowex 50 se přidá $0,5 \text{ ml}$ citranu sodného a cca $0,3 \text{ ml}$ kyseliny chloristé a za kontroly indikačným papírkem PHAN se upraví pH na hodnotu 2,3.

Takto pufovaný eluát se hydrolyzuje na vroucí vodní lázni po dobu 120 minut. Po ochlazení se přidá 0,1 ml kyseliny jodisté. Po 20 minutách se přidá 1,0 ml arsenitanu sodného a po promíchání 0,4 ml kyseliny thiobarbiturové. Roztok se povaří 20 minut a výsledné fialově červené zabarvení se proměří spektrofotometricky při 532 nm (Spektrofotometr CF 4, Optica Milano). Kalibrační křivka se stanoví na standard deoxycytidinu (Calbiochem, USA).

STANOVENÍ KREATININU

Obsah kreatininu v moči byl stanoven kyselinou pikrovou v alkalickém prostředí při 520 nm.

Statistické hodnocení výsledků bylo provedeno Studentovým *t*-testem.

VÝSLEDKY

Fyziologická exkrece deoxycytidinu je u jednotlivých druhů hospodářských zvířat až řádově odlišná. Příčinou je zřejmě odlišná biotransformace tohoto degradačního produktu nukleových kyselin, čemuž odpovídá zhruba reciproční vztah mezi aktivitou deoxycytidinaminohydrolázy a fyziologickou exkrecí deoxycytidinu (Zícha a Buřič, 1969, Zícha aj., 1969). Tento vztah vysvětluje relativní nevhodnost postiradiační deoxycytidinurie u lidí jako jedinců s nízkou exkrecí a vysokou aktivitou a umožňuje posoudit použitelnost tohoto metabolitu jako biochemického indikátoru u některých druhů hospodářských zvířat, které mají nižší aktivitu tohoto deaminačního enzymu.

Normální exkrece deoxycytidinových látek činila v průměru 7,7 μg CdR na 10 ml moče, což při předpokládané diuréze kolem 10 l denně představuje množství cca 70 mg. Ve srovnání s člověkem, který vylučuje pouze stopová množství, je toto kvantum přibližně až o čtyři řády vyšší. Skot je tedy relativně vysokým exkretorem deoxycytidinu, což koreluje

I. TBA pozitivní látky ve vodním eluátu vzorku hovězí moče rozdělené ionexovou chromatografií

Frakce	ml	Klasický postup	TBK pozitivní látky E ₅₃₂	
			bez hydrolýzy	bez hydrolýzy a oxidace
1	6,2	negativní	negativní	negativní
2	8,0	0,064	0,038	negativní
3	8,4	1,280	1,240	negativní
4	8,6	1,320	1,420	negativní
5	8,6	0,238	0,224	negativní
6	8,6	negativní	negativní	negativní
7	8,6	negativní	negativní	negativní
8	8,6	negativní	negativní	negativní
9	6,2	negativní	negativní	negativní

Klasický postup: 120 minut hydrolýza při 100 °C, citrátový ústoj pH 2,3, oxidace kyselinou jodistou

s nálezy nižší aktivity deoxycytidinaminohydrolázy v játrech tohoto druhu hospodářských zvířat.

Kromě deoxycytidinu jsou v hovězí moči ve značné koncentraci další látky, které dávají pozitivní reakci v testu s kyselinou thiobarbiturovou. Pokusili jsme se blíže charakterizovat tyto tzv. nespecifické TBK pozitivní látky. Zjistili jsme, že tyto látky při ionexové chromatografii vytékají již ve vodním eluátu. Jak je patrné z tab. I, nevyžadují tyto látky k pozitivní barevné reakci předchozí hydrolýzu. Oxidační štěpení cukrů kyselinou jodistou je v analytické chemii používáno v důkazu konstituce látek s cis- nebo trans-glykolovou strukturou. V pozitivní reakci s kyselinou thiobarbiturovou dávají látky s vmezečenou metylénovou skupinou $-CH_2-$ mezi glykolem, která po oxidaci umožňuje vznik malonaldehydu $CHO-CH_2-CHO$. Proto také tuto reakci dává volná deoxyribóza, ale ne již odpovídající deoxyribosid, kde jako u deoxycytidinu je aldehycká vazba spojena s cytosinem jako glykosid. Protože TBK pozitivní látky ve vodním eluátu nevyžadují předchozí hydrolýzu, jedná se zřejmě o volné cukry charakteru deoxyribózy, které se nepodařilo blíže identifikovat. Množství těchto látek násobně převyšuje hladinu deoxycytidinu v moči, a proto jsme považovali za nutné stanovit vliv celotělového ozáření na exkreci látek do moče. Výsledky jsou uvedeny na tab. II. Po ozáření je pozoro-

II. TBK pozitivní látky ve vodním eluátu v moči skotu po celotělovém ozáření (E_{532} ug TBK chromogenu/10 ml moče)

Doba po ozáření v hod.	450 R		250 R		150 R	
	ug	%	ug	%	ug	%
N	14,4	100	31,7	100	16,0	100
O	11,0	76	19,0	60	9,6	60
3	21,0	146	34,5	109	21,0	130
6	57,0	397	83,5	263	30,0	191
9	46,5	322	77,1	243	31,0	192
12	48,0	334	57,4	181	22,0	139
15	36,0	251	45,4	143	19,0	118
18	30,0	210	59,5	188	18,0	110
21	28,0	195	51,1	161	17,0	105
24	25,0	175	34,2	108	16,0	99
36	21,0	146	36,6	116	14,0	88
48	19,0	131	21,8	69	13,0	84
72	15,5	107	23,6	74	12,0	76

váno zvýšené vylučování těchto látek, které ovšem nepoukazuje na velikost expozice. Výchozí hodnoty převyšují násobně fyziologickou exkreci deoxycytidinu. Z tohoto důvodu nelze proto použít pro stanovení deoxycytidinu přímo nečištěnou moč, ale je nutno ji předem ionexovou chromatografií oddělit. Tyto nálezy doplňují obdobná pozorování u krys, kde ovšem vzhledem k vysoké exkreci deoxycytidinu je množství TBK pozitivních látek přibližně ve stejné hladině (Š ů r b e a B o u v e n g, 1971).

Potřeba rutinní diagnostiky si vyžádala vypracovat relativně jednoduchou izolační metodu deoxycytidinu s dobrou reprodukovatelností, která by navíc odstranila možnou interferenci nespecifických TBK pozitivních látek. V elučním spektru jsou přítomny dvě skupiny látek. Deoxycytidin je eluován kvantitativně z kolony Dowex 50. Považovali jsme proto uvedený izolační postup za vhodný pro sériové stanovení deoxycytidinu a prošetřili jsme v dalším vliv celotělového ozáření na exkreci tohoto metabolitu.

Skupiny jaloviček po šesti kusech byly ozářeny dávkami 450, 250 a 150 R. Z klinického hlediska vyvolaly tyto dávky těžkou, střední a lehkou formu akutní nemoci z ozáření. Těžká forma byla stoprocentně letální s latentní fází do 7 dnů, střední forma s dobou latence do 15 dnů a u lehké formy jsme nepozorovali rozvoj klinických příznaků typických pro nemoc z ozáření.

Moč byla odebírána katetrizací nebo spontánním močením, a to jednak těsně před ozářením a dále ihned po expozici a 3., 6., 9., 12., 15., 18., 21., 24., 36., 48. a 72. hod. po ozáření. U většiny experimentálních modelů se vyjadřuje exkrece metabolitu v moči za jednotkový časový interval, většinou za 24 hodiny. Tento postup nemohl být z technických ani koncepčních důvodů dodržen. Protože na druhé straně nejsou k dispozici prahové hodnoty deoxycytidinu ledvinami a jsou popisovány změny

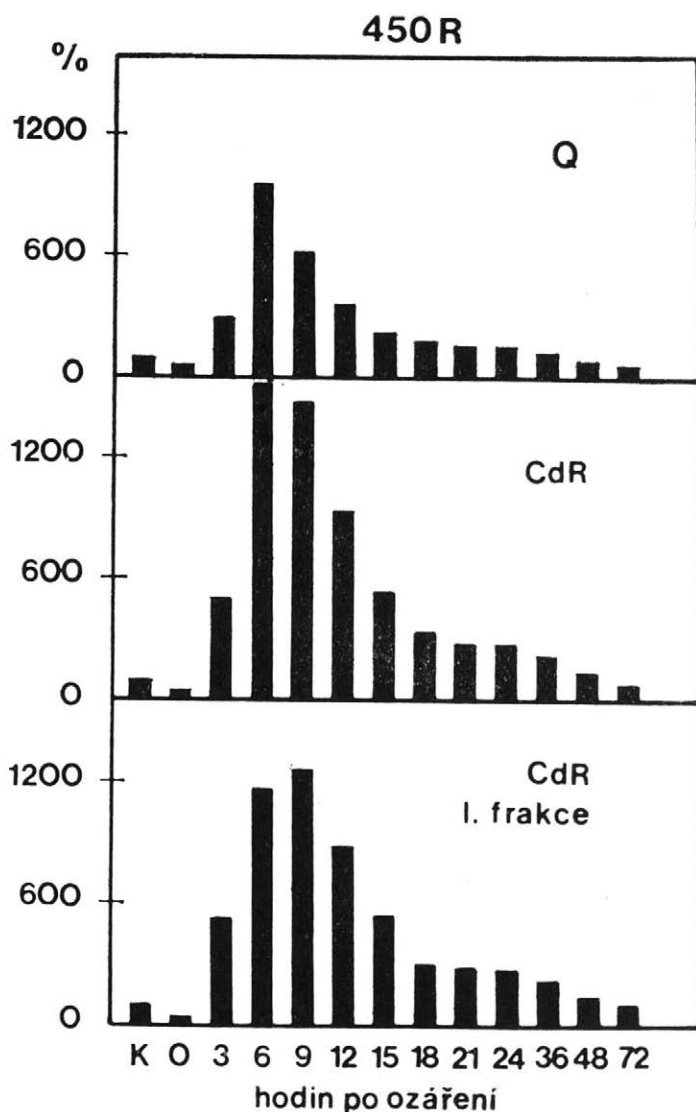
III. Hladina kreatininu v moči po celotělovém ozáření

Doba po ozáření v hod.	450 R		250 R		150 R	
	průměr	%	průměr	%	průměr	%
N	72,1	100	86,3	100	61,2	100
O	40,4	56	73,3	85	56,3	91
3	102,4	142	140,4	163	64,6	105
6	105,1	146	148,7	172	55,8	91
9	143,4	199	133,3	154	57,1	93
12	160,3	222	165,4	192	56,0	91
15	149,8	208	167,5	194	64,6	105
18	124,8	173	167,9	195	71,0	116
21	116,7	162	162,9	189	64,3	105
24	124,9	173	178,3	206	58,4	95
36	128,0	177	165,8	192	55,6	91
48	122,0	169	156,2	181	61,3	100
72	128,1	178	152,8	177	63,4	103

diurezy po ozáření, považovali jsme za vhodné vyjádřit exkreci deoxycytidinu na jednotkové množství kreatininu. Kreatinin je bezprahovou látkou pro ledviny a jeho denní množství téměř nezávisí prakticky na příjmu potravy. Jeho hladina se zvyšuje za těžkých horečnatých stavů, za hladovění a při rozrušení svaloviny a rovněž při nadměrné diuréze.

Tyto stavy nelze pozorovat v prvních dnech po ozáření, a proto jsme považovali vyjádření exkrece deoxycytidinu na jednotkové množství kreatininu za objektivější a eliminující faktor nestejné diurézy po ozáření. V literatuře je popisováno zvýšení kreatinu a kreatininu po ozáření (Gerber aj., 1961). Vliv celotělového záření na vylučování kreatininu je uveden na tab. III. Po dávce 450 a 250 R se zvyšuje hladina již od 3. hodiny a přetrvává sledovaný interval 72 hod. po expozici. Po dávce 150 R jsme již toto zvýšení nezaznamenali. Příčina zvýšeného vylučování po ozáření není objasněna a jsou uváděny možnosti jako zvýšená syntéza v játrech, nebo snížená inkorporace následkem snížené fosforylace kreatinu. Námi pozorovaná exkrece se zvyšuje až na 220 % výchozích hodnot, a tím snižuje množství deoxycytidinu vyjádřeného na jednotkové

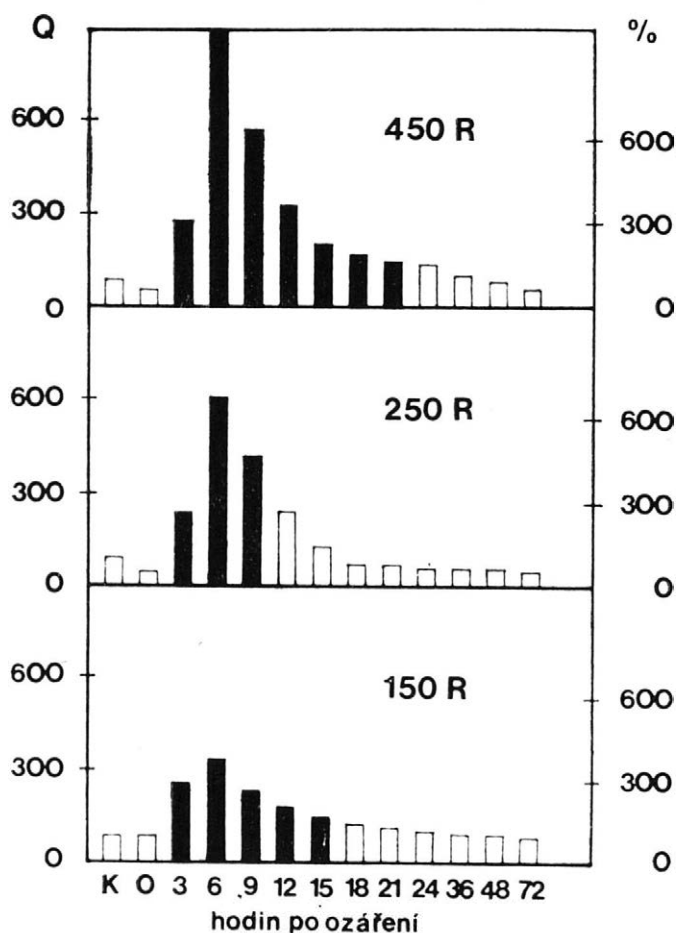
1. Vylučování deoxycytidinových látek v moči jalovic ozářených celotělovou dávkou 450 R



množství kreatininu. Při tomto způsobu vyjádření, který uvádíme jako kvocient Q ($Q = \text{CdR } \mu\text{g/kreatinin mg} \cdot 100$) je test méně citlivý, ale objektivnější, protože bere v úvahu faktor již citované diurézy.

Deoxycytidin je kvantitativně eluován již v prvních třech frakcích alkalického eluátu. Bylo proto zajímavé, zda bude možné jako biochemický indikátor použít již prvou frakci, která obsahuje cca 50 % přítomného deoxycytidinu v moči. Exkrece deoxycytidinu, vyjádřená jednak v μg na 10 ml moče, jednak ve formě kvocientu Q , tj. na jednotkové množství kreatinu, a konečně jako hodnota I. frakce, je znázorněna na obr. 1. Všechny tři způsoby hodnocení vykazují stejné maximum zvýšené exkrece deoxycytidinových látek a lze je použít jako diagnostického kritéria.

SKOT



2. Dynamika exkrece deoxycytidinových látek v moči jalovic ozářených celotělovou dávkou 450, 250 a 150 R (černé sloupce = statistická významnost $P < 0,001$)

U tohoto vzorku moče, odebíraného po dávce 450 R, je nejvýraznější vyhodnocení v ug na 10 ml moče, které dosahuje v intervalu šesti hodin po expozici hodnoty 1675 % výchozí hladiny.

