

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2022

Aneta Petirová

Univerzita Pardubice
Fakulta zdravotnických studií

Radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce a selhání více orgánů

Bakalářská práce

2022

Aneta Petirová

Univerzita Pardubice
Fakulta zdravotnických studií
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Aneta Petirová**
Osobní číslo: **Z19432**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Radiologický asistent**
Téma práce: **Radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce a selhání více orgánů**
Téma práce anglicky: **Radiation induced multiple organ dysfunction and multiple organ failure syndrome**
Zadávající katedra: **Katedra klinických oborů**

Zásady pro vypracování

1. Studium literatury, sběr informací a popis současného stavu řešené problematiky.
2. Stanovení cílů a metodiky práce.
3. Příprava a realizace průzkumného šetření dle stanovené metodiky.
4. Analýza a interpretace získaných dat.
5. Zhodnocení výsledků práce.

Rozsah pracovní zprávy: **35 stran**
Rozsah grafických prací: **dle doporučení vedoucího**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- HAVRÁNKOVÁ, Renata, 2020. Klinická radiobiologie. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 184 s. ISBN 978-80-247-4098-0.
- KIANG, J. G., OLABISI, A. O. Radiation: a poly-traumatic hit leading to multi-organ injury. Cell Biosci 9, 25 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0286-y>.
- KLUGAR, Miloslav, 2015. Systematická review ve zdravotnictví. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. 120p. ISBN 978-80-244-4785-8.
- TANIGAWA K. (2021). Case review of severe acute radiation syndrome from whole body exposure: concepts of radiation-induced multi-organ dysfunction and failure. Journal of radiation research, 62(Supplement_1), i15-i20. <https://doi.org/10.1093/jrr/rraa121>.
- WILLIAMS, J. P., & MCBRIDE, W. H. (2011). After the bomb drops: a new look at radiation-induced multiple organ dysfunction syndrome (MODS). International journal of radiation biology, 87(8), 851-868. <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.560996>.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Anna Lierová, Ph.D.**
Katedra klinických oborů

Datum zadání bakalářské práce: **1. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **28. dubna 2022**

doc. Ing. Jana Holá, Ph.D. v.r.
děkanka

L.S.

Mgr. Jan Pospíchal, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 14. března 2022

PROHLÁŠENÍ AUTORA

Prohlašuji:

Práci s názvem Radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce a selhání více orgánů jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše. Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 26. 4. 2022

Aneta Petirová v. r.

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat Mgr. Anně Lierové, Ph.D, za její odborné vedení, cenné rady, ochotu a čas, který mi věnovala během psaní této bakalářské práce. Poděkování patří také mé rodině za podporu během studia.

ANOTACE

Bakalářská práce je rešerší dosavadních informací o radiačně indukovaném syndromu multiorgánové dysfunkce a radiačně indukovaném selhání více orgánů. Teoretická práce shrnuje dostupné informace o těchto syndromech, včetně mechanismů vzniku a historického pozadí, a dále také s tématem související pojmy, jako je akutní nemoc z ozáření a opožděné účinky akutního radiačního ozáření. Výzkumná část je zaměřena na analýzu dostupných studií, věnujících se pokusům na zvířatech vystavených ionizujícímu záření, se zaměřením na danou problematiku opožděných účinků ionizujícího záření.

KLÍČOVÁ SLOVA

Radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce, multiorgánové selhání, cytokiny, pokusy na zvířatech.

RADIATION INDUCED MULTIPLE ORGAN DYSFUNCTION AND MULTIPLE ORGAN FAILURE SYNDROME

ANNOTATION

The bachelor thesis describes current knowledge about radiation-induced multiorgan dysfunction syndrome and radiation-induced multiple organs failure. The theoretical work summarizes the available information on these syndromes, including the mechanisms of origin and historical background, as well as related topics such as acute radiation sickness and delayed effects of acute radiation. The research part is focused on the review of available studies dealing with experiments on animals exposed to ionizing radiation, focusing on the mentioned issue of delayed effects of ionizing radiation.

KEYWORDS

Radiation induced multiple organ dysfunction, multiple organ failure syndrome, cytokines, animal experiments.

OBSAH

Úvod	13
1 Cíle a metody práce	15
1.1 Cíl práce	15
1.2 Metody k dosažení cíle.....	15
TEORETICKÁ ČÁST.....	16
2 Radiační poškození organismu	16
2.1 Počátky radiobiologie a konceptu radiačního poškození	17
2.2 Akutní nemoc z ozáření	21
2.2.1 Terapie akutního radiačního syndromu	23
3 Opožděné účinky akutního radiačního ozáření	27
4 Radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce a selhání více orgánů	29
4.1 Historie.....	30
4.1.1 Černobyl.....	30
4.1.2 Sorek	31
4.1.3 Nesvizh	31
4.1.4 Lilo.....	32
4.1.5 Tokaimura.....	33
4.2 Radiobiologický rozvoj syndromu.....	34
4.2.1 Dráha 1 – zánět, imunita a reaktivní formy kyslíku	37
4.2.2 Dráha 2 – integrita bariéry	39
4.2.3 Dráha 3 – ztráta kmenových buněk	40
4.2.4 Další úvahy	43
4.3 Terapie.....	43
REŠERŠNÍ ČÁST.....	44
5 Metodika praktické části.....	44
5.1 Popis JBI protokolu pro PCC otázku	44