Vliv celotělové expozice byl sledován u tří dávek: 450, 250 a 150 R. Po ozáření dochází u všech tří skupin k časné zvýšené exkreci deoxycytidinových látek, pozorované již tři hodiny po ozáření. Dynamika exkrece v časovém průběhu má u všech tří skupin stejný charakter. Maximální hodnoty jsou pozorovány mezi šestou až devátou hodinou po ozáření. Zvýšení je vesměs přechodné a již kolem 15. hodiny po expozici pozorujeme návrat k hodnotám před ozářením. Po dávce 450 R dosahuje zvýšení 964 až 623 % v 6. a 9. hodině po expozici, po dávce 250 R 688 až 477 % a konečně po dávce 150 R 296 až 197 % výchozích hodnot. Je tedy patrná dobrá závislost mezi velikostí dávky a exkrecí CdR, jak je uvedeno v grafickém uspořádání na obrázku 2. Použitý test je značně citlivý a reaguje i na dávku 150 R, kterou ozářená zvířata vesměs přežívají bez jakýchkoliv klinických projevů. U skupiny ozářené dávkou 250 R nebylo možné podle zvýšené exkrece odhadnout jedince, kteří uvedenou expozici přežijí, nebo exitují (čtyři zvířata ze šesti uhynula).

Deoxycytidinurie je tedy vhodným časným indikátorem postiradiačního poškození u skotu. Hodnota koeficientu Q umožňuje již v prvních šesti hodinách po ozáření odhadnout stupeň zasažení a rozlišit těžkou, střední a lehkou formu nemoci z ozáření.

DISKUSE

Degradační produkty nukleových kyselin, které se vylučují ve zvýšené míře močí ozářených jedinců, jsou relativně specifickými indikátory postiradiačního poškození. Byla prokázána vhodnost využití deoxycytidinurie u skotu a potvrzen náš předpoklad vyšší fyziologické exkrece deoxycytidinových látek v moči skotu. Vzhledem k nižší aktivitě deoxycytidinaminohydrolázy je tento deoxypyrimidin prakticky finálním degradačním produktem, který není dále biotransformován, a proto je také jako indikátor využitelný.

Z možných metodik pro stanovení deoxycytidinu jsme zvolili barevnou reakci s kyselinou thiobarbiturovou, jednak pro její relativní jednoduchost, jednak pro proveditelnost i v improvizovaných podmínkách v případech hromadného vyšetření. Nevýhodou reakce je skutečnost, že s kyselinou thiobarbiturovou v tomto testu reagují i další nespecifické látky, které bylo nutné izolačním postupem použitou ionexovou chromatografií předem odstranit.

Postiradiační deoxycytidinurie je citlivým testem s dobrou závislostí na dávce a umožňuje rozdělení exponovaných zvířat nejméně do tří skupin s různou dobou latence, a tím i stanovení maximální doby ozářených zvířat, speciálně zvířat určených k jatečným účelům.

Dynamika exkrece, vykazující časné maximum, odpovídá degradaci nejcitlivějších buněk – lymfocytů. Lze předpokládat, že se jedná nejspíše o degradační produkty mrtvých buněk, než o poruchu vlastní syntézy DNK (Gerber, Remy-Defraigne, 1969). Tento nálezný také koreluje se změnami periferní krve a patomorfologickými nálezy v lymfatických uzlinách a slezině.

Postiradiační deoxycytidinurie u skotu lze tedy doporučit jako jeden z dalších indikátorů radiačního poškození. Není to indikátor univerzální a domníváme se, že při mnohotvárnosti radiačního syndromu a biologické variabilitě ani neexistuje specifický test, který by byl použitelný v celkovém průběhu nemoci z ozáření. Celkový trend v této problematice proto i nadále sleduje vypracování souboru vhodných biologických indikátorů a z tohoto hlediska považujeme také prezentované výsledky za rozšíření komplexního problému biologických indikátorů.

Literatura

- GERBER, G. B. — GERTLER, P. — ALTMAN, K. I. — HEMPELMAN, L. M.: Dose dependency of radiation on induced creatine excretion in rat urine. *Radiat. Res.*, 15, 1961, s. 307-313.
- GERBER, G. B. — REMY-DEFRAIGNE, J.: Mechanism of deoxycytidinuria in irradiated mice and rats. *Radiat. Res.*, 40, 1969, s. 105-111.
- SÖRBE, B. — BOUVENG, R.: On the excretion of deoxyribosyl compounds in urine from rats and mice after irradiation. In: *Biochemical indicators of radiation injury in man*. Vienna, IAEA, 1971, s. 75-78.
- ZÍCHA, B. — BURIČ, L.: Deoxycytidine and radiation response. An exceedingly high deoxycytidine aminohydrolase activity in human liver. *Science*, 163, 1969, s. 191.
- ZÍCHA, B. — GERBER, G. B. — DEROO, J.: Deoxycytidine aminohydrolase. *Experientia*, 25, 1969, s. 1039.
- ZÍCHA, B. — LEHKÝ, F. — OTOUPAL, P. — HRUŠOVSKÝ, J.: Biochemická diagnostika akutní nemoci z ozáření u prasat. *Vet. Med. (Praha)* 18, 1973, č. 4, s. 251-258.

Došlo dne 28. 5. 1975

СИХА Б., ОТОУПАЛ П., ШВАНТЕРОВА В., ЯНЕЧЕК Й., КАЛОУСОВА В. (Военно-ветеринарный исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Биохимический индикатор постиррадиационного повреждения у крупного рогатого скота. *Vet. Med. (Praha)* 20 (12) : 723-732, 1975.

Byl разработан биохимический индикатор постиррадиационного повреждения, который регистрирует повышенное выделение метаболитов нуклеиновых кислот в моче облученного по всему телу крупного рогатого скота в первых 6—12 час. после экспозиции. Сущность этого теста заключается в определении деоксицитидиновых веществ при помощи теста с тиобарбитуровой кислотой после предшествующей изоляции ионообменной хроматографией. Было установлено существенное повышение экскреции деоксицитидиновых веществ, которое пропорционально дозе облучения и позволяет разделить облучение крупного рогатого скота на легкую, среднюю и тяжелую формы лучевого заболевания.

острое лучевое заболевание; биохимические индикаторы; диагностика; деоксицитидинурия

ZÍCHA B., OTOUPAL P., ŠVANTNEROVÁ V., JANEČEK J., KALOUSOVÁ V. (Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia). *Biochemical Indicator of Post-Irradiation Injury of Cattle*. *Vet. Med. (Praha)* 20 (12) : 723-732, 1975.

A biochemical indicator of post-irradiation injury, recording the increased secretion of metabolites of nucleic acids in the urine of whole-body irradiated cattle in the first 6—12 hours after exposure was worked out. This test consists in the determination of deoxycytidine substances by means of the test with thiobarbituric acid after a previous isolation by means of ion exchange chromatography. A significant increase of the excretion of deoxycytidine substances which was proportionate to the dose of irradiation and made it possible to divide the irradiated cattle into animals showing light, medium, and severe forms of the irradiation sickness was found.

acute radiation sickness; biochemical indicators; diagnostics; deoxycytidinuria

ZÍCHA B., OTOUPAL P., ŠVANTNEROVÁ V., JANEČEK J., KALOUSOVÁ V. (Militärisches Veterinärforschungsinstitut, Praha, Tschechoslowakei). *Biochemischer Indikator von Postirradiationsschädigungen beim Rind*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 723-732, 1975.

Es wurde ein biochemischer Irradiationsschädigungs-Indikator ausgearbeitet, der die erhöhte Ausscheidung von Metaboliten der Nukleinsäuren im Harn des gesamtkörperlich bestrahlten Rindes in den ersten 6 bis 12 Stunden nach der Exposition erfaßt. Das Wesen des Testes besteht in der Bestimmung der Deoxycytidinstoffe mit Hilfe der Thiobarbitursäure nach vorangehender Isolierung mit Ionenchromatographie. Es wurde eine signifikante Erhöhung der Exkretion der Deoxycytidin-Stoffe festgestellt, die der Bestrahlungsdosis proportioniert ist und die Einteilung der bestrahlten Rinder auf eine leichte, mittlere und schwere Form der Bestrahlungskrankheit ermöglicht.

akute Bestrahlungskrankheit; biochemische Indikatoren; Diagnostik; Deoxycytidinurie

Adresa autorů:

MVDr. et RNDr. B. Zícha, CSc., MVDr. P. Otoupal, V. Švantnerová, MVDr. J. Janeček, CSc., V. Kalousová, Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha

DYNAMIKA ČASNÝCH ZMĚN V BÍLÉ SLOŽCE PERIFERNÍ KRVĚ CELOTĚLOVĚ OZÁŘENÉHO SKOTU

J. Janeček, B. Zícha, P. Otoupal, V. Kalousová, V. Švantnerová

Vojenský výzkumný veterinární ústav, Praha

JANEČEK J., ZÍCHA B., OTOUPAL P., KALOUSOVÁ V., ŠVANTNEROVÁ V.
Dynamika časných změn v bílé složce periferní krve celotělově ozářeného skotu.
Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 733-740, 1975.

Byly získány některé nové poznatky o dynamice změn bílé složky periferní krve, a to zejména v časných intervalech u tří klinicky odlišných dávek ionizujícího záření. U nejvyšší dávky byla zaznamenána raná nespecifická leukocytóza pouze šest hodin od expozice. Signifikantní neutrofilie se vyskytovala u všech tří dávek od šesti hodiny. U dávky nejvyšší měla nejkratší trvání a nejvyšší hodnoty, u nejnižší dávky naopak. U nejvyšší dávky nastupuje leukopenie po 24 hodinách, u ostatních dávek až po 36 hodinách. Lymfopenie se dostavuje již po šesti hodinách, ale stupeň závažnosti podle dávek se projeví až po 12 hodinách. Leukopenie a lymfopenie mají u všech tří skupin setrvalý charakter. Bylo potvrzeno, že změny v bílé krevní složce jsou nejtýpější odezvou na expozici ionizujícím zářením a byla stanovena orientační i speciální kritéria pro posouzení závažnosti formy ozáření na základě numerických změn leukocytů, lymfocytů a neutrofilních granulocytů do 72 hodin po expozici.

diagnostika poškození ionizujícím zářením; radiosenzitivita; lymfopenie; neutrofilie; nespecifická leukocytóza; skot

Hematologické změny v kostní dřeni a periferní krvi spolu s klinickým obrazem postiradiačního poškození se stále ještě považují za hlavní objektivní indikátory nemoci z ozáření a jsou také obecně zavedeny do diagnostiky akutní nemoci z ozáření. Nejzávažnější jsou změny časné a ty se týkají především bílé krevní složky periferní krve.

Hematologické změny mají u všech savců více méně jednotný charakter, liší se pouze v časovém průběhu a v kvantitativních ukazatelích. Je to důsledek rozdílné radiosenzitivity jednotlivých druhů zvířat.

Je více než přesvědčivé, že pro diagnostiku závažnosti poškození ionizujícím zářením (včetně časné diagnostiky) je stále nejdůležitější vyšetření číselných změn leukocytů a zejména pak lymfocytů. Ostatní složky bílé krevní řady, vyjma neutrofilních granulocytů, lze při tomto hodnocení zanedbat, neboť u nich nedochází k takovým specifickým změnám, jako u zmíněných druhů.

Radiosenzitivitu, a tím i stupeň ozáření, lze vyjádřit v číselném poklesu buněk. Ionizující záření v počáteční fázi působí jako zátěžový faktor. V této časné fázi lze tedy diferencovat specifická poškození od nespecifických i z hlediska hematologického. Tímto nespecifickým poško-

zením je zvýšení počtů leukocytů, tedy časná leukocytóza, podmíněná absolutní neutrofilii. Jde o Selyem popsanou zátěžovou reakci.

Za specifické můžeme označit téměř všechny číselné poklesy jednotlivých druhů buněk. Jsou to ovšem změny sekundární – jako důsledek rozvinutých metabolických postiradiačních poruch.

Výjimkou je lymfopenie. Lymfocyty jsou nejcitlivější periferní buňky na ozáření (Dienstbier aj., 1966; Braunsteiner, 1959; Morczek, 1965; Anderson aj., 1971 a řada jiných).

Dienstbier aj. (1966) uvádějí, že lymfopenie po ozáření je okamžitá, na poplachové reakci nezávislá. Lymfopenie je i druhově nezávislá a dobře koreluje s dávkou záření i s druhovou radiosenzitivitou. I když řada faktorů může ovlivňovat charakter a stupeň biologické odpovědi organismu na ozáření, pokles počtu lymfocytů je konstantní. Jejich úbytek je zatím nejspolehlivější a dostatečně citlivý ukazatel stupně postiradiačního poškození.

Méně typické jsou kvantitativní změny u ostatních druhů leukocytů.

Literární údaje o hematologických změnách u ozářeného skotu jsou dosti ojedinělé. Brown (1962), Rosenfeld (1958) a Schultze aj. (1958) potvrzují výraznou leukopenii po ozáření. V novější práci Sasser aj. (1973) vyvolala dávka 240 R (1 R za min. – 110 radů pro kus) typickou redukci leukocytů a trombocytů u herefordských býčků o hmotnosti 180 kg. Uvádí se i signifikantní snížení monocytů druhý až třetí týden po ozáření s paralelně se snižujícím počtem eozinofilů. Obdobné změny jsou pozorovány po dávce 700 R ^{60}Co u býčků, rovněž herefordského plemene, o hmotnosti 220 až 450 kg. Ovšem různé technické podmínky ozařování znemožňují přesné porovnání výsledků (Eisele a Bell, 1973).

MATERIÁL A METODY

Pokusný materiál a technické podmínky ozařování jsou popsány v práci Otupala aj. (1975). Bylo použito obvyklých klasických hematologických metod k stanovení počtu leukocytů a diferenciálního rozpočtu leukocytů.

VÝSLEDKY

Celkový počet leukocytů:

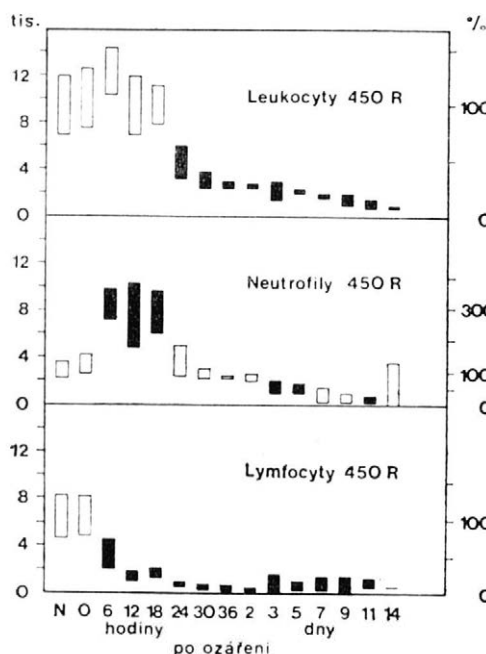
Mírný náznak leukocytózy je pozorován pouze u skupiny ozářené dávkou 450 R, a to v intervalu šest hodin po expozici. Zvýšení dosahuje 130 rel. % výchozích hodnot a vrací se do 12 hodin k normálu. Signifikantní leukopenie je u skupiny 450 R pozorována od 24. hodiny (49 rel. %). Tento pokles se v časovém rozvoji nemoci z ozáření prohlubuje a dosahuje v terminálním stadiu pouze 9 rel. % výchozích hodnot. U obou zbývajících skupin 250 a 150 R je pokles povlnnější a statisticky významný až 36 hodin po expozici (71, event. 83 rel. %). V časovém průběhu je zaznamenán další prohlubující se pokles celkového počtu leukocytů, který osciluje kolem hodnoty 50 rel. % výchozího počtu.

Celkový počet neutrofilních granulocytů

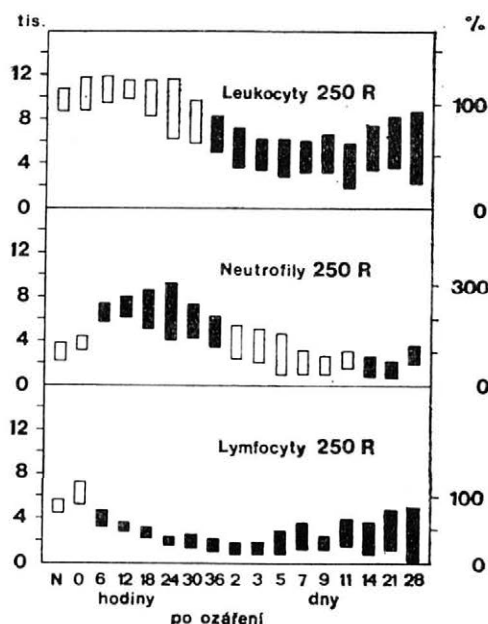
U skupiny ozářené dávkou 450 R je zjistitelná významná neutrofilie již v intervalu šest hodin po ozáření a přetrvávající interval je 18 až 24 hodiny po expozici. Pozorovaná leukocytóza u této skupiny je tedy ve své podstatě neutrofilii. Mezní hodnoty tohoto zvýšení dosahují až 250 % a vracejí se na úroveň výchozích hodnot do 24 hodin po iradiaci. Statistický významný pokles je pozorován u této skupiny od třetího dne cca na 50 % výchozího počtu. Snížení má v dalším rozvoji nemoci z ozáření progresivní charakter a přetrvává až do exitu.

Podobně jsme zaznamenali neutrofiliu i u skupin 150 a 250 R. I zde dochází již šest hodin po ozáření k signifikantnímu vzestupu hodnot s maximem mezi 12. až 18. hodinou po expozici, a to cca na 225 % výchozích hladin. U dávky 250 R je normalizace kolem druhého dne, u dávky 150 R přetrvává neutrofilie až do 5. dne po ozáření. Dále je již pak zřejmá tendence k poklesu neutrofilních granulocytů. Po dávce 250 R je tento trend znatelný od pátého dne a signifikantní od 14. dne, kdy pokles činí v průměru 50 %. Po dávce 150 R je snížení pozvolnější a statisticky významné až 21. den po ozáření.

SKOT



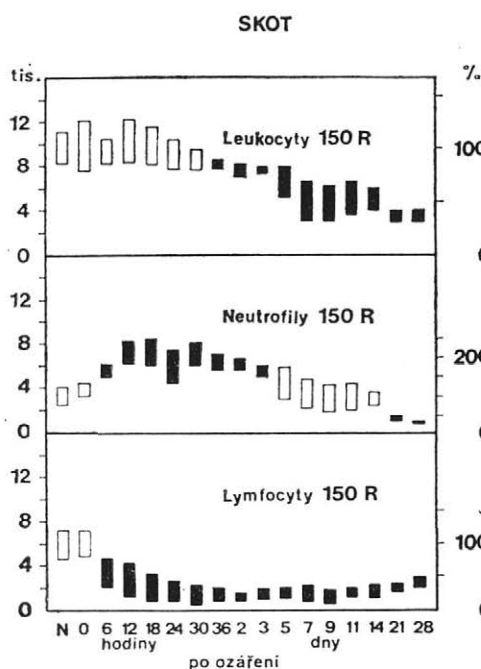
SKOT



1. Dynamika numerických změn tří nejdůležitějších složek bílé krevní řady (plné sloupce = signifikantní, prázdné = ne-signifikantní); dávka ionizujícího záření 450 R

2. Dynamika numerických změn tří nejdůležitějších složek bílé krevní řady (plné sloupce = signifikantní, prázdné = ne-signifikantní); dávka ionizujícího záření 250 R

Celkový počet lymfocytů



3. Dynamika numerických změn tří nejdůležitějších složek bílé krevní řady (plné sloupce = signifikantní, prázdné = nesignifikantní); dávka ionizujícího záření 150 R

Ve všech skupinách je pozorovatelný signifikantní pokles k cca 50% hladině výchozích hodnot po šesti hodinách. Po tomto intervalu se již projevuje závislost na velikosti dávky ionizujícího záření. Markantní pokles až 25 % z výchozích hodnot je po 450 R zjistitelný již 12 hodin po ozáření. Pokles se stále prohlubuje, po 24 hodinách činí 10 až 15 % a udržuje se až do exitu na těchto velmi nízkých hodnotách. U skupiny 250 R je zjistitelný pokles až do 72 hodin s minimem okolo 25 %. Ke konci sledovaného období lze zaznamenat mírný vzestup, i když hodnoty jsou statisticky významně snižené pod fyziologickou hranici. S podobnou situací se setkáváme po dávce 150 R. Pokles trvá pouze do intervalu 48 hodin a dosahuje rovněž 25 %. Pak nastává pozvolný vzestup, trvající celou dobu sledování.

Dynamika poklesu leukocytů, neutrofilních granulocytů a lymfocytů spolu s nespecifickou stressovou neutrofilii po jednotlivých dávkách je přehledně uvedena v grafech na obr. 1, 2 a 3.

DISKUSE

Nespecifická leukocytóza, vyjádřená signifikantní neutrofilii, byla zaznamenána v našich pokusech po dávce 450 R, tj. u dávky nejvyšší. Lehký aj. (1971) se s ní naopak setkali pouze u dávky nejnižší, a to u jednoho prasete. Zajímavý je poznatek Edmondsona a Batchelora (1971), že počáteční neutrofilie je zřetelnější po ozáření gama než po ozáření neutrony.

S neutrofilii v počáteční fázi, ať již doprovází nespecifickou leukocytózu, nebo dále přetrvává, se samozřejmě setkala řada autorů ve svých pracích. Lehký aj. (1971) uvádějí její závislost na dávkách, tj. čím větší dávka záření u prasat, tím vyšší neutrofilie po 48 hodinách. Dienstbier aj. (1966) se zmiňují, že závislost mezi dávkou a absolutní neutrofilii není přímá.

Z našich pokusů vyplývá, že čím větší je dávka, tím je také kratší trvání neutrofilie, ovšem tím vyšší je její stupeň. Těmito poznatkům do jisté míry odpovídají i zkušenosti Rosenfeldovy (1958).

Pokud se týče numerických změn leukocytů specifického charakteru, jedná se samozřejmě o snížení počtu v závislostech na čase i dávce. Naše poznatky, týkající se zejména časného poklesu hodnot leukocytů (po 24 hod.) u dávky nejvyšší (450 R), se do jisté míry shodují s údaji, uváděnými Pospíšilem a Otoupalem (1970) u prasat po přibližně stejné dávce. Jde o pokles k hodnotám okolo 50 %.

Naše pokusy potvrdily, že již ve velmi časných stádiích po expozici reagují lymfocyty poklesem svých počtů. Ve všech třech skupinách se již v prvním intervalu sledování (6. hod.) tento trend projevil, a to takřka stejně, což pro tento interval nekoreluje s dávkou záření, jak uvádí Dienstbier aj. (1966). Snad zde hraje roli druhová radiosenzitivita. V dalším průběhu pak je situace prohlubující se těžké lymfopenie u dávky 450 R jednoznačná a velmi nízké hodnoty jsou trvalé, což odpovídá do jisté míry i poznatkům Rosenfelda (1958), učiněným u telat po dávce 600 R ^{60}Co (cca LD 100/14). S obdobnými poznatky se setkali Schultze aj. (1959) u telat po 150–360 R ^{60}Co (co do rychlého poklesu lymfocytů). K třicátému dni však již shledali návrat k normě, kdežto u našich srovnatelných dávek 150 a 250 R došlo k 28. dni pouze k vzestupu hodnot k 50 % normy.

Nejnižší hodnoty lymfocytů v rámci použitých dávek se projevují cca třetí den, což odpovídá také poznatkům učiněným Brownem (1962) u herefordského skotu (dávky 450–700 R).

I. Situace v intervalech 0–72 hodiny

Intervaly							
	0	6	12	24	36	48	72
Těžká forma nemoci z ozáření — 450 R							
Lymfocyty	6,0	3,0	1,5	1,0	0,5	0,5	0,5
Leukocyty	10,0	12,0	10,0	5,0	3,0	3,0	3,0
Neutrofily	3,0	9,0	8,0	4,0	2,0	2,0	2,0
Středně těžká forma nemoci z ozáření — 250 R							
Lymfocyty	6,0	3,5	3,0	2,0	1,5	1,5	2,0
Leukocyty	10,0	—	—	10,0	7,0	6,0	5,0
Neutrofily	3,0	—	—	6,0	5,0	4,0	3,0
Lehká forma nemoci z ozáření — 150 R							
Lymfocyty	6,0	3,5	3,0	2,0	1,5	1,5	2,0
Leukocyty	10,0	—	—	9,0	8,0	8,0	8,0
Neutrofily	3,0	—	—	7,0	7,0	6,0	6,0

Na závěr je třeba zdůraznit, že je možné provádět v podstatě orientační vyšetření s pouhým stanovením počtů leukocytů a speciální vyšetření (lymfocyty, neutrofilní granulocyty atd.).

Z našich pokusů vyplývá, že pokles leukocytů v intervalu 24 hod. pod 5000 elementů indikuje těžkou formu nemoci z ozáření, kdežto hodnoty nad 5000 poukazují na střední nebo lehkou formu.

Sledujeme-li ve stejném intervalu lymfocyty, pak pokles na 1000 elementů značí těžkou formu, na 2000 střední nebo lehkou formu.

Jestliže bychom chtěli zhodnotit situaci v intervalech 0–72 hodiny, týkající se leukocytů, lymfocytů a neutrofilních granulocytů, pak nám dají odpověď výsledky v tab. I.

Literatura

- ANDERSON, R. E. — DOUGHTY, W. E. — HOWARD, J. L.: Radiation induced lymphopenia. Recovery in thymectomized and splenectomized germ-free mice. *Archs Path.*, 92, 1971, s. 480-483.
- BRAUNSTEINER, H.: Physiologie und Physiopathologie der weißen Blutzellen. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1959.
- BROWN, D.: Clinical observation on cattle exposed to lethal doses of ionizing radiation. *J. Am. vet. med. Ass.*, 140, 1962, s. 1051-1055.
- DIENSTBIER, Z. aj.: Experimentální postiradiační syndrom. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1966.
- EDMONDSON, P. W. — BATCHELOR, A. L.: Acute lethal response of goats and sheeps to bilateral or unilateral whole-body irradiation by gamma-rays and fission neutrons. *Int. J. Radiat. Biol.*, 20, 1971, s. 269-290.
- EISELE, G. R. — BELL, M. C.: Bacteriological and hematological evaluation of cattle exposed to lethal gamma radiation. *Radiat. Res.*, 53, 1973, s. 462-467.
- LEHKÝ, F. aj.: Využití klinických, hematologických a patologických nálezů u prasat celotělově ozářených gama-paprsky pro vypracování třídících schemat. [Závěrečná zpráva.] Vojenský veterinární výzk. ústav, Praha 1971.
- MORCZEK, A.: Hämatologie des akuten Strahlensyndroms. Pathophysiologie, Klinik und Therapie. In: REDETZKY, H. — THIELE, H.: Strahlenschäden und Strahlenhämatologie. Berlin, Volk u. Gesundheit Verl., 1965, s. 107-121.
- OTOUPAL, P. — GAJDOŠÍK, A. — ZÍCHA, B.: Klinické změny u celotělově ozářeného skotu. *Vet. Med. (Praha)*, 20, 1975, č. 12, s. 741-748.
- POSPÍŠIL, J. — OTOUPAL, P.: Acute radiation sickness in pigs and sheep. *Zentbl. VetMed.*, 1970, č. 11, s. 9-15.
- ROSENFELD, G.: Effects of a single dose of total body Co^{60} gamma irradiation on calves. *Radiat. Res.*, 1958, č. 9, s. 346-357.
- SASSER, L. B. — BELL, M. C. — CROSS, F. H.: Hematologic response of sheep and cattle to whole body gamma irradiation and gastrointestinal and skin beta irradiation. *Am. J. vet. Res.*, 34, 1973, s. 1555-1560.
- SCHULTZE, M. O. — PERMAN, V. — MIXUNO, N. S. — BATES, F. W. — SAUTTER, J. H. — ISBIN, H. S. — LOKEN, M. K.: Effects of gamma radiation on calves. *Radiat. Res.*, 1958, č. 11, s. 399-408.

Došlo dne 28. 5. 1975

ЯНЕЧЕК Й., ЗИХА Б., ОТОУПАЛ П., КАЛОУСОВА В., ШВАНТЕРОВА В. (Военно-ветеринарный исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Динамика ранних изменений в белом компоненте периферической крови облученного крупного рогатого скота по всему телу. *Vet. Med. (Praha)* 20 (12) : 733-740, 1975.

Были получены некоторые новые сведения о динамике изменения белого компонента периферической крови, а именно в ранних интервалах у трех клинически разных доз ионизирующего облучения. У максимальной дозы был отмечен ранний неспецифический лейкоцитоз лишь 6 часов спустя после экспозиции. Значимая нейтрофилия появлялась у всех трех доз после 6 часа. У максимальной дозы она имела самые высокие значения и длилась короче всего, у минимальной дозы — наоборот. У максимальной дозы лейкопения наступает после 24 часов, у остальных доз — даже после 36 часов. Лимфопения наблюдается уже после 6 часов, однако степень важности согласно дозам проявляется только после 12 часов. Лейкопения и лимфопения у всех трех групп носят постоянный характер. Было подтверждено, что изменения в белом компоненте крови являются наиболее типической реакцией на экспозицию ионизирующего облучения, а также определены ориентировочные

и специальные критерии оценки важности формы облучения на основе количественных изменений лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофильных гранулоцитов спустя 72 часа после экспозиции.

диагностика повреждения вызванного ионизирующим излучением; чувствительность к облучению; лимфопения; нейтрофилия; неспецифический лейкоз; крупный рогатый скот

JANEČEK J., ZÍCHA B., OTOUPAL P., KALOUSOVÁ V., ŠVANTNEROVÁ V. (Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia). *Dynamic of Early Changes in the White Component of the Peripheral Blood of Whole-Body Irradiated Cattle*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 733-740, 1975.

Some new findings regarding the dynamics of the changes in the white component of peripheral blood, particularly at early intervals in the case of three clinically differing doses of ionizing radiation were obtained. At the highest dose early nonspecific leucocytosis was recorded only six hours after the exposure. Significant neutrophilia occurred in the case of all three doses beginning from the sixth hour. With the highest dose it had the shortest duration and highest values, and at the smallest dose the opposite was the case. In the case of the highest dose leucopenia sets in after 24 hours, and in the case of the other doses not until after 36 hours. Lymphopenia appears already after 6 hours, the consequences according to the doses, however, manifest themselves only after 12 hours. In all three groups leucopenia and lymphopenia have a constant character. It was confirmed that the changes in the white blood component were the most typical response to the exposure to ionizing radiation, and orientation and special criteria have been found for the estimation of the consequences of the forms of irradiation on the basis of numerical changes of leucocytes, lymphocytes, and neutrophilic granulocytes within 72 hours after the exposure.

diagnostics of damage caused by ionizing radiation; radiosensitivity; lymphopenia; neutrophilia; non-specific leucosis; cattle

JANEČEK J., ZÍCHA B., OTOUPAL P., KALOUSOVÁ V., ŠVANTNEROVÁ V. (Militärisches Veterinärforschungsinstitut, Praha, Tschechoslowakei). *Dynamik frühzeitigen Veränderungen der weißen Komponente des peripheren Blutes von ganz körperbestrahlten Rindern*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 733-740, 1975.