5.2	Vybrané databáze	44
5.3	Zvolená klíčová slova	45
5.4	Výsledky hledání.....	45
6	Výsledky.....	48
6.1	Experimentální modely na studium RI-MODS.....	50
6.1.1	Myší laboratorní model.....	50
6.1.2	Potkaní laboratorní model.....	55
6.1.3	Laboratorní model založený na nehumánních primátech.....	56
6.2	Experimentální látky k terapii RI-MODS	61
6.2.1	Lisinopril.....	61
6.2.2	BBT-059	62
6.2.3	Nitrofenylové sloučeniny.....	62
6.2.4	Aktivovaný protein C.....	62
6.2.5	Deferipron + Ferrostatin	62
6.2.6	Neulasta + Neupogen.....	63
7	DISKUZE	82
8	Závěr	87
9	Použitá literatura	89

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Znázornění účinků IZ na živou tkáň.....	21
Obrázek 2 - Časová osa patofyziologických změn po vystavení vysokým dávkám IZ	28
Obrázek 3 - Jednoduché znázornění RI-MODS, RI-MOF a výsledné úmrtnosti.....	29
Obrázek 4 - Patologické změny v GIT u ozářeného pracovníka po incidentu Tokaimura	34
Obrázek 5 - Mechanismy vedoucí k RI-MODS nebo RI-MOF po TBI.....	35
Obrázek 6 - Různé typy buněčné smrti indukované IZ.....	41
Obrázek 7 - Flowchart postupu vyhledávání článků pro praktickou část práce.....	47
Obrázek 8 - Chemická struktura lisinoprilu	61

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Výsledky vyhledávání a použítá klíčová slova pro vyhledávání v databázi 1 a databázi 2	46
Tabulka 2 - Přehled článků zahrnutých do praktické části práce	48
Tabulka 3 - Studie č. 1 (Unthank et al., 2015)	51
Tabulka 4 - Studie č. 2 (Booth et al., 2012)	52
Tabulka 5 - Studie č. 3 (Booth et al., 2015)	53
Tabulka 6 - Studie č. 4 (Unthank et al., 2019)	54
Tabulka 7 - Studie č. 5 (Fish et al., 2020)	55
Tabulka 8 - Studie č. 6 (MacVittie et al., 2012)	56
Tabulka 9 - Studie č. 7 (Prado et al., 2017)	58
Tabulka 10 - Studie č. 8 (Michalson et al., 2019)	59
Tabulka 11 - Studie č. 9 (Thrall et al., 2019)	60
Tabulka 12 - Studie č. 10 (Micewicz et al., 2019)	64
Tabulka 13 - Studie č. 11 (Sharma et al., 2020)	65
Tabulka 14 - Studie č. 12 (Miller et al., 2020)	66
Tabulka 15 - Studie č. 13 (Sridharan et al., 2021)	68
Tabulka 16 – Studie č. 14 – Rozdělení do skupin ve 2. části	70
Tabulka 17 - Studie č. 14 (Gasperetti et al., 2021)	72
Tabulka 18 - Studie č. 15 (Medhora et al., 2021)	73
Tabulka 19 - Studie č. 16 - Rozdělení do skupin	74
Tabulka 20 - Studie č. 16 (Medhora et al., 2019)	75
Tabulka 21 - Studie č. 17 (Medhora et al., 2020)	76
Tabulka 22 - Studie č. 18 (Jacobs et al., 2019)	77
Tabulka 23 - Studie č. 19 - Rozdělení do skupin	78
Tabulka 24 - Studie č. 19 (Fish et al., 2016)	79
Tabulka 25 - Studie č. 20 (Cohen et al., 2020)	81

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ACE	Angiotenzin konvertující enzym [Angiotensin-Converting-Enzyme]
APC	Aktivovaný protein C [Activated Protein C]
APCHi	Vysoceaktivovaný protein C [High in Activated Protein C]
ARS	Akutní nemoc z ozáření [Acute Radiation Syndrome]
CSF	Kolonie stimulující faktor [Colony Stimulating Factor]
CT	Výpočetní tomografie [Computed Tomography]
DEARE	Opožděné účinky akutního radiačního ozáření [Delayed Effects of Acute Radiation Exposure]
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
FB	Formulační pufr [Formulation Bufer]
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv [U.S. Food and Drug Administration]
G-ARS	Gastrointestinální syndrom akutní nemoci z ozáření [Gastrointestinal Acute Radiation Syndrome]
G-CSF	Faktor stimulující kolonie granulocytů [Granulocyte Colony Stimulating Factor]
GIT	Gastrointestinální trakt
GM-CSF	Faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů [Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor]
H-ARS	Hematopoetický syndrom akutní nemoci z ozáření [Hematopoietic Acute Radiation Syndrome]
hG-CSF	Lidský faktor stimulující kolonie granulocytů [Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor]
HSC	Hematopoetické kmenové buňky [Hematopoietic Stem Cells]
IL	Interleukin