Es wurden einige neue Erkenntnisse über die Dynamik der Veränderungen der weißen Komponente des peripheren Blutes, und zwar insbesondere in den frühen Intervallen bei drei klinisch unterschiedlichen Dosen der ionisierenden Strahlung gewonnen. Bei der höchsten Dosis wurde eine frühe nichtspezifische Leukozytose in nur sechs Stunden nach der Exposition verzeichnet. Bei allen drei Dosen stellte sich ab 6. Stunde eine signifikante Neutrophilie ein. Bei der höchsten Dosis dauerte sie am kürzesten und wies Höchstwerte auf, bei der kleinsten Dosis war es umgekehrt. Bei der höchsten Dosis kommt es zur Leukopenie nach 24 Stunden, bei den übrigen Dosen erst nach 36 Stunden. Die Lymphopenie stellt sich bereits nach 6 Stunden ein, der Wirkungsgrad je nach den Dosen zeigt sich jedoch erst nach 12 Stunden. Die Leukopenie und die Lymphopenie weisen bei allen drei Gruppen einen andauernden Charakter auf. Es wurde nachgewiesen, daß die Veränderungen der weißen Blutkomponente die typischste Reaktion auf die Exposition gegenüber ionisierenden Strahlungen ist und es wurden Orientations- und spezielle Kriterien festgesetzt zur Beurteilung der Bedeutsamkeit der Bestrahlungsform auf Grund numerischer Veränderungen der Leukozyten, Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten innerhalb von 72 Stunden nach der Exposition.

Diagnostik der Beschädigung durch ionisierende Strahlung; Strahlenempfindlichkeit; Lymphopenie; Neutrophilie; nicht-spezifische Leukose; Rindvieh

Adresa autorů:

MVDr. J. Janeček, CSc., MVDr. et RNDr. B. Zícha, CSc., MVDr. P. Otoupal, V. Kalousová, V. Švantnerová, Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha

KLINICKÉ ZMĚNY U CELOTĚLOVĚ OZÁŘENÉHO SKOTU

P. Otoupal, A. Gajdošík, B. Zícha

Vojenský výzkumný veterinární ústav, Praha

OTOUPAL P., GAJDOŠÍK A., ZÍCHA B. *Klinické změny u celotělově ozářeného skotu.* Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 741-748, 1975.

Byly sledovány klinické projevy akutní nemoci z ozáření na skupinách jaloviček ve věku od sedmi do devíti měsíců, ozářených vícebodovým prostorovým ^{60}Co zdrojem dávkami 3,7, 2,0 a 1,2 J kg⁻¹ (450, 250 a 150 R). Tyto dávky vyvolaly různý stupeň klinických projevů, který umožnil rozlišení těžké, střední a lehké formy nemoci z ozáření. Jednotlivé formy se liší intenzitou klinických projevů, dobou přežití a především délkou latentního stadia. Těžká forma měla vesměs letální průběh s exitem mezi 15. až 19. dnem, u střední formy se doba přežití zvyšuje na 25. až 28. den, lehká forma byla bez klinických projevů.

akutní nemoc z ozáření; klinické projevy; hemoragická diatéza; skot

Klinický náález u skotu zasaženého vyššími dávkami ionizujícího záření je i v současné době často nezastupitelným podkladem pro stanovení prognózy průběhu onemocnění. I pro případné podmínky hromadného zasažení hospodářských zvířat je nutné vždy vedle údajů dozimetrických, výsledků hematologického vyšetření a stanovení deoxycytidinových látek v moči přihlídnout k základním údajům o klinickém průběhu onemocnění.

Přestože se s použitím hospodářských zvířat v radiobiologických studiích setkáváme poměrně často, zprávy o klinickém průběhu postiradiačního poškození u skotu po celotělové expozici gama paprsky jsou v původních pracích ojedinělé. Tato skutečnost vypývá mimo jiné z toho, že zajištění relativně homogenního celotělového ozáření takto rozměrných objektů je spojeno se zvýšenými technickými nároky. Dostupné publikované práce zabývající se touto problematikou (Brown, 1962; Rosenfeld, 1958; Schultze aj., 1959) mají značně rozdílné přístupy v metodice prováděného ozařování i ve stáří použitých zvířat a jejich výsledky jsou dosti obtížně navzájem porovnatelné. Z hlediska možné extrapolace výsledků pozorování průběhu onemocnění u jiných druhů hospodářských zvířat celotělově ozářených je nutné vzít v úvahu, že klinické projevy akutního postiradiačního poškození mají obdobně i jako další hodnotící kritéria kromě základních společných rysů celou řadu druhotných rozdílů (Fliedner, 1969).

Vzhledem k těmto skutečnostem jsme v rámci širší studie postiradiačního poškození u skotu přistoupili k zhodnocení některých výsledků klinického vyšetření.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÁ ZVÍŘATA

Pracovali jsme se třemi šestičlennými skupinami mladého skotu – jalovičkami kříženkami dánské červinky a červenostrakatého skotu. Zvířata byla ve stáří 7 až 9 měsíců, o hmotnosti 180 až 220 kg a páchá z jednoho chovu. Před zařazením do pokusu byla opakovaně hematologicky vyšetřena pro vyloučení podezření z onemocnění leukózou. V průběhu pokusu bylo podáváno zvířatům peletované kombinované krmivo, stejně jako v průběhu předchozího odchovu. Klinické sledování bylo prováděno po dobu 30 dnů, pokud ozářená zvířata přežívala.

OZAŘOVACÍ PODMÍNKY A DOZIMETRIE

Skupiny jaloviček byly celotělově ozářeny vícebodovým prostorovým ^{60}Co zdrojem dávkami 450, 250 a 150 R. Použitá expoziční rychlost v průběhu celého pokusu $23,7 \text{ R min}^{-1}$ ve středu ozařovací kobky byla stanovena pomocí přesné ionizační komůrky Victoreen, typ 621-570 A. Nehomogenita vymezeného prostoru kobky, kam byla umísťována zvířata k ozáření, nepřevyšovala $\pm 20 \%$. K dozimetrii ozařovacího prostoru, k upřesnění rozložení exponované dávky na povrch každého zvířete a k orientačnímu stanovení absorbované dávky záření byly použity individuální diagnostické dozimetry (VAS 220 – termoluminiscentní dozimetr výroby NDR a krystalový fotovodivostní dozimetr československé výroby). Pokusná zvířata i jejich kadavery pro dozimetrické práce byly ozářovány ve fixační kleci, čímž byly zaručeny stejné podmínky při expozici.

VÝSLEDKY

ORIENTAČNÍ STANOVENÍ VELIKOSTI ABSORBOVANÉ DÁVKY

Ve smyslu doporučení, které vydala pro pracovníky radiobiologie Čs. lékařská společnost J. E. Purkyně (Neruda, Prouza 1970), bylo provedeno orientační stanovení stupně absorpce, resp. distribuce dávky v těle zvířete. Při ozáření individuálních diagnostických dozimetrů umístěných na povrchu a uvnitř kadaveru jaloviček, exponovaných stejným způsobem jako živé objekty, byly získány hodnoty, jejichž rozbor přesahuje rámec této práce a je předmětem jiného sdělení. Na tomto místě uvádíme, že dozimetry umístěnými na hilu sleziny, jednoho z kritických orgánů, byla určena velikost konverzního faktoru (Novotný aj., 1972). Tato činí 0,82 a velikost absorbované dávky u jednotlivých skupin zvířat lze určit takto:

1. skupina 450 R = 369 rad = v jednotkách SI $3,7 \text{ J kg}^{-1}$
2. skupina 250 R = 205 rad = v jednotkách SI $2,0 \text{ J kg}^{-1}$
3. skupina 150 R = 123 rad = v jednotkách SI $1,2 \text{ J kg}^{-1}$

Pokud se tedy dále v textu uvádějí pro jednoduchost a možnost porovnání s dřívějšími pracemi hodnoty expozice v rentgenech, rozumí se tím absorbované dávky ve shora uvedených hodnotách.

PŘEŽÍVÁNÍ A PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ

Podle zásad obvyklých v radiobiologii pro sledování a hodnocení průběhu nemoci z ozáření rozdělili jsme i v naší práci průběh onemocnění do čtyř typických fází.

Skupina	Přežilo zvířat	Doba přežití ve dnech	Délka fáze onemocnění			
			1.	2.	3.	4.
1. 450 R	0	15–19	1–2	6–8	4–9	2–3
2. 250 R	2	25–27 (30)	1	13–17	4–6	4–5
3. 150 R	6	(30)		0,5 bez klinických příznaků		

KLINICKÉ NÁLEZY

Zde uvádíme nejvýraznější klinicky zjiřitelné změny, společné pro první a druhou skupinu, kde došlo k rozvoji onemocnění a hynutí zvířat do 30 dnů. Dále příznaky, jimiž se průběh onemocnění u jednotlivých skupin lišil a jež mohou mít význam pro stanovení prognózy.

První stadium nemoci z ozáření – prodromální fáze

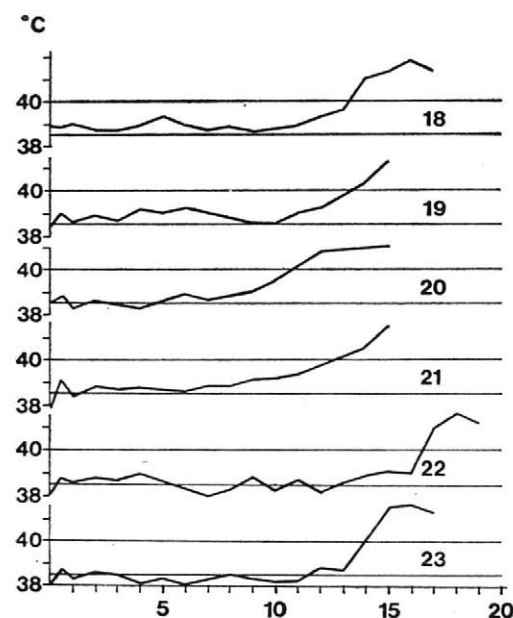
Sledované stadium počíná u ozářených zvířat bezprostředně po jejich vyzdvižení z ozařovací kobky a trvá ve většině symptomů u obou skupin zhruba 24 hodiny. Bezprostředně po ozáření dochází k mírnému zvýšení tělesné teploty o 0,5 až 1,2 °C. Pravidelně byla pozorována polyurie, slzení, sérozní výtok z mulce a nastříknutí spojivkových cév. U většiny zvířat byl pozorován zvýšený příjem tekutin, avšak chuť k přijímání potravy byla výrazně snížena až do 12 hodin po expozici. Všechna zvířata před ozářením byla velmi živého temperamentu, ihned po ozáření je však pozorována mírná až výrazná apatie zvířat vůči okolí a snížení pohyblivosti v kotci. Vyrovnání hodnot triasu nastává po 12 hodinách, nejpozději do 24 hodin po ozáření. Nejdéle se normalizuje motorická činnost v batoru, která u skupiny ozářené dávkou 450 R je snížena až do třetího dne. Uvedené změny byly výraznější nebo se pomaleji upravovaly u zvířat exponovaných vyšší dávkou.

Druhé stadium – latentní fáze

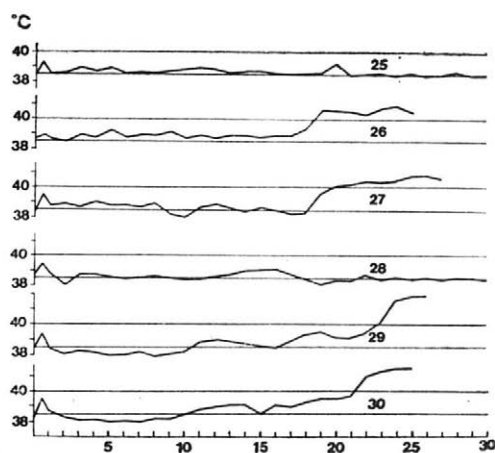
Toto stadium je charakterizováno nespecifickými a málo výraznými klinickými příznaky. Jeho délka je nepřímě závislá na velikosti exponované dávky. Hodnoty základních fyziologických funkcí prakticky nevybočují z rozmezí obvyklého pro zdravá zvířata. U první skupiny, ozářené nejvyšší dávkou, docházelo k mírným výkyvům v příjmu potravy a bylo rovněž pozorováno snížení pohyblivosti zvířat a jejich reakce na zevní podněty.

Třetí stadium – fáze vystupňovaných klinických příznaků

Klinicky manifestní příznaky nastupují dříve u skupiny ozářené vyšší dávkou, přičemž délka tohoto období trvá u většiny zvířat zhruba stejnou dobu. Výjimku tvoří jedinci, kteří později přežívají sledované období (ozáření dávkou 250 R). Klinické příznaky ke konci třetí fáze onemocnění u těchto zvířat slábnou a onemocnění přechází ve stadium rekonvalescence. Rozvoj onemocnění je provázen vzestupem základních hodnot – triasu, zejména teploty (obr. 1 a 2), které se zvyšují ve fyziologickém rozsahu, později tento rozsah překračují.



1. Teplotní křivky skupiny jalovic ozářených celotělovou dávkou ^{60}Co (absorbovaná dávka $3,7 \text{ J kg}^{-1}$)



2. Teplotní křivky skupiny jalovic ozářených celotělovou dávkou ^{60}Co (absorbovaná dávka $2,0 \text{ J kg}^{-1}$); jalovice č. 25 a 28 přežívají sledovaný interval 30 dnů po expozici

Viditelné sliznice: spojivka oční byla zpočátku bledě růžová, později s nastříknutými cévami se sklonem k anemizaci a s ojedinělými drobnými hemoragiemi. U některých zvířat byl zjišťován sérózní až séromucinózní výtok z otvorů nosních, který u jedinců exponovaných dávkou 250 R byl krvavě zbarven.

Kůže a srst: u některých zvířat docházelo k snižování elasticity kůže, srst, nejčastěji na hrudníku a ve slabinách, se stávala nepřiléhavou a snadno se uvolňovala v chomáčcích.

Dýchací aparát: u některých jedinců dochází k zostřenému vezikulárnímu dýchání, jež se rozšiřuje z kaudálních partií na celé poslechové pole plicní. Dýchání začíná být ztížené, u některých zvířat s vlhkým kašlem. Činnost srdeční je pravidelná, u některých zvířat se zvýrazňuje srdeční úder a ozvy. Puls je pravidelný, dobře hmatatelný.

Trávicí aparát: na dásních se objevují eroze, ojedinělé hemoragie také na spodní ploše a na postranních plochách jazyka. Příjem potravy se začíná omezovat a většina zvířat první skupiny přijímá větší množství tekutin. Bachorová činnost a přezvykování jsou zpomalené. Ozvy bachorových rotací jsou slaběji slyšitelné, co do délky nepravidelné, neoddělené, s dlouhými pauzami. Peristaltika střevní je zachována, trus je řidší, někdy až vodnatý.

Pohybový a nervový aparát: u zvířat s progresivním rozvojem onemocnění se projevují poruchy lokomoce, zvířata vstávají až po několikerém vybidnutí, je pozorována jejich snížená pohyblivost v kotci s častým přešlapováním z nohy na nohu. U některých zvířat se již v tomto období projevuje vratkost pánevních končetin, zejména ke konci sledované fáze. Je zjišťována palpační bolestivost kloubů, zejména patních, při celkově snížené povrchové citlivosti.

Čtvrté stadium – terminální fáze onemocnění

Období je charakterizováno u zvířat s nepříznivou prognózou rozvojem alterace většiny klinicky posuzovaných životně důležitých funkcí. U zvířat ozářených nižší dávkou (150 R) trvá toto období o jeden až dva dny déle a je provázeno výraznějšími projevy hemoragické diatézy.

Hodnoty tělesné teploty se pohybují kolem 41,5 °C i výše. Vysilující horečky jsou známkou prognosticky zcela nepříznivou a trvají prakticky až do nástupu agonie, která nastupuje do dvou až tří dnů. Frekvence pulsů, která poměrně dlouho setrvala na stálých hodnotách, prudce vzrůstá a stejně jak frekvence dechová překračuje fyziologické hranice v preagonálním stadiu.

V popisované fázi onemocnění dochází k rozvoji hemoragické diatézy, která se projevuje hemoragiemi na spojivce oční, sliznici dutiny ústní, výtokem krve z nosních otvorů, nálezem krve ve stolici a v některých případech po dávce 250 R i v moči. Prohlubuje se patologický nález na respiračním aparátu s typickým rozkročeným postojem a dalšími projevy obtížného bolestivého dýchání a vlhkého kašle. Příjem krmiva je omezen až zcela ustává, tekutiny jsou přijímány ve větším množství až do ulehnutí. Poruchy bachorové činnosti se prohlubují, až ke konci období tato činnost zcela vymizí.

Pohyblivost zvířat je zcela ztížena, zvířata většinou leží a pokud jsou přinucena vstát, je pozorována vratkost pánevních končetin, pohybují se minimálně, se známkami bolesti kloubů. Senzorium je výrazně narušené a dochází k hluboké apatii až somnolenci. U skupiny 250 R jsme pozorovali svalové třesy skupin stehenního a páteřního svalstva a plavací pohyby končetin.

Zvířata ozářená dávkou 150 R přežívají období 30 dnů bez výraznějších klinických změn svého zdravotního stavu. U této skupiny se nevyvinulo onemocnění v typické formě, jak jsem je charakterizovali u předchozích dvou skupin. Pokud se vyskytly odchylky od stavu před ozářením, byly koncentrovány do počátečního postexpozičního období. Tyto změny spočívaly v mírném zvýšení tělesné teploty (0,5–0,9 °C), frekvence pulsu a dechu, které však nepřekročily fyziologický rozsah a nejpozději do 24 hodin po expozici se upravily. Po ozáření byl dále pozorován mírný sérozní výtok z otvorů nosních a slzení. Přestože zvířata přijímala potravu

již krátce po expozici, došlo k mírnému zpomalení bachorové činnosti po dobu prvních dvou dnů.

Snad jediným závažnějším nálezem dalšího období byla mírná anemizace spojivek, pozorovaná ve druhé dekádě sledovaného období; trvala u jednotlivých zvířat čtyři až sedm dní a vymizela do konce sledovaného období. Všechny další vyšetřované systémy nevykazovaly klinicky zjiitelné změny. Téměř u všech zvířat skupiny bylo zjištěno, že prvních sedm dní sledovaného postexpozičního období stagnoval tělesný růst; v dalším průběhu však opět dochází k přírůstkům hmotnosti, které plně odpovídají průměrným přírůstkům odpovídajícím technologii chovu i příslušné hmotnostní kategorii.

DISKUSE

Radiobiologické studie prováděné na velkých zvířatech, zejména skotu, se setkávají především s problémem homogenního celotělového ozáření objektu. Rovněž v této práci jsme byli nuceni řešit tuto otázku a z technických důvodů jsme zvolili mladý skot o maximální hmotnosti 220 kg, u kterého parametry ozařovacího zdroje zajišťují poměrně homogenní celotělové ozáření. Jednalo se o mladý skot ve věku od sedmi do devíti měsíců, u kterého lze předpokládat vyšší radiosenzitivitu než u dospělých zvířat. Byli jsme si této skutečnosti vědomi. Hodnoty bílé krevní složky v periferní krvi ovšem poukazují na relativně dospělejší zvířata, (Wirth, 1950), v žádném případě ne juvenilní, a domnívali jsme se proto, že faktor zvýšené radiosenzitivity nebude v tomto souboru podstatný.

Pomocí individuálních diagnostických dozimetrů, rozmístěných u ozařovaných zvířat na různých lokalitách povrchu těla, jsme stanovili, že ozáření je homogenní, v toleranci $\pm 20\%$, což jsme považovali za vyhovující.

Biologickou účinnost zdroje při expozici jednotlivých skupin zvířat ozářených různými dávkami je možné posoudit podle doby přežití. Na základě průběhu onemocnění a hynutí zvířat v jednotlivých skupinách lze předpokládat, že absorbovaná dávka 2 J kg^{-1} , také deklarovaná jako 250 R, se blíží hodnotě LD 50/30 a dávku $3,7 \text{ J kg}^{-1}$ (450 R) je možné považovat za LD 100/30. Z klinického hlediska tyto dávky vyvolávají těžkou a střední formu akutní nemoci z ozáření.

Z průběhu jednotlivých fází nemoci z ozáření a z nástupu, charakteru a trvání jednotlivých symptomů lze vyvodit pro prognózu tyto následující klinické podklady.

Délka prodromální fáze se s velikostí absorbované dávky prodlužuje. Nejtypičtější příznaky této fáze jsou přechodné nechutenství, polyurie, serózní výtok ze spojivek, z nosních otvorů a slinotok a mírná celková apatie. Relativně nejdéle je pozorována zpomalená činnost bachoru.

Závažnost celkového postiradiačního poškození dobře odpovídá délce trvání latentního stadia. U těžké formy nemoci z ozáření činí v průměru sedm dnů, u střední formy se prodlužuje až na 14 dnů i déle, přičemž pravděpodobnost přežití zvířat lze odhadnout v druhém týdnu latentního stadia. U lehké formy nelze prakticky rozlišit přechod latentní a klinicky

выступноvané fáze a zvířata vesměs přežívají sledovaný interval bez výraznějších klinických změn.

Stadium vystupňovaných klinických příznaků trvá zpravidla do jednoho týdne a klinicky se zjišťuje nejdříve alterace respiračního aparátu a zpomalená činnost předžaludků s výkyvy přijímání potravy. Následuje anemizace sliznic počínajícími projevy hemoragické diatézy a období končí nástupem vysokých teplot. Intenzita projevů hemoragické diatézy u jedinců s delší dobou přežití u námi použité střední dávky byla zpravidla mnohem výraznější. Zřejmě delší doba přežití umožňuje rozvoj alterace stěny cévní a poruch hemokoagulace. Stupeň rozvoje hemoragické diatézy, zejména na kůži a viditelných sliznicích, rovněž tak nález krve v moči a výkalech je méně výrazný než u jiných druhů hospodářských zvířat, speciálně u prasete (Pospíšil, Otoupal, 1970).

Brown (1962) pozoroval výrazný pokles hmotnosti u ozářeného skotu. V našich experimentech u obou skupin ozářených vyššími dávkami činila ztráta hmotnosti v průměru 10 %. Po dávce 150 R jsme zaznamenali stagnaci přírůstku hmotnosti pouze v prvním týdnu po expozici.

Literatura

BROWN, D.: Clinical observation on cattle exposed to lethal doses of ionizing radiation. J. Am. vet. med. Ass., 140, 1962, s. 1051-1055.

FLIEDNER, T. M.: A cytokinetic comparison of hematological consequences of radiation exposure in different mammalian species. In: BOND, V. P. — TSUTOMU SUGAHARA: Comparative cellular and species radiosensitivity. Tokyo, Igaku Shoin Ltd. 1969, s. 89-101.

NERUDA, O. — PROUZA, Z.: Specifikace ozařování laboratorních zvířat. Publikace pro vnitřní potřebu VVVÚ. Praha 1965.

NOVOTNÝ, J. — OTOUPAL, P. — MÍKA, J. — HRUŠOVSKÝ, J.: Dose measurement in ^{60}Co irradiated pigs. Strahlentherapie, 144, 1972, s. 430-434.

POSPÍŠIL, J. — OTOUPAL, P.: Acute radiation sickness in pigs and sheep. Beiheft 11, Zentbl. VetMed., 1970, s. 9-15.

ROSENFELD, D.: Effects of a single lethal dose of total body ^{60}Co gamma irradiation on calves. Radiat. Res., 1958, č. 9, s. 346-357.

SCHULTZE, M. O. — PERMAN, V. — MIXUNO, M. S. — BATES, F. W. — SAUTTER, J. H. — ISBIN, H. S. — LOKEN, M. K.: Effects of gamma radiation on calves. Radiat. Res., 1959, č. 11, s. 399-408.

WIRTH, D.: Grundlagen einer klinischen Hämatologie der Haustiere. Wien, Urban & Schwarzenberg 1950.

Došlo dne 28. 5. 1975

ОТОУПАЛ П., ГАЙДОШИК А., ЗИХА В. (Военно-ветеринарный исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Клинические изменения у облученного по всему телу крупного рогатого скота. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 741-748, 1975.

Изучались клинические проявления острой лучевой болезни у яловек в возрасте с 7 по 9 месяцев, облученных многоточным пространственным ^{60}Co источником дозами 3,7, 2,0 и 1,2 дж/кг (450, 250 и 150 Р). Эти дозы вызвали разную степень клинических явлений, которая позволила различить тяжелую, среднюю и легкую формы лучевой болезни. Отдельные формы отличаются интенсивностью клинических проявлений, длительностью переживания и прежде всего длительностью скрытого периода (стадии). Тяжелая форма, как правило, носила смертельный исход между 15 и 19 днями, у средней формы время переживания продлевается до 25—28 дней, легкая форма проходила без значительных клинических проявлений.

лучевая болезнь; клинические проявления; геморрагический диатез; крупный рогатый скот

OTOUPAL P., GAJDOŠÍK A., ZÍCHA B. (Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia). *Clinical Changes in Whole-Body Irradiated Cattle*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 741-748, 1975.

Clinical manifestations of an acute radiation sickness in groups of heifers of the age of seven to nine months, irradiated with a multipoint spatial ^{60}Co source with the doses of 3.7, 2.0, and 1.2 J per kg^{-1} (450, 250, and 150 R) were studied. Those doses evoked different stages of clinical manifestations, which made it possible to differentiate severe, medium, and light forms of the radiation sickness. The different forms vary with the intensity of the clinical manifestations, with the length of survival, and, above all, with the length of latent stage. The severe form had mostly a lethal course with the exit between the 15th to 19th day, in the case of the medium form the length of survival increases to the 25th to 28th day, and the light form showed no significant clinical manifestations.

acute radiation sickness; clinical manifestations; hemorrhagic diathesis; cattle

OTOUPAL P., GAJDOŠÍK A., ZÍCHA B. (Militärisches Veterinärforschungsinstitut, Praha, Tschechoslowakei). *Klinische Veränderungen bei am ganzen Körper bestrahlten Rindern*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 741-748, 1975.

Es wurden klinische Symptome einer akuten Erkrankung nach Bestrahlung bei Gruppen von Färsen im Alter von 7 bis 9 Monaten untersucht, die mit Dosen von 3,7, 2,0 und 1,2 E kg^{-1} (450, 250 und 150 R) einer Mehrpunkte-Raumquelle von ^{60}Co bestrahlt worden waren. Diese Dosen lösten einen unterschiedlichen Grad klinischer Manifestationen aus, der die Unterscheidung einer schweren, mittelschweren und leichten Form der Bestrahlungskrankheit ermöglichte. Die einzelnen Formen unterscheiden sich untereinander durch die Intensität der klinischen Manifestationen, die Überlebensdauer und vor allem durch die Länge des latenten Stadiums. Die schwere Form hatte durchwegs einen letalen Verlauf mit Exitus zwischen dem 15. und 19. Tag, bei der mittelschweren Form erhöht sich die Überlebenszeitdauer auf 25 bis 28 Tage, während die leichte Form ohne bedeutsame klinische Manifestationen war.

akute Strahlenkrankheit; klinische Manifestationen; hämorrhagische Diathese; Rind

Adresa autorů:

MVDr. P. Otoupal, A. Gajdošík, MVDr. et RNDr. B. Zícha, CSc., Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha

PATOMORFOLOGICKÉ NÁLEZY U OZÁŘENÉHO SKOTU

P. Otoupal, A. Gajdošík, B. Zícha

Vojenský výzkumný veterinární ústav, Praha

OTOUPAL P., GAJDOŠÍK A., ZÍCHA B. *Patomorfologické nálezy u ozářeného skotu*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 749-754, 1975.

Byl popsán nález u celotělově ozářeného mladého skotu exponovaného ^{60}Co dávkami 3,7 a 2,0 J kg⁻¹ (370 a 200 rad). Hlavním obrazem je hemoragická diatéza lokalizovaná především v trvale mechanicky činných orgánech a partiích kosterní svaloviny. Stupeň regenerace lymfoidní tkáně byl závislý na době přežití a velikosti absorbované dávky.

nemoc z ozáření; skot; patomorfologický nález; hemoragická diatéza

V patomorfologickém obrazu akutní nemoci z ozáření po zevní expozici gama paprsky u většiny vyšších savců a zejména u hospodářských zvířat dominuje hemoragická diatéza jako hlavní a charakteristický nález. Výsledky patomorfologického vyšetření u ozářených malých přežvýkavců, jako koz a ovcí, byly popsány (Tullis, Warren, 1947, Jegorov, Kamalov, 1965, Edmonson, Batchelor, 1966, aj.). První zprávy o patoanatomickém vyšetření ozářeného skotu publikovali Rosenfeld (1958) a Schultze aj. (1958).

Vyhodnocením sekčních nálezů malých a velkých přežvýkavců lze konstatovat, že kromě jednotlivých hemoragické diatézy jsou pozorovány některé další orgánové dystrofické a regresivní změny, odlišné u obou skupin. V předběžném sdělení (Otoupal aj., 1973) jsme upozornili na tyto difference a v této práci uvádíme výsledky patomorfologického vyšetření dvou skupin mladého skotu ozářeného různými dávkami.

MATERIÁL A METODY

K patomorfologickému vyšetření jsme měli k dispozici 10 kadaverů mladého skotu (jalovičky ve věku sedm až devět měsíců), uhynulého na nemoc z ozáření. Zvířata byla celotělově ozářena gama paprsky ^{60}Co dávkou 450 R, což představuje 3,7 J kg⁻¹ (370 rad – hodnota skutečně absorbované dávky) – (6 kusů) a dávkou 250 R – 2 J kg⁻¹ (200 rad) – (4 kusy). Ozařovací podmínky a klinický průběh onemocnění jsou popsány v jiné práci (Otoupal aj., 1975).

Kromě sekčního vyšetření, při kterém byl zhodnocen především stupeň rozvoje a lokalizace hemoragické diatézy, bylo provedeno patohistologické vyšetření, zaměřené především na zjištění stupně regenerace lymfoidní tkáně vybraných mízních uzlin a sleziny.

VÝSLEDKY

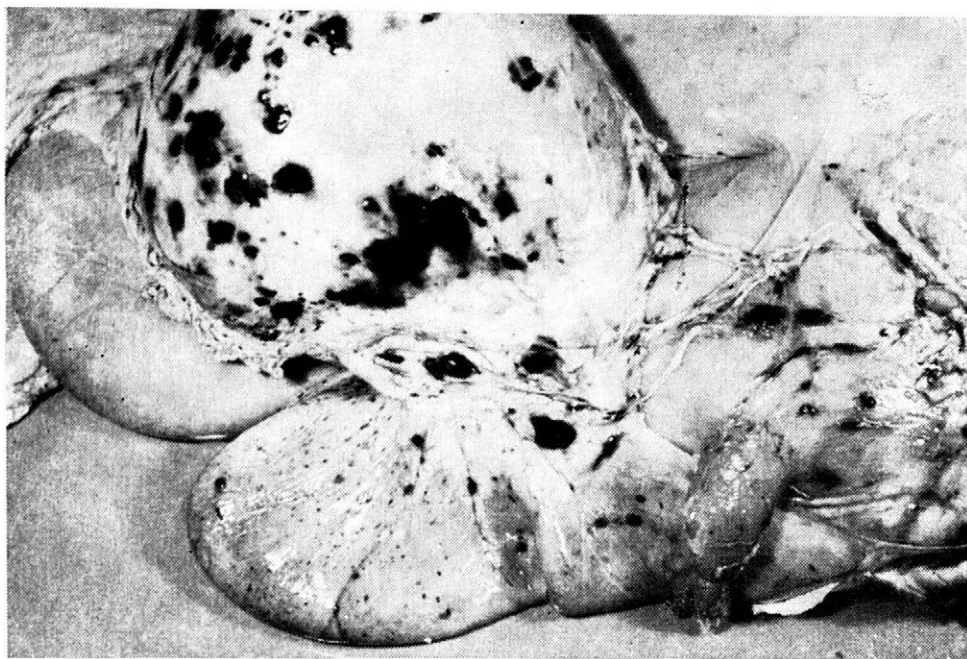
Za základ pro popis typických nálezů je vzata skupina zvířat ozářených dávkou 450 R, protože ve většině případů je charakter změn shodný. Pokud se vyskytly u jedinců skupiny ozářené dávkou 250 R odchylky, bude na ně v textu upozorněno. Všechna pitvaná zvířata byla v dobrém výživném stavu a byla pitvána bezprostředně nebo krátce po exitu.