IZ	Ionizující záření
JBI	Institut Joanny Briggsové [The Joanna Briggs Institute]
LD	Letální dávka [Lethal Dose]
LET	Lineární přenos energie [Linear Energy Transfer]
mGM-CSF	Myší faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů [Mouse Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor]
MOI	Poškození více orgánů [Multiple Organ Injury]
N-ARS	Neurovaskulární syndrom akutní nemoci z ozáření [Neurovascular Acute Radiation Syndrome]
NPSP	Nitrofenylpiperazinové sloučeniny
NSP	4-nitrophenylsulfonamid
PBI	Částečné ozáření [Partial-Body Irradiation]
PEG	Polyethylenglykol
RI-MODS	Radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce [Radiation Induced Multiorgan Dysfunction Syndrome]
RI-MOF	Radiačně indukované selhání více orgánů [Radiation Induced Multiorgan Failure]
RNS	Reaktivní formy dusíku [Reactive Nitrogen Species]
ROS	Reaktivní formy kyslíku [Reactive Oxygen Species]
RTG	Rentgenové záření
SCT	Transplantace kmenových buněk [Stem Cell Transplantation]
TBI	Celotělové ozáření [Total Body Irradiation]
TC	Trojkombinace [Triple Combination]
TGF	Transformující růstový faktor [Transforming Growth Factor]

ÚVOD

Krátce po objevení rentgenových (RTG) paprsků v roce 1895 Konradem Röntgenem vznikla nová vědní disciplína – radiobiologie. Předmětem zkoumání tohoto oboru na pomezí fyziky, biologie a chemie se stal vliv ionizujícího záření (IZ) na živé organismy. Na začátku využívání RTG záření ještě nebylo povědomí o rizicích používání IZ a jeho škodlivosti, a proto docházelo k častému zranění vědců, lékařů, ale i pacientů. Až v roce 1903 bylo prokázáno, že RTG záření může vyvolat rakovinu a nenávratně poškodit živé tkáně. Četné pokusy a výzkumy dospěly k určení radiosenzitivit tkání a standardizaci prahové dávky. Přelomové objevy však byly učiněny až v průběhu 20. století sběrem dat o osobách vystavených záření během jaderných nehod a incidentů. První významnou událostí z hlediska pozorování radiačního poškození bylo svržení atomových bomb na japonská města Hirošimu a Nagasaki. Po pitvách obětí těchto výbuchů v roce 1945 byla poprvé popsána akutní nemoc z ozáření (ARS) a vztah mezi dávkou, časem a úmrtností. V této době však ještě neexistovala specifická léčba proti radiačnímu poškození, a proto byla terapie spíše podpůrná. Ke konci 90. let 20. století došlo k několika dalším incidentům, z nichž k nejdůležitějším patří jaderná havárie v Černobylu v roce 1986. V této době byla zasaženým osobám již poskytnuta terapie transplantací kostní dřeně, která však nebyla ve většině případů úspěšná. Došlo se k závěru, že ozáření vysokými dávkami IZ má kromě letálních účinků i vedlejší, které dále ovlivňují velké množství dalších buněk. Avšak až zkoumání zdravotního stavu pacientů po incidentu Tokaimura v roce 1999 přispělo ke změně pohledu na tuto problematiku a stanovení nového konceptu radiačního poškození.

V posledních desetiletích se výzkum radiačního poškození organismu začal zaměřovat kromě akutního vlivu záření i na opožděné účinky radiačního ozáření (DEARE), pod které spadá radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce (RI-MODS) a radiačně indukovaný syndrom selhání více orgánů (RI-MOF). Nové vědní postupy a rozvoj techniky umožnil testování dlouhodobých účinků ozáření na zvířecích modelech. Jejich cílem je objasnit množství dosud nepopsaných příčinných souvislostí, které by významně změnil pohled na radiační poškození a vedly zejména k rozvoji terapeutických postupů u pacientů vystavených IZ. Obzvláště v této době válečných konfliktů a teroristických útoků je důležité klást důraz na výzkum účinků ionizujícího záření na člověka a rozvoj radiobiologie.

Tato bakalářská práce je zaměřena zejména na rozpoznání a popsání RI-MODS a RI-MOF. V teoretické části je popsán vliv IZ na organismus a vznik radiačního poškození organismu od jeho historických počátků až po současné možnosti terapie. Následně byla vysvětlena podstata

RI-MODS a RI-MOF. Poslední část je zaměřena na DEARE. Formou rešerše jsou shrnuty dostupné informace o těchto syndromech. Dále jsou v rešeršní práci zahrnuty vybrané pokusy na zvířecích modelech a srovnání jejich výsledků včetně dostupných terapeutických postupů.

1 CÍLE A METODY PRÁCE

1.1 Cíl práce

Cílem této práce je na základě dostupné literatury popsat a vymezit nový koncept radiačního poškození, do kterého spadá radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce, radiačně indukované selhání více orgánů a opožděné účinky akutního radiačního ozáření. Cílem praktické části je porovnání a posouzení výsledků několika vybraných vědeckých pokusů na zvířecích modelech.

1.2 Metody k dosažení cíle

K dosažení stanovených cílů byla zvolena práce s databázemi. Prostudováním dostupné literatury na dané téma a následným vytvořením rešerše získaných informací bylo dosaženo cíle teoretické části. Pro praktickou část byl použit JBI protokol, na základě kterého byla stanovena PCC rešeršní otázka, jejímž zodpovězením došlo k dosažení cíle praktické části, která se zabývá experimentálními pokusy syndromů popsaných v teoretické části.

TEORETICKÁ ČÁST

2 RADIAČNÍ POŠKOZENÍ ORGANISMU

Stejně jako u neživé hmoty dochází i při interakci živých buněk s ionizujícím zářením (IZ) k procesům, které se řídí stejnými fyzikálními zákony. Účinky záření na organismus jsou podmíněny mnoha faktory, mezi které spadá energie záření, fyzikální parametry, dávka, příkon, frakcionace apod. Při ozáření dochází k přenosu energie záření na atomy a molekuly biologického systému. V buňkách dochází k ionizaci a excitaci atomů a následné biochemické a biologické odpovědi. IZ mohou být poškozeny všechny typy biomolekul, ale zásadní význam má narušení funkce proteinů, lipidů, ribonukleové kyseliny a deoxyribonukleové kyseliny (DNA) v podobě jednořetězcových a dvouřetězcových zlomů. V závislosti na typu ionizujícího záření se významně liší přímý a nepřímý efekt na poškození biomolekul. Podle lineárního přenosu energie (LET), který udává hustotu přenosu energie do prostředí, dělíme záření na dva typy. Ionizující záření s vysokým LET (α částice, protony, neutrony), které účinkuje na DNA zejména přímo v důsledku přítomnosti elektrického náboje a způsobuje komplexní hůře opravitelné poškození. Oproti tomu IZ s nízkým LET (β částice, γ záření a rentgenové (RTG) záření) narušuje funkci DNA nepřímo v důsledku tvorby volných radikálů. Poškození se dále přenáší do potomstva ozářených buněk a následky jednotlivých expozičních se sčítají po celý život. Přitom i nepatrné změny v sekvenci DNA mohou mít fatální následky pro buňku, potažmo celý organismus (Havránková, 2020 s. 67 a 70; Kiang a Olabisi, 2019).

V závislosti na obdržené dávce rozlišujeme podle biologického efektu tkáninové (deterministické) a stochastické účinky. Deterministické účinky závisí na době expozice, dávce a typu záření. Jsou prahové a pod určitou obdrženou dávkou se neprojevují, přičemž závažnost reakce je úměrná dávce. Časné účinky a většina tkáňového pozdního účinku je deterministická, patří mezi ně akutní nemoc z ozáření (ARS), radiační katarakta, radiační dermatitida a chronické poškození jiných tkání po ozáření. Oproti tomu stochastické účinky prahovou dávkou nemají, ale pravděpodobnost jejich rozvoje roste společně s obdrženou dávkou. Rozlišujeme stochastický somatický efekt, kdy jedinci vystavení záření trpí stochastickými účinky během života, a genetický efekt, kdy IZ poškodí genetický materiál v reprodukční buňce a v důsledku toho se tyto účinky dědí z generace na generaci (Choudhary, 2018).

Interakce záření s buňkou lze rozdělit do několika fází. Počáteční fází je fyzikální stádium, které trvá od 10^{-18} do 10^{-14} sekundy. Toto velmi krátké stádium je charakteristické kaskádami ionizací. Dochází k ionizaci primárního záření a následně i elektronů vyražených z atomů

primárním zářením, což vede k ionizaci a excitaci velkého množství dalších atomů. V této fázi atomy a molekuly organismu absorbují energii záření. Během fyzikálně-chemického stádia, které trvá 10^{-14} až 10^{-10} sekundy, dochází k interakcím mezi vzniklými ionty a okolními molekulami za vzniku volných radikálů a dalších reaktivních činitelů. Ke vzájemným reakcím mezi přítomnými radikály dochází během chemického a biochemického stádia, která trvají od tisícín sekund až do několika sekund. Tyto radikály napadají a poškozují biomolekuly. Některé volné radikály vzájemnou interakcí zanikají a přetvářejí se na vodu, jiné však na nebezpečný peroxid vodíku (H_2O_2). Mitochondrie jsou běžně zdrojem reaktivních forem kyslíku (ROS), jako je superoxid a peroxid vodíku, které vznikají během respiračního metabolismu *in vivo*, ale abnormální akumulace endogenních nebo exogenních ROS v reakci na IZ s nízkým LET může způsobit denaturaci proteinů, peroxidaci lipidů nebo mutace DNA. V důsledku toho dochází buď k okamžité interfázni nekrotické smrti buňky, nebo ke komplexní buněčné odpovědi na ozáření. V závislosti na rozsahu poškození a schopnosti reparace DNA nastává buď zotavení buňky, nádorová transformace, senescence, nebo některá z forem opožděné smrti, viz kapitola 3.2.3 o ztrátě kmenových buněk (Yamaguchi a Kashiwakura, 2013; Havránková, 2020, s. 67 – 68).