Při zevním ohledání bylo konstatováno poměrně pomaleji nastupující posmrtné ztuhnutí, snížená elasticita kůže. Srst byla matná, nepřiléhavá, snadno se v celých chomáčcích uvolňovala. U skupiny ozářené 250 R docházelo u většiny zvířat k výraznějšímu prořídnutí srsti dorzálně na krku a na hřbetě v krajině kosti křížové. Viditelné sliznice byly u většiny zvířat anemické, což bylo zvláště patrné u skupiny zvířat ozářených nižší dávkou. Hemoragie se objevovaly na dásních a na spojivce, zejména třetího víčka. Z nosních otvorů vytékal sérózně mucinózní výtok, často s příměsí krve. U skupiny zvířat ozářených nižší dávkou byla kromě intenzivního krvácení sliznice nosních otvorů pokryta pablánami a na sliznici mulce byly zjišťovány eroze. Po stažení kůže byl v podkoží nalézán kromě silně naplněných podkožních cév také edém, často rosolovité konzistence, doprovázený krvácením s lokalizací v mezisaničích, v krajině slinné žlázy a v okolí kloubů. Podkožní hemoragie měly různý charakter a lokalizaci, od drobných tečkovitých a čárkovitých, až po rozsáhlejší krevní výlevy, zejména na ventrální ploše krku a na rozměrných plochách laterálních částí pánevních končetin. Posledně uvedené subkutánní krevní výlevy na trupu byly obvyklé zejména na té straně, na které zvíře v terminální fázi onemocnění leželo. U skupiny zvířat exponovaných 250 R měly takovéto hemoragie až charakter infarzace vrchních i hlubších vrstev svalových.

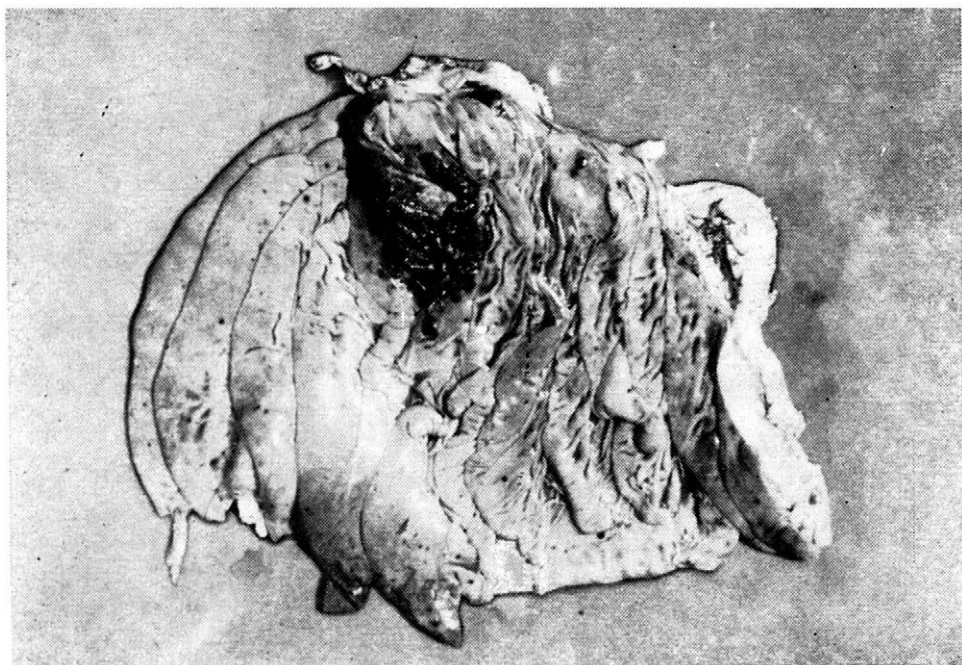
Podkožní i regionální uzliny, uložené hlouběji ve svalovině, byly zvětšené, s hemoragiemi, až hemoragicky prosáklé analogicky v uvedených lokalitách s rozsáhlými nebo četnými krevními výlevy. Je však nutné uvést, že kromě takto změněných mízních uzlin byly rovněž nalézány takové, u nichž hemoragie nebyly makroskopicky zřetelné a ani jejich edém nebyl nijak výrazný.

Při otevření dutiny hrudní bylo nacházeno menší množství zakalené tekutiny, někdy narůžovělé až krvavě zbarvené. Hemoragie lokalizované pod pleurou kostální v mezižeberních prostorech v kranálních partiích hrudníku a na bránici měly různou velikost a tvar. Na bránici byly téměř pravidelně čárkovité.

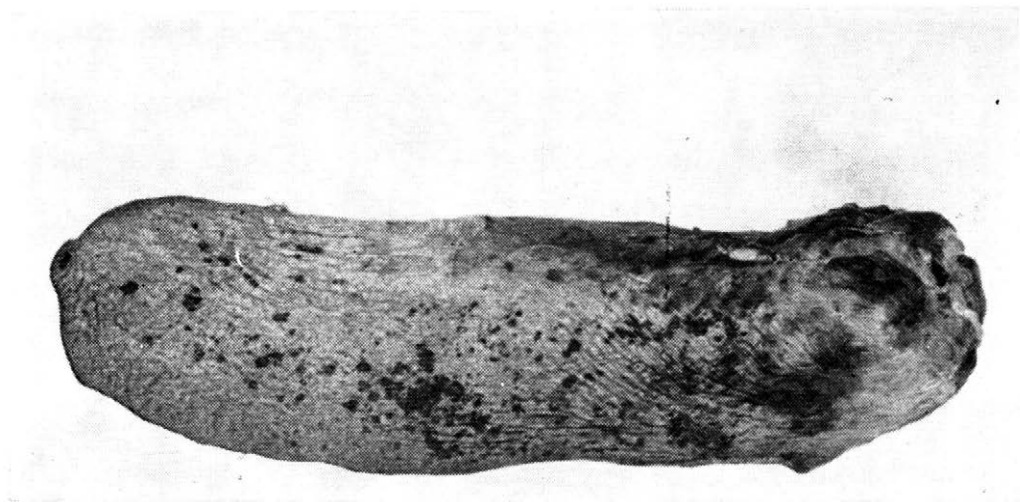
Hemoragická diatéza na srdci, jehož pravá polovina byla dilatována, se pravidelně vyskytovala téměř u všech zvířat obou skupin na perikardu a epikardu, zatímco krvácení do srdečního svalu a pod endokard mělo zřídka intenzivnější charakter. Lokalizace hemoragií na epikardu byla typická na bázi srdeční v průběhu silně naplněných cév koronárních a na hrotu. Krvácení bylo také pozorováno na adventicii velkých cév. Kromě



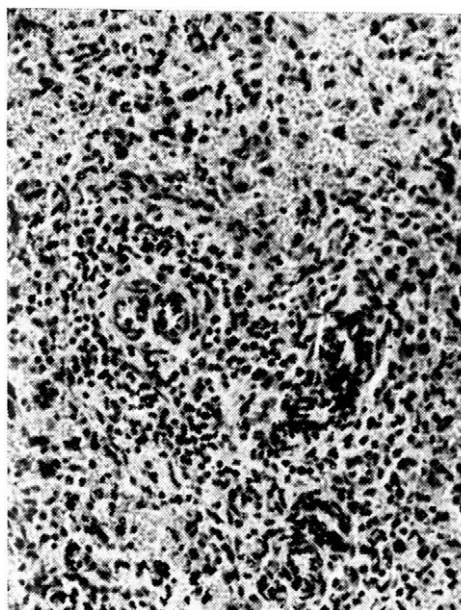
1. Plošný krevní výlev a drobnější hemoragie na séróze předžaludků (450 R, exitus 19. den)



2. Submukózní krevní výlev na slezu (450 R, exitus 19. den)



3. Typické krevní výlevy pod kapsulou sleziny (450 R, exitus 15. den)



4. Slezina — krvácení a nízký stupeň regenerace bílé pulpy. (450 R, exitus 17. den, H&E, 80X)

hemoragií byla na srdci zvířat uhynulých po ozáření dávkou 250 R nalézána přeměna funkčního tuku v rosolovitou tkáň.

Při vyšetření orgánů respiračního systému je hlavním nálezem rovněž hemoragická diatéza s lokalizací na sliznici hrtanu, ve vazivových spojích chrupavčitých prstenců průdušnice a v samotných plicích. Plíce byly téměř vždy zvětšené, jednostranně hypostatické, s okrsky atelektázy. Krvácení mělo různý charakter, zpravidla drobnější hemoragie s lokalizací jak pod pleurou pulmonální a při okraji diafragmatických laloků, tak i v hloubce plicního parenchymu.

Při hodnocení nálezů v dutině břišní a v orgánech trávicího ústrojí konstatujeme, že tyto orgány byly fyziologicky uloženy s větší či menší tympanií předžaludků a zřetelnou hemoragickou ditézou pod peritoneem i listem sérózy orgánů (obr. 1).

V dutině ústní byly tečkovité hemoragie na dásních a na postranních plochách jazyka a na jeho spodní ploše, i když ne příliš početné. Značně výrazné extravazáty byly zjištěny na sliznici hltanu, na zvětšených tonzilách a v průběhu jícnu. Při pitvě předžaludků bylo zjišťováno jejich silnější naplnění, zejména bachoru a čepce. Mezi listy knihy, u zvířat obou skupin, byly zbytky krmiva v podobě odlitků, jež byly často slepeny s epitelální výstelkou. Na sliznici slezu se vyskytovaly projevy krvácení ve formě mnohočetných drobných hemoragií i různě velkých plošných submukózních krevních výlevů u většiny pitvaných zvířat (obr. 2).

Tenké střevo bylo mírně naplněno řídkým obsahem, někdy i s příměsí krve. U obou skupin byly však hemoragie na sliznici i pod sérózou drobné a poměrně málo početné, zatímco masivnějším krvácením bylo postiženo tlusté a slepé střevo. Zejména u skupiny ozářené nižší dávkou a s delší dobou přežívání bylo pozorováno až hemoragické prosáknutí stěny a okolí v mezenteriální desce. Mezenteriální mizní uzliny byly pravidelně zvětšené a hemoragicky prosáklé.

V játrech, jejichž struktura byla zachována, ojediněle zastřena, bylo možno pozorovat krvácení pod kapsulou, vazivovým pouzdrům do závěsných vazů ojediněle, ale zcela pravidelně u zvířat obou skupin do stěny žlučového měchýře. Ve dvou případech skupiny ozářené 250 R se vyskytla ojedinělá nekrobiotická ložiska velikosti třešně, zasahující pod povrch jaterního parenchymu.

Slezina byla ve všech případech nezvětšená, typicky břidlicové barvy, se zcela pravidelným nálezem poměrně početných, čárkovitých, místy splývajících hemoragií na obou plochách (obr. 3).

Ledviny byly nezvětšené, s poměrně hojným výskytem hemoragií v koře, pánvičce ledvinné i na močovodech. Pravidelným a zajímavým nálezem bylo i krvácení do tukového pouzdra. Na sliznici i séróze močového měchýře se vyskytovaly rovněž hemoragie, popřípadě prosáknutí celé stěny. V lumen se nalézaly zbytky zkaleného moče, u skupiny 250 R s příměsí krve. Hemoragie byly nalézány rovněž na stěnách dělohy.

Kosterní svalovina byla ve všech případech postižena menšími či většími krevními výlevy, zpravidla do svalových partií pánevní končetiny a na hlavě do žvýkacích svalů.

Při makroskopickém vyšetření mozku a míchy bylo zjišťováno přerušování mozkových plén, jejich edém a ojediněle i krvácení, které bylo nalezeno na vyňatém mozku i hlouběji v hmotě nervové.

HISTOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Mízní uzliny (*lín. submandibulares, lín. cervicales profundae, lín. mesenterici craniales, lín. poplitei, lín. supramamarii*) – byl pozorován různý stupeň regenerace lymfoidní tkáně v závislosti na exponované dávce a době přežití zvířete. U skupiny 450 R, tj. 15. až 19. den po expozici, vykazovaly vyšetřované mízní uzliny počínající i vyšší stupeň regenerace. Buněčná sestava lymfoidní tkáně obsahovala především buňky retikulární, histiocyty, granulocyty a malé množství lymfocytů, především však jejich mladší nedozrálé formy. U skupiny exponované 250 R byla již regenerace vysokého stupně a lymfoblasty byly méně zastoupeny, což platí pro všechna zvířata a většinu vyšetřovaných mízních uzlin. Hemoragická diatéza ve formě hemoragií nebo hemoragického prosáknutí byla většinou v korelaci se stupněm krvácení příslušné sběrné oblasti. Z hlediska srovnání regenerace jednotlivých mízních uzlin u téhož jedince byl ve většině případů zjištěn její nižší stupeň u mízních uzlin hlavy a krku. V některých případech byla v lymfoidní tkáni ložiska bakterií, s lokalizací v sinech.

Slezina – regenerace bílé pulpy sleziny je u skupiny ozářené dávkou 450 R poměrně nízká (obr. 4). Malpighická tělíska jsou málo zřetelná, v buněčné sestavě převládají retikulární buňky, histiocyty a makrofágy. Lymfocytů je relativně malý počet, jejich nezralé formy se objevují jen ojediněle. U zvířat ozářených dávkou 250 R je regenerace lymfoidní tkáně mnohem zřetelnější, s množstvím vyzrálých lymfocytů, lymfoblasty se téměř vůbec nenalézají, nebo jen ojediněle. Společným nálezem u obou skupin jsou také mikroskopicky zjišťovatelné hemoragie pod vazivovým pouzdrém sleziny i zřetelné extravazáty v jejím parenchymu téměř ve všech vyšetřovaných případech.

Plíce – struktura parenchymu je u většiny zvířat zcela zachovalá, cévy jsou rozšířené, silně naplněné erytrocyty, které se vyskytují i mimo lumen cévní ve formě mikroskopických hemoragií. O zvýšené propustnosti cév svědčí hojný nález edematózní tekutiny v bronchách a alveolách, ve kterých jsou někdy i roztroušené bakterie. Byla nalézána i rozsáhlejší nevzdušná ložiska, v nichž však chybí typické známky buněčné infiltrace.

DISKUSE

Jak vyplývá z uvedených výsledků, které jsou zcela ve shodě s literárními údaji, byla při patoanatomickém vyšetření mladého skotu uhynulého v důsledku rozvinuté nemoci z ozáření hlavním nálezem hemoragická diatéza. Při porovnání nálezů u obou skupin je rozsah a intenzita krvácení v závislosti na době přežití (250 R) a je méně výrazná po vyšších dávkách (450 R) s rychlejším průběhem onemocnění.

Při porovnání našich nálezů s výsledky vyšetření u jiných druhů ozářených zvířat, zejména prasat (Otoupal aj., 1967), vystupuje do

popředí několik zřetelných rozdílů. Projevy hemoragické diatézy jsou při zevním ohledání méně výrazné, na kůži zcela chybí a na viditelných sliznicích se vyskytují v méně nápadné formě. Vypadávání srsti s tvorbou epilovaných míst bylo pozorováno jen ve formě prořívání srsti a v jejím snadnějším uvolňování na rozdíl od ovcí (J e g o r o v, K a m a l o v, 1965).