2.1 Počátky radiobiologie a konceptu radiačního poškození

Radiobiologie jako vědní disciplína zabývající se účinkem záření na buňky, tkáně a organismy vznikla nedlouho po objevu RTG záření německým fyzikem W. C. Röntgenem 8. listopadu 1895. Toho dne Röntgen zjistil, že Crookesova trubice pokrytá černým papírem vyvolává vnější účinky, které způsobují fluorescenci barviva vně trubice. Aby zdůraznil, že je povaha tohoto záření neznámá, pojmenoval ho záření X. Později se začalo používat i označení rentgenové záření. Tento objev vzbudil obrovský zájem veřejnosti, a tak se již v lednu 1896 začalo používat RTG záření k vyšetření kostry a později i plic a dalších orgánů. Nikdo v té době nepředpokládal, že by radiační expozice mohla vyvolat nějaká poškození. V témže roce A. H. Becquerel objevil radioaktivitu poté, co si všiml, že na fotografické desce vystavené uranové soli došlo k chemickým změnám, ačkoli byla chráněná před viditelným světlem. V roce 1898 Marie a Pierre Curie izolovali novou sloučeninu, kterou pojmenovali po rodné zemi Marie – polonium – a přiřadili mu radioaktivitu jako vlastnost. O několik měsíců později zveřejnili článek o dalším nově objeveném radioaktivním prvku – radiu. Tyto objevy stály u zrodu vědecké revoluce na konci 19. a počátku 20. století (Wojcik a Harms-Ringdahl, 2019; Ray a Stick, 2015; Tubiana, 1996; Willers a Held, 2006).

První zmínky o zraněních vědců, lékařů a pacientů způsobených RTG zářením se začaly objevovat nedlouho po objevu paprsků X. Již na začátku roku 1896 byly zachyceny první případy radiační dermatitidy. Prvním stupněm akutní radiační dermatitidy je erytém, ke kterému dochází po ozáření dávkou 3 – 10 Gy, projevuje se zarudnutím a přechodným vypadáváním vlasů a chlupů. Druhým stupněm je deskvamace, k jejímu rozvoji dochází po ozáření 12 – 25 Gy a projevuje se vznikem časného erytému, který je po několika týdnech doprovázen puchýři, infekcí a mokváním. Nekróza je třetím stupněm dermatitidy, ke kterému dochází u dávek nad 30 Gy, přičemž poškození postihuje hlubší vrstvy kůže. V prvních desetiletích používání RTG záření se obecně věřilo, že je radiace bezpečná, pokud se expozice udržuje pod úrovní, která způsobuje poranění. V roce 1902 byl stanoven limit 0,1 Gy za den a o rok později byly pokusy na zvířecích modelech prokázáno, že RTG záření může způsobit rakovinu a trvale poškodit tkáň. Do té doby bylo RTG záření hojně využíváno k léčbě tuberkulózy, lupus vulgaris, epilepsie, rakoviny kůže, dny, ischiasu, revmatismu, poruch metabolismu, anémie atd... Využití k těmto účelům však bylo založeno na jakémsi „klinickém úsudku“ a pozorování reakce pacientů, nikoli na podložených vědeckých studiích. I když se radiační popáleniny a nekrózy prstů rukou, v horizontu několika let následované rakovinou, objevovaly u pracovníků se zdroji IZ čím dál častěji, byl stále negativní vliv RTG záření zpochybňován. V té době se používala tzv. erytémová dávka, která sloužila ke kalibraci RTG přístrojů – jednalo se o dávku záření, po které došlo k vyvolání erytému. K tomuto účelu se používalo nejčastěji lidské stehno, které bylo v určité vzdálenosti od zdroje vystaveno napětí a proudu a sledovalo se, kdy kůže začne červenat. První mezinárodní doporučení k radiologické ochraně byla zveřejněna až v roce 1928 a zahrnovala doporučení o používání stínění, zkracování doby expozice a zvýšení vzdálenosti od zdroje záření (Wojcik a Harms-Ringdahl, 2019; Schillaci, 1995; Rosenthal et al. 2019).

Až po použití atomových bomb na japonská města Hirošimu a Nagasaki v roce 1945 se radiační biologie začala více zaměřovat na pochopení mechanismů účinků záření z pohledu hodnocení zdravotních rizik. Během jaderného zbrojení a atmosférického testování jaderných bomb došlo k rozsáhlé kontaminaci životního prostředí a vystavení populace nízkým dávkám radiace. V návaznosti na tyto události bylo zahájeno velké množství pokusů na zvířatech s cílem analyzovat důsledky vnitřní a vnější kontaminace různými radionuklidy a dále také určit vliv dávky, dávkového příkonu a frakcionace na zkrácení života, tumorigenezi a genetické změny. Pro samotný rozvoj radiační biologie byl však přelomový výzkum publikovaný již v roce 1927 americkým genetikem H. J. Mullerem, který pojednával o použití záření k mutaci genů

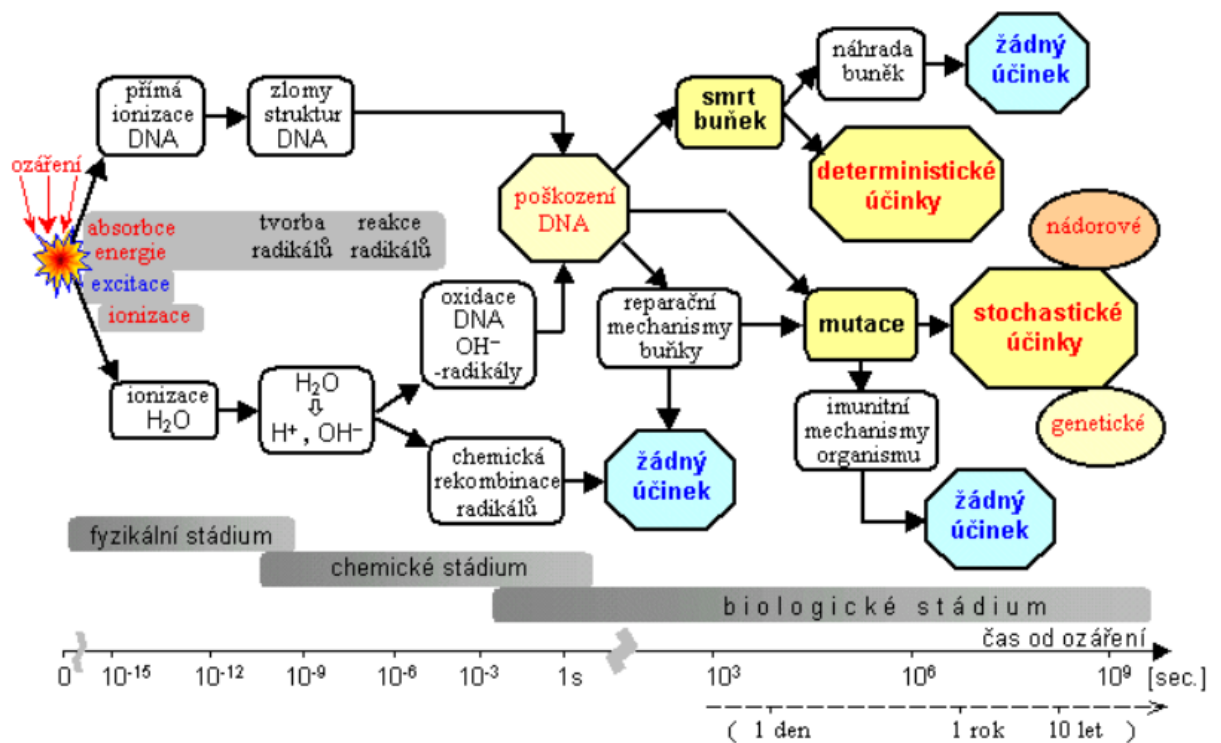
Drosophila melanogaster – octomilky obecné. Muller předpokládal, že účinek záření je pro většinu organismů společný, a proto by mělo být možné vyrobit dostatek mutací, které by poskytly genetické mapy, na kterých by se analyzovaly současně získané aberantní chromozomové jevy. Ve skutečnosti identifikoval myšlenku široké genomové mutagenese a jejího použití ve funkční genomice. K obdobným závěrům došla i bioložka B. McClintock na základě provedených studií kukuřičných chromozomů před RTG ozářením a po něm. Tento objev v kontextu s výsledky výzkumů prováděných v kontextu vojenského využití radiace vedl vědce k názoru, že žádná bezpečná dávka radiace neexistuje (Wojcik a Harms-Ringdahl, 2019; Preston 2005).

V 50. a 60. letech 20. století se studium mutací začalo provádět na myších. Během těchto pokusů bylo objasněno, že frekvence mutací se zvyšovala se zvyšující se dávkou RTG záření, a naopak se frekvence mutací snížila, pokud byla dávka rozdělena nebo podávána po delší dobu. Neutrony s vysokým LET byly při indukci specifických mutací účinnější než záření s nízkým LET, RTG nebo gama paprsky. Později se ukázalo, že většina mutací vyvolaných RTG zářením a neutrony byla výsledkem poměrně velkých delecí. Účinky na člověka byly omezeně popsány na osobách exponovaných v důsledku svržení atomových bomb na japonská města Hirošimu a Nagasaki a havárie v Černobylu. Je však kritizováno, že proces získávání dat ze studií, které prováděla Komise pro oběti atomových bomb na přeživších, měl velmi nízké etické standardy. Klinické poznatky z japonských měst byly zkoumány v Nukleárním výzkumném ústavu v Los Alamos v USA v letech 1945, 1946 a 1958, dále pak v Jugoslávii v Institutu Borise Kidrica v roce 1958 a vedly k objasnění ARS. Významným pokrokem bylo vyvinutí *in vitro* metody klonování jedné buňky v roce 1955 vědci Puckem a Marcusem, které umožnilo sestavení křivky přežití buněk po vystavení radiaci. Tento výzkum vedl k myšlence, že k určité formě buněčné obnovy dochází při nízkých středních dávkách. Tato obecná hypotéza byla podpořena studiemi Elinda a Suttona v roce 1960, kteří prokázali, že k opravě buněčného poškození vyvolaného RTG zářením může dojít v období mezi dávkami podanými ve dvou frakcích, tedy ke specifickým procesům opravy DNA. Další studie se zabývaly rizikem genetických změn a úmrtí na rakovinu u přeživších po atomových výbuších. Pozdější zvýšený výskyt leukémie a dalších solidních nádorů u osob s nízkou obdrženou dávkou vedl ke všeobecnému zlepšení radiační ochrany a přijetí nových limitů pro radiační pracovníky (Preston, 2005; Wojcik a Harms-Ringdahl, 2019; Schillaci, 1995).