Výskyt hemoragií je možné na vnitřních orgánech lokalizovat především na tkáň, které jsou v neustálé mechanické činnosti; jsou to svaly mezižeberní, bránice, svaly břišního lisu a svaly žvýkačí. Dále je postižován aparát respirační a oběhový, zažívací a vyměšovací. Zajímavé je zjištění, že hemoragie na slezině byly nejvýraznější u všech druhů námi pitvaných zvířat. Důležitou okolností z hlediska veterinárně hygienického je skutečnost, že i u skotu dochází k výrazným a rozsáhlým extravazátům do kosterní svaloviny.

Hypobiotické změny v podobě nekrotických ložisek v játrech, jak je popsal B r o w n (1962) a jak známe z vlastních pozorování u koz, byly zjištěny jen ve dvou případech. Typickým nálezem na předžaludcích bylo odlupování epiteliálního pokryvu, především v knize, což spolu s přeplněním ostatních předžaludků je v souladu s klinickými nálezy útlumu až zástavy bachorové činnosti.

Histologickým vyšetřením zjištěná různá úroveň reparace lymfoidní tkáň je z hlediska jednotlivých zvířat závislá především na době přežívání, exponované dávce a jak se zdá i na lokalizaci jednotlivých mízních uzlin. Za zajímavý považujeme nález pomalejší regenerace lymfoidní tkáň povrchově uložených mízních uzlin hlavy a krku, což může být v příčinné souvislosti s velikostí absorbované dávky v příslušné krajině těla.

Výrazné rozdíly jsme pozorovali při porovnání regenerace lymfoidní tkáň sleziny, která byla u skupiny ozářené dávkou 450 R výrazně nižší. Histologický nález na plicní tkáni odpovídal jak klinickému pozorování, tak i obecně známým literárním údajům.

Literatura

- BROWN, D.: Clinical observation on cattle exposed to lethal doses of ionizing radiation. J. Am. vet. med. Ass., 140, 1962, s. 1051-1055.
- EDMONDSON, P. W. — BATCHELOR, A. L.: The clinical and pathological response of goats to whole-body irradiation by gamma-rays and fission neutrons. Int. J. Radiat. Biol., 1966, č. 10, s. 451-459.
- JEGOROV, V. G. — KAMALOV, M. B.: Lučevaja bolezň u ovec vyzyvannaja letolnym rentgenooblučenijem. Veterinarija, 42, 1965, s. 65-69.
- OTOUPAL, P. — GAJDOŠIK, A. — ZÍCHA, B.: Klinické změny u celotělově ozářeného skotu. Vet. Med. (Praha), 20, 1975, č. 12, s. 741-748.
- OTOUPAL, P. — PAWEL, O. — KALOUSOVÁ, V.: K patoanatomickým nálezům u prasat ozářených celotělově gama paprsky. Vet. Med. (Praha), 12, 1967, č. 8, s. 427-434.
- ROSENFELD, G.: Effects of a single lethal dose of total body ^{60}Co gamma irradiation on calves. Radiat. Res., 1958, č. 9, s. 346-357.
- RYBAK, P. J.: Osnovy radiačionnoj patologii u životnych. Moskva, Selchoziz 1959, 230 s.
- SCHULTZE, M. O. — PERMAN, V. — MIXUNO, N. S. — BATES, F. W. — SAUTTER, J. H. — ISBIN, H. S. — LOKEN, M. K.: Effects of gamma radiation on calves. Radiat. Res., 1958, č. 11, s. 399-408.
- TULLIS, J. L. — WARREN, S.: Gross observation on the animals exposed at Bikini. J. Am. vet. med. Ass., 134, 1947, s. 1155-1158.

Došlo dne 28. 5. 1975

ОТОУПАЛ П., ГАЙДОШИК А., ЗИХА В. (Военно-ветеринарный исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Патоморфологические диагнозы у облученного крупного рогатого скота. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 749-754, 1975.

Описывается диагноз у облученного по всему телу молодняка крупного рогатого скота ^{60}Co дозами 3,7 и 2,0 дж/кг (370 и 200 рад). Главной картиной является геморрагический диатез, локализованный прежде всего в постоянно механически действующих органах и частях скелетной мышечной системы. Степень регенерации лимфоидной ткани зависела от срока переживания и размера абсорбированной дозы.

лучевая болезнь; крупный рогатый скот; патоморфологический диагноз; геморрагический диатез

OTOUPAL P., GAJDOŠÍK A., ZÍCHA B. (Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia). *Pathomorphological Findings in Irradiated Cattle*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 749-754, 1975.

There is a description of the finding in whole-body irradiated young cattle exposed to ^{60}Co in the doses of 3.7 and 2.0 J kg⁻¹ (370 and 200 rad). The principal picture is a hemorrhagic diathesis localized above all in the permanently mechanically active organs and parts of the skeletal muscles. The degree of the regeneration of lymphoid tissue was dependent on the length of survival and on the amount of absorbed dose.

radiation sickness; cattle; pathomorphological finding; hemorrhagic diathesis

OTOUPAL P., GAJDOŠÍK A., ZÍCHA B. (Militärisches Veterinärforschungsinstitut, Praha, Tschechoslowakei). *Pathomorphologische Befunde bei bestrahlten Rindern*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 749-754, 1975.

Es wurden Befunde bei am ganzen Körper mit 3,7 und 2,0 E kg⁻¹ (370 und 200 rad) von ^{60}Co bestrahlten Jungrindern beschrieben. Das Hauptbild ist eine hämorrhagische Diathese, lokalisiert vor allem in andauernd mechanisch tätigen Organen und Partien der Skelettmuskulatur. Der Grad der Regeneration des Lymphgewebes war abhängig von der Überlebenszeitdauer und der Größe der absorbierten Dosis.

Strahlenkrankheit; Rind; pathomorphologischer Befund; hämorrhagische Diathese

Adresa autorů:

MVDr. P. Otoupal, CSc., MVDr. A. Gajdošík, MVDr. et RNDr. B. Zícha, CSc., Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha

VLIV CYKLOFOSFAMIDU NA METABOLISMUS ERYTROCYTŮ

J. Prokeš, S. Šromová, K. Vulterin, M. Prokšová, G. Graham

Ustav pro toxikologii a soudní chemii, FVL KU Praha

Vojenský výzkumný veterinární ústav, Praha

Dep. of Biochemistry, Kumasi, Ghana

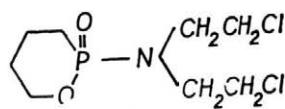
PROKEŠ J., ŠROMOVÁ S., VULTERIN K., PROKŠOVÁ M., GRAHAM G.
Vliv Cyklofosfamidů na metabolismus erytrocytů. Vet. Med. (Praha) 20 (12) :
: 755-761, 1975.

Krysám byl aplikován i. p. Cyklofosfamid v dávce 100 mg kg⁻¹. Po jednom, dvou, třech a sedmi dnech byla zvířata zabita a v odebrané heparinované krvi byla stanovena inkorporace o-fosforečnanu ³²P do erytrocytů *in vitro* při 37 °C a za 35 minut. Pokles inkorporace u zvířat s Cyklofosfamidem proti kontrolám ukazuje na porušený metabolismus fosforečnanu. Metodu je možné použít jako kritéria vedlejších toxických účinků při léčbě kancerostatiky alkylačního typu.

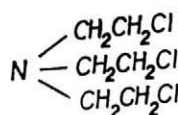
krysa; o-fosforečná kyselina; erytrocyt; cytostatika; N-yperity

Cyklofosfamid patří spolu s ostatními „biologickými alkylačními látkami“ do důležité skupiny kancerostatik. Tato skupina se dělí podle pěti základních struktur lišících se i v detailech mechanismu účinku na pět podskupin: chloretylaminy, etyleniminy, metansulfonáty, epoxidy a deriváty cis-platiniumdiamid dichloridu.

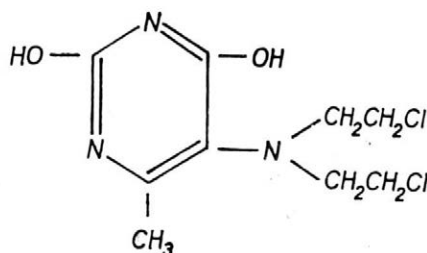
Z chloretylaminů je to kromě Cyklofosfamidů i např. TS 160 Spofa a Ypenyl.



Cyklofosfamid

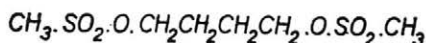


TS 160

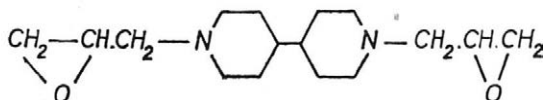


Ypenyl

Z metansulfonátů je známý a používaný především Myleran, z epoxidů pak Eponat.



Myleran



Eponat

Jak vyplývá již ze samotného názvu „biologická alkylační činidla“, spočívá mechanismus účinku v alkylaci nukleofilních center, jimiž jsou především atomy dusíku heterocyklických bazí nukleových kyselin (především nádorové tkáně). Nejdůležitějším výsledkem – z hlediska terapeutického účinku – je tvorba „cross-linkage“ mezi dvěma řetězi DNK. Alkylaci podléhají, i když v menší míře, i nukleové kyseliny normálních tkání a řada dalších komponent živého organismu, jako jsou proteiny, lipoproteiny (zvl. membrán), enzymy apod. Všechna takto působící kancerostatika mají tedy řadu vedlejších toxických účinků. Je proto bezpodmínečně nutnou součástí léčby používat nejcharakterističtější z těchto vedlejších účinků jako kritéria pro horní hranici dávkování použitých léčiv. Je to zvláště důležité proto, že existují individuální rozdíly v citlivosti jednotlivých pacientů. Dosud užívaná kritéria jsou hematologické povahy. Není pochyb, že i toxikolog-biochemik by měl dát svá specifická kritéria, a doplnit tak celkový obraz léčeného organismu. Předkládaná práce je výsledkem takových studií.

V první fázi výzkumu jsme se zabývali Cyklofosfamidem pro jeho široké použití, poměrně malé nebezpečí vedlejších účinků, a tedy pro jeho perspektivu v terapii. Jeho zvláštností je nutnost „aktivace“, která se děje na mikrozomech jaterní tkáně, jak ukázal již v r. 1961 F o l e y aj. Cyklofosfamid se špatně resorbuje ze zažívacího traktu, a je proto mnohem účinnější při parenterálním než při perorálním podání (A n s l o w aj., 1947). Na rozdíl od mnoha dalších kancerostatik této skupiny (a látek příbuzných – dichlordietylsulfid) setrvává poměrně dlouho v krevním oběhu, jak popsali B r i n c k e r (1967) a V o i c u l e t aj. (1965). Biologický poločas Cyklofosfamidu byl určen těmito pracovníky na jeden a čtyři hodiny. Naproti tomu dichlordietylsulfid mizí z krve člověka (*in vivo*!) tak, že za 1 minutu po dodání ho zbývá 10 % (D a v i s o n aj., 1957).

Všechny tyto vlastnosti a řada dalších přispívají k perspektivě cyklofosfamidu jako léčiva. To byl také důvod, proč jsme se o něj začali před delší dobou zajímat z hlediska moderní toxikologie-biochemismu a včasné diagnostiky, popřípadě terapie vedlejších účinků.

Základní otázkou je výběr vhodného kritéria, dostatečné standardnosti odpovědi i standardnosti odebíraného vzorku. Tomu všemu nejlépe

vyhovovala krev, respektive erytrocyt. Není sice plně hodnotnou buňkou, ale obsahuje řadu enzymů i enzymatických systémů a probíhají v něm metabolické i transportní pochody společné všem buňkám. Nepřítomnost buněčného jádra v savcích, a tím i v lidských erytrocytech vylučuje předem zachytit změny v syntéze DNK, RNK i proteosyntéze. To je značné omezení, ale také zjednodušení identifikace porušených pochodů. Na myšlenku použít erytrocyt jako indikátor při různých patologických stavech organismu přišli již dříve sovětsí autoři Berezovskij (1963), Ščepetilnikova a Kafieva (1958), Syčeva (1959) a Kozlov (1972), kteří sledovali pacienty s plicní tuberkulózou, revmatismem apod. Otázku erytrocytu jako indikační buňky dále rozpracovali polští autoři: Chmiel (1973) obecně, Karon (1973) ve spojitosti s neoplastickým onemocněním a přímo po použití kancerostatik – ovšem jen staticky – Chmiel a Jurga (1973). Z dalších, kteří v poslední době studovali erytrocyt jako indikátor u neoplastických onemocnění, je třeba jmenovat Noženkova a Solazemnieca (1973, 1974). Příjem ^{32}P byl sledován u těhotných žen rumunskými vědci Cojocazu aj. (1973).

METODIKA

CYKLOFOSFAMID

rozpuštěný těsně před aplikací ve vodě. Použitá dávka: 100 mg kg *i. p.*

ZVÍŘATA

Bílé krysy Wistar vlastního chovu o hmotnosti 180 až 210 g; samice.

RADIONUKLID

Jako indikátoru bylo použito ^{32}P ve formě orto-fosforečnanu. Byl použit preparát PBS 2P z The Radiochemical Center, Amersham, England, s obsahem 1 mg P ml⁻¹ a o aktivitě 1 mCi ml⁻¹. Roztok byl z původní penicilinky odebírán mikrostríkačkou o celkovém objemu 40 μl (výrobek družstva Instrumenta). Tento způsob se ukázal nejvhodnější ze všech zkoušených.

ODBĚR KRVE

Krysy byly narkotizovány dietyléterem a dekapitovány. Krev odebírána za stálého míchání do kádinek o obsahu 50 ml, do nichž byl dán předem Heparin Spofa plv. jako antikoagulans.

HEMATOKRIT

Byl stanovován na speciální mikrohematokritové centrifúze Unipan typ 316 (Polsko) v kapilárách s koncem utěsněným plastelinou.

VLASTNÍ INKORPORACE

Odebraná heparinizovaná krev byla odpipetována v množství 1 ml do skleněných centrifugačních zkumavek označených čísly zvířat a postavených ve stojánku z nerezů (pro další inkubaci ve vodní lázni). Do každé

zkumavky bylo mikrostríkačkou 40 μ l (Instrumenta) přidáno 10 μ l roztoku fosforečnanu (PBS 2P), směs důkladně promíchána a stěny opláchnuty nakláněním zkumavky za stálého otáčení kolem podélné osy. Celý stojan se zkumavkami byl vložen ihned potom do Dubnoffova inkubátoru (Vývojové dílny ČSAV) s nastavenou teplotou 37 °C a rychlostí třepání 8. Po 35minutové inkubaci za třepání byly zkumavky vloženy do centrifugy T 23 Janetzki a odstředěny 4000 G po dobu 10 minut. Plazma byla co nejlépe odtahována do připravené sady nových zkumavek a uschována v lednici pro nanášení k měření. Erytrocytární masa byla opatrně rozmíchána s 1 ml ledového fyziologického roztoku a opět zcentrifugována za stejných podmínek. Supernatant včetně blanky leukocytů byl pak odtahován do radioaktivního odpadu a erytrocytární masa opět rozmíchána s dalším 1 ml ledového fyziologického roztoku. Erytrocyty byly odcentrifugovány opět standardním způsobem, supernatant odsát do radioaktivního odpadu a přidáním 1 ml ledové H₂O provedena hemolýza. Tato operace se dělala s každou zkumavkou individuálně, aby bylo možno nanést vzorky dvakrát po 0,1 ml hemolyzátu ihned po vyčerpání, ale ještě před začátkem srážení hemoglobinu. Vzorek byl nanášen v množství 0,1 ml mikropipetou, poslední dobou pak mikropipetou typu Eppendorf (Vývojové dílny ČSAV), která má podstatně lepší reprodukovatelnost a přesnost. Z každého hemolyzátu byly připraveny dva vzorky.