V návaznosti na tyto události byly provedeny pokusy o vyvinutí terapeutické metody ARS, jako je transplantace krvetvorby a cytokinová terapie. Od 90. let 20. století se pozornost z léčby

a patologie těžkého akutního celotělového ozáření přesunula k nehematopoetickým účinkům záření na důležité orgány, jako je gastrointestinální trakt (GIT), ledviny, játra, plíce a kůže. I přes malé množství příhod celotělového ozáření (TBI) byly zachyceny případy s podrobnými popisy klinického obrazu těžkého ARS s progresivním a sekvenčním postižením kritických orgánů a tkání. Navzdory moderním lékařským postupům a velkému úsilí často docházelo k opožděné letalitě. Tento stav byl definovaný jako radiací indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce následovaný selháním více orgánů (Tanigawa, 2021).

Dlouhou dobu byly účinky IZ vnímány jako přímý důsledek přímé ionizace buněčných struktur, zejména DNA. Tyto biologické účinky byly připisovány neopravitelnému nebo nesprávně opravenému poškození DNA v buňkách přímo zasažených radiací. Tyto účinky záření byly popsány pomocí zásahové (terčové) teorie. Zásahová teorie počítá s existencí zvlášť citlivého terče nacházejícího se uvnitř buňky. Jeho zasažení je pro buňku kritické a potenciálně vede k její smrti. Tento terč byl identifikován jako buněčné jádro, z pohledu stochastických účinků se jedná dokonce jen o určité geny v jaderné DNA. Škodlivé účinky přímé absorpce energie záření, jako je mutagenese a karcinogenese, se projevují v přeživších ozářených buňkách. Tento konvenční model byl zpochybněn na základě několika pozorování, ve kterých nepřímo ozářené buňky vykazovaly reakce podobné reakcím přímo ozářených buněk. Na základě těchto poznatků bylo připuštěno, že škodlivé účinky IZ nejsou omezeny pouze na ozářené buňky, ale dopadají také na neozářené okolní buňky, a dokonce i na buňky vzdálené. V důsledku existence mnoha jevů, které nelze vysvětlit zásahovou teorií, vznikla teorie radikálová. Tato teorie vychází z představ o nepřímém působení radikálů vzniklých při ozáření, například ROS vznikajících při radiolýze vody. Tyto jevy jsou považovány za reakce na záření, které zahrnují necílené molekuly nebo molekuly, které neinteragovaly přímo se zářením. Mnoho z účinků IZ v biologické hmotě je způsobeno geometrií počátečních fyzikálních událostí ukládání energie. Částicové záření interaguje s biologickou tkání ionizací nebo excitací, které mají tendenci být lokalizované podél drah jednotlivých nabitých částic. Oproti tomu foton může proniknout hmotou bez interakce, být rozptýlen a část své energie uložit, nebo být zcela absorbován (Desouky et al., 2015; Havránková, 2020, s. 67). Na níže uvedeném obrázku 1 jsou znázorněny účinky IZ na živou tkáň v průběhu jednotlivých stádií. Horní křídlo představuje postup zásahové teorie a dolní křídlo radikálové teorie.



Obrázek 1 - Znázornění účinků IZ na živou tkáň (Ullmann, n. d.)

2.2 Akutní nemoc z ozáření

Akutní nemoc z ozáření (ARS), též známá jako nemoc z ozáření nebo radiační toxicita, je způsobena vystavením celého těla (popřípadě většiny těla) vysoké dávce IZ během krátké doby. Poprvé bylo ARS popsáno až 53 let po objevení RTG záření v roce 1895. Průlomem v objasňování ARS byla práce C. E. DeCourseyho z roku 1948, založená na zkoumání pitevnických nálezů u asi 260 ozářených Japonců po svržení atomových bomb na města Hirošima a Nagasaki v roce 1945. Při posuzování účinků záření na lidské anatomické struktury byl vztah lézí k době smrti poměrně jednotný. U pacientů, kteří zemřeli během prvních dvou týdnů, během tzv. raného období, bylo klinické vyšetření bez známek radiačních účinků, i když při mikroskopickém vyšetření bílé krvinky, lymfoidní tkáň, kostní dřeň, gonády a gastrointestinální trakt vykazovaly výrazné změny. U umírajících během třetího až šestého týdne převažovaly změny kostní dřeně, které vedly k mohutným hemoragickým a ulcerativním symptomům a lézím. Patologické změny dosáhly vrcholu, toto období je označováno jako přechodné. U umírajících během šestého týdne až čtvrtého měsíce se projevilo počáteční zlepšení v lymfatických tkáních, kostní dřeni a vlasových folikulech, ale i nadále přetrvávala testikulární atrofie, plicní a GIT zánět a vyhublost. Toto období je nazýváno jako pozdní. DeCoursey ve své práci podrobně popisuje dopady ozáření na tkáň a orgány, které byly pozorovány u obětí v prvních měsících po ozáření. Další významnou událostí z pohledu

zkoumání ARS byla havárie jaderné elektrárny v Černobylu v roce 1986, která bude detailněji popsána v následující kapitole (DeCoursey, 1948; Mettler et al., 2007).

ARS nastává po celotělovém nebo významném částečném ozáření, typicky nad 0,7 – 1 Gy. Spočívá v rozvoji hematopoetického (H-ARS), gastrointestinálního (G-ARS) a neurovaskulárního syndromu (N-ARS), a to buď jednotlivě, nebo v kombinaci. K H-ARS dochází po obdržené dávce větší než 0,7 Gy, ke G-ARS po dávce 10 – 20 Gy a N-ARS po dávce 20 – 50 Gy, přičemž po expozici vyšší než 10 – 12 není možné přežít. Klasické počáteční příznaky se objevují během tzv. prodromální fáze v období 0 – 2 dny od expozice. Pro tuto fázi jsou typické příznaky jako nevolnost, zvracení, průjem, dehydratace, bolest hlavy a časný erytém. Může dojít k dočasné i trvalé sterilitě. Klinický obraz se v tomto období nejčastěji podobá akutnímu virovému onemocnění, což bez potvrzené radiační expozice ztěžuje diagnostiku. Na prodromální fázi navazuje fáze latentní, která trvá 2 – 20 dní v závislosti na obdržené dávce. V případě obdržení velmi vysokých dávek se latentní fáze nemusí dostavit. Během této fáze dochází ke zmírnění, nebo dokonce vymizení příznaků. Při střední a vyšší expozici je tato fáze doprovázena imunosupresí, tedy snížením absolutního počtu lymfocytů, které zpětně slouží pro určení obdržené radiační expozice. V následující manifestní fázi dochází k výskytu závažných klinických příznaků. Střední a vyšší dávky jsou doprovázeny krvácivou diatézou vyvolanou trombocytopenií. Při těchto dávkách může dojít k poškození GIT, které se překrývá s poruchou krvevorbny a vede k nevratnému neurovaskulárnímu poškození. V důsledku toho dochází ke ztrátě velkého množství buněk, rozvoji systémové zánětlivé reakce a selhání více orgánů. U pacientů, kteří toto období přežijí, dochází k celkovému zlepšení zdravotního stavu a návratu k normálním hematologickým hodnotám. Přeživší však musí čelit stochastickým následkům (Dörr a Meineke, 2011; López a Martín, 2011; Donnelly et al., 2010).

Doba nástupu ARS závisí na obdržené dávce, ale i při nejnižších dávkách dochází k rozvoji onemocnění v řádu hodin až dnů. Poškození IZ se typicky projevuje bez rozlišovacích znaků nebo symptomů. Mezi buňkami se citlivost na záření liší podle délky buněčného cyklu. Rychlost, kterou se buňka replikuje a dělí, je důležitý determinant radiosenzitivity. Během mitózy, kdy je genetický materiál nejvíce vystaven, jsou buňky nejzranitelnější vůči účinkům záření. Velmi citlivé jsou spermatogonie, dále i lymfocyty, erytroblasty a další hematopoetické buňky, stejně tak buňky gastrointestinálního traktu. Buňky tvořící svaly, kosti a kolagen jsou méně mitoticky aktivní, a proto patří mezi nejméně citlivé na IZ. Vhodná lékařská péče vede k LD_{50/60} mezi 6 – 7 Gy, přičemž maximální dávka, kterou lze přežít, je asi 8 Gy. Základem letálního výsledku je nevratné poškození krvevorbny vedoucí k sepsi, krvácení, zápalu plic

a RI-MOF. Léčba ARS je zejména podpůrná, zahrnuje podávání antibiotik, krevních produktů a v některých případech faktorů stimulujících kolonie a transplantaci kmenových buněk (Donnelly et al., 2010; Burnham a Franco, 2005).

Studiem anamnéz osob zasažených různými radiačními nehodami v druhé polovině 20. století, jako je například incident Tokaimura a Černobyl, došlo k povšimnutí něčeho zcela nového a neprobádaného. Až v posledních dvou desetiletích byl zkoumán a charakterizován nový klinický syndrom, kterým je radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce. Tímto pojmem je označován stav dysfunkce dvou a více orgánů vyvolaný radiačním ozářením. K rozvoji tohoto syndromu dochází po TBI, na které organismus reaguje intenzivní a nevyváženou imunitní odpovědí. Zánět se začne šířit do celého těla a postupně dochází k zániku velkého počtu buněk. Pro tento klinický syndrom je typický vzorec postupného selhání orgánů po TBI, kdy po zjevném zotavení z ARS dochází k postupnému poškození kritických tkání a orgánů. Mnoho zákonitostí však není dodnes plně objasněno (Maciá i Garau et al., 2011; Williams a McBride, 2011; Dörr a Meineke, 2011). Tyto mechanismy jsou detailněji