Po ukončeném nanášení hemolyzátu byly naneseny také vzorky plazmy ve stejném objemu (vždy dva vzorky po 0,1 ml od jedné krysy).

STANOVENÍ RADIOAKTIVITY VZORKŮ

Pro stanovení aktivity bylo použito automatu pro měření radioaktivních vzorků Tesla NZQ-615 ve spojení se scintilační sondou osazenou plošným beta detektorem SPD-22 Tesla. Vzorky byly naneseny na standardních mističkách z hliníku o průměru 25 mm s vloženým kotoučkem chromatografického papíru Whatman No 3.

Napětí na sondě: 1400 V

Předzesilovač: vstupní citlivost 0,3

Derivační konstanta: 20 μ sec.

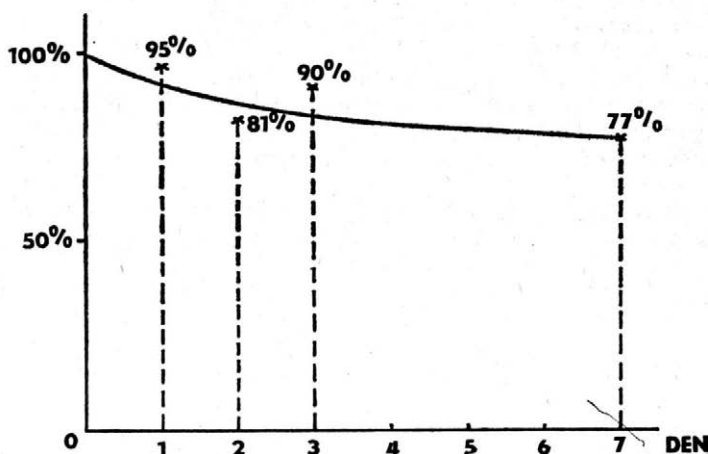
ZPŮSOB HODNOCENÍ INKORPORACE

S každou skupinou pokusných zvířat byla za týchž podmínek chována a zpracována skupina kontrolní. Hodnoty kontrolních zvířat sloužily za 100 %. Hodnoty zvířat pokusných byly podle toho vypočítávány v procentech kontrol.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Z obr. 1 vyplývá, že Cyklofosfamid podávaný *i. p.* v dávce 100 mg kg⁻¹ bílým krysám snižuje příjem anorganického fosforečnanu erytrocyty *in vitro*. Snížení nenastává však bezprostředně po aplikaci Cyklofosfamidu. Příjem fosforečnanu klesá u pokusných zvířat pomalu až sedmého dne, kdy byl pokus zatím ukončen. Orientační výsledky, sledující další inter-

valy (zde uvedené), ukazují na pozvolnou normalizaci po této době. Z našich výsledků vyplývá, že se zásadně nejedná o primární efekt Cyklofosfamidů na zralý erytrocyt. V tom případě by musel být efekt Cyklofosfamidů patrný především v prvních dnech po aplikaci. Jako mnohem pravděpodobnější se tedy jeví vysvětlení, že primární poškození nastává v kostní dřeni ve zrajících erytrocytech. Ty obsahují ještě jádro, tedy s DNK, která je právě nejvíce atakována alkylačními látkami. Takto změněný budoucí erytrocyt postrádá zřejmě — jako následek zásahu Cyklofosfamidů — určité enzymy, odpovědné za pozorované snížení příjmu fosforečnanu po vyplavení zralých, ale poškozených erytrocytů do krve. Protože maximum poklesu nastává sedmý den po aplikaci, muselo k poškození dojít v některé z prvních fází erythropoiezy.



1. Průběh inkorporace ^{32}P do erytrocytů krysa po dávce 100 mg Cyklofosfamidů na kilogram

Naše dosavadní experimenty nám neumožnily lokalizovat místo poškození. Může jít o poškození transportního systému membránou, může jít o poškození některého nebo některých z metabolických pochodů, jichž se fosforečnan účastní. Lokalizace a vysvětlení bude předmětem našich dalších prací.

Praktickým výsledkem je možnost použití míry příjmu ^{32}P o-fosforečnanu jako kritéria vedlejších účinků u pacientů léčených cytostatiky a imunupresivy alkylačního typu. Orientační pokusy totiž ukazují, že lidské erytrocyty odpovídají asi 7× citlivěji než krysy.

Literatura

- ANSLOW, W. P. — KARNOFSKY, A. D. — JAGER, B. V. — SMITH, H. W.: The toxicity and pharmacological action of the nitrogen mustard and certain related compounds. *J. Pharmac. exp. Ther.*, 91, 1947, s. 224-235.
- BEREZOVSKIJ, B. S.: *Radiologia*, 2, 1963, s. 82.
- BRINCKER, H.: Protection of C^{3}H -mice against toxic effects of Endoxan by means of cysteine hydrochloride. *Acta path. microbiol. scand.*, 61, 1964, s. 321-332.
- COJOCASU, G. — SZANTAY, V. — SZANTAY, I. — NOCILAU, V. L.: *In vitro* evaluation of the phosphorus-32 uptake by erythrocytes, and the phosphate ions passage in pregnant woman. *Docum. haematol.*, 1, 1973, s. 99-104.
- DAVISON, C. — ROZMAN, R. S. — BLISS, L. — SMITH, P. K.: *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, 2, 1957, s. 195.

FOLEY, G. E. — FRIEDMAN, O. H. — DROLET, B. P.: Studies on the mechanism of action of Cytoscan. Evidence of activation *in vivo* and *in vitro*. Cancer Res., 21, 1961, s. 57-63.

CHMIEL, J.: Krwinka czerwona jako komórka modelowa w badaniach biochemicznych. Diagn. Lab., 9, 1973, č. 1-2, s. 3-12.

CHMIEL, J. — JURGA, B.: Krwinka czerwona jako komórka modelowa w badaniach nad oddziaływaniem leków cytostaticznych. Diagn. Lab., 9, 1973, č. 1-2, s. 39-47.

KARON, H.: Wpływ choroby nowotworowej na metabolizm krwinki czerwonej. Diagn. Lab., 9, 1973, č. 1-2, s. 21-25.

KOZLOV, G. S.: Intensivnost pogloščeniya eritrocitami ^{32}P i glicina 2-C14 kak pokazatel sostojaniya metaboličeskich processov v organizme. Med. Radiobiol., 17, 1972, č. 7, s. 35-39.

NOŽENKO, A. A. — SOLAZEMNIECE, G.: Latv. PSR Zinat Akad. Akad. Vestis, 7, 1973, s. 100-104.

NOŽENKO, A. A. — SOLAZEMNIECE, G.: Nekotoryje pokazateli energoplastičeskogo obmena v eritrocitach krys s čuvstvitelnoj i ustojčivoj ciklofosfanu opuchoľju. Izv. Akad. Nauk Latv. SSR Vestis, 5, 1974, s. 78-82.

SYČEVA, I. M.: Pronicajemnost eritrocitov po otnošeniju k radioaktivnomu fosforu pri nekotorich vnutrennich zabolevanijach. Klin. Med., 37, 1959, č. 4, s. 43-46.

ŠČEPETILNIKOVA, O. G. — KAFIEVA, E. A.: Opredelenije pronicajemosti eritrocitov u boľnych tuberkulezom s pomoščju mečenogo fosfora. Klin. Med., 36, 1958, č. 4, s. 104-107.

VOICULET, N. — CHIRALEU, F. — VILAU, C.: Study on the distribution and metabolism of cytostatic substances Endoxan- ^{32}P and TSPA- ^{32}P in rats. Revue roum. Biochim., 2, 1965, č. 2, s. 177-185.

Došlo dne 28. 5. 1975

ПРОКЕШ Й., ШРОМОВА С., ВУЛТЕРИН К., ПРОКШОВА М., ГРАГАМ Г. (Институт токсикологии и судебной химии ФОМ КУ, Прага; Военно-ветеринарный исследовательский институт, Прага, Чехословакия. Отдел биохимии, Кумаси, Гана). Влияние Циклофосфамида на метаболизм эритроцитов. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 755-761, 1975.

Крысам подавался *i. p.* Циклофосфамид в дозе 100 мг/кг. Спустя один, два, три и семь дней животных убивали. В отобранной гепаринизированной крови определялось включение $\text{o-фосфата } ^{32}\text{P}$ в эритроциты *in vitro* при 37°C в течение 35 мин. Понижение включения у животных с Циклофосфамидом по сравнению с контролем свидетельствует о нарушенном метаболизме фосфата. Этот метод можно брать в качестве критерия второстепенных токсических действий при лечении канцеростатики алкилирующего типа.

крыса; $\text{o-фосфорная кислота}$; эритроцит; цитостатика; N-иприты

PROKEŠ J., ŠROMOVÁ S., VULTERIN K., PROKŠOVÁ M., GRAHAM G. (Institute of Toxicology and Forensic Chemistry of the Faculty of Universal Medicine of Charles University, Praha; Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia; Dep. of Biochemistry, Kumasi, Ghana). Effect of Cyclophosphamide on the Metabolism of Erythrocytes. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 755-761, 1975.

Cyclophosphamide was applied *i. p.* in the dose of 100 mg kg^{-1} to rats. After one, two, three, and seven days the animals were killed and in the collected heparinized blood the incorporation of $\text{o-phosphate } ^{32}\text{P}$ in erythrocytes was determined *in vitro* at 37°C and in 35 minutes. Decreased incorporation in animals with Cyclophosphamide indicates, compared with the control, disturbed metabolism of phosphate. The method can be applied as a criterion of secondary toxic effects in the treatment of cancerostatics of alkylation type.

rat; o-phosphoric acid ; erythrocyte; cytostatics; N-mustards

PROKEŠ J., ŠROMOVÁ S., VULTERIN K., PROKŠOVÁ M., GRAHAM G. (Institut für Toxikologie und Gerichtsmedizin der Karlsuniversität in Praha, Militärische Veterinärforschungsanstalt Praha, Tschechoslowakei; Dep. of Biochemistry, Kumasi, Ghana). *Einfluß des Cyklophosphamids auf den Metabolismus der Erythrozyten*. Vet. Med. (Praha) 20 (12) : 755-761, 1975.

Ratten wurde *i. p.* Cyklophosphamid in Dosen von 100 mg kg⁻¹ verabreicht. Nach ein, zwei, drei und sieben Tagen wurden die Tiere getötet und im entnommenen heparinierten Blut wurde die Inkorporation von o-Phosphat ³²P in die Erythrozyten *in vitro* bei 37 °C und in 35 Minuten ermittelt. Die Verminderung der Inkorporation bei Tieren mit Cyklophosphamid im Vergleich zu den Kontrolltieren weist auf einen gestörten Phosphatmetabolismus hin. Die Methode kann man als Kriterium toxischer Nebenwirkungen bei der Therapie der Kanzerostatik des Alkylationstyps benutzen.

Ratte; o-Phosphorsäure; Erythrozyt; Zytostatika; N-Lost

Adresa autorů:

Doc. RNDr. PhMr. J. Prokeš, CSc., S. Šromová, prom. ped., RNDr. K. Vulterin, Ústav pro toxikologii a soudní chemii, FVL KU Praha
PhMr. M. Prokšová, Vojenský výzkumný veterinární ústav, 150 06 Praha
G. Graham, Dep. of Biochemistry, U. S. T. Kumasi, Ghana

Hrušovský J.: Vliv radiomimetik na složení bílkovin krevního séra psů	701
Prokeš J., Šromová S., Vulterin K., Stavovčíková O., Prokšová M.: Vliv X záření na metabolismus erytrocytů krys	705
Lehký F., Dobšínská E.: Terapie časných příznaků nemoci z ozáření u psů pyrimetinem	715
Zícha B., Otoupal P., Švantnerová V., Janeček J., Kalousová V.: Biochemický indikátor postiradiačního poškození u skotu	723
Janeček J., Zícha B., Otoupal P., Kalousová V., Švantnerová V.: Dynamika časných změn v bílé složce periferní krve celotělově ozářeného skotu	733
Otoupal P., Gajdošík A., Zícha B.: Klinické změny u celotělově ozářeného skotu	741
Otoupal P., Gajdošík A., Zícha B.: Patomorfologické nálezy u ozářeného skotu	749
Prokeš J., Šromová S., Vulterin K., Prokšová M., Graham G.: Vliv Cyklofosfamidu na metabolismus erytrocytů	755

СОДЕРЖАНИЕ

Грушовский Й.: Влияние радиомиметики на состав белков кровяной сыворотки у собак	703
Прокеш Й., Шромова С., Вултерин К., Ставовчикова О., Прокшова М.: Влияние X-лучей на метаболизм эритроцитов крыс	712
Легки Ф., Добшинская Е.: Терапия ранних признаков болезни после облучения собак Пириметином	720
Зиха Б., Отоупал П., Швантнерова В., Янечек Й., Калоусова В.: Биохимический индикатор постиррадиационного повреждения у крупного рогатого скота	731
Янечек Й., Зиха Б., Отоупал П., Калоусова В., Швантнерова В.: Динамика ранних измерений в белом компоненте периферической крови облученного крупного рогатого скота по всему телу	739
Отоупал П., Гайдошик А., Зиха В.: Клинические изменения у облученного по всему телу рогатого скота	747
Отоупал П., Гайдошик А., Зиха В.: Патоморфологические диагнозы у облученного крупного рогатого скота	754
Прокеш Й., Шромова С., Вултерин К., Прокшова М., Грахам Г.: Влияние Циклофосамида на метаболизм эритроцитов	760

CONTENT

Hrušovský J.: Effect of Radiomimetics on the Composition of the Proteins of Dog Blood Serum	703
Prokeš J., Šromová S., Vulterin K., Stavovčíková O., Prokšová M.: Effect of X-Radiation on the Metabolism of Rat Erythrocytes	713
Lehký F., Dobšínská E.: Therapy of Early Symptoms of Radiation Sickness in Dogs by means of Pyrimetin	720
Zícha B., Otoupal P., Švantnerová V., Janeček J., Kalousová V.: Biochemical Indicator of Post-Irradiation Injury of Cattle	731
Janeček J., Zícha B., Otoupal P., Kalousová V., Švantnerová V.: Dynamic of Early Changes in the White Component of the Peripheral Blood of Whole-Body Irradiated Cattle	739
Otoupal P., Gajdošík A., Zícha B.: Clinical Changes in Whole-Body Irradiated Cattle	748
Otoupal P., Gajdošík A., Zícha B.: Pathomorphological Findings in Irradiated Cattle	754
Prokeš J., Šromová S., Vulterin K., Prokšová M., Graham G.: Effect of Cyclophosphamide on the Metabolism of Erythrocytes	760

Hrušovský J.: Einfluß der Radiomimetika auf die Zusammensetzung der Eiweißstoffe des Hundebutserums	703
Prokeš J., Šromová S., Vulterin K., Stavovčíková O., Prokšová M.: Einfluß der X-Strahlung auf den Metabolismus der Erythrozyten bei Ratten	713
Lehký F., Dobšínská E.: Die Therapie der Frühsymptome der Erkrankung von Hunden nach Bestrahlung mit Applikation des Pyrimetins	721
Zícha B., Otoupal P., Švantnerová V., Janeček J., Kalousová V.: Biochemischer Indikator von Postirradiationsschädigungen beim Rind	732
Janeček J., Zícha B., Otoupal P., Kalousová V., Švantnerová V.: Dynamik frühzeitigen Veränderungen der weißen Komponente des peripheren Blutes von ganz körperbestrahlten Rindern	739
Otoupal P., Gajdošík A., Zícha B.: Klinische Veränderungen bei am ganzen Körper bestrahlten Rindern	748
Otoupal P., Gajdošík A., Zícha B.: Pathomorphologische Befunde bei bestrahlten Rindern	754
Prokeš J., Šromová S., Vulterin K., Prokšová M., Graham G.: Einfluß des Cyklophosphamids auf den Metabolismus der Erythrozyten	761



Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS — ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS-ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, Legerova ulice 22, 120 00 Praha 2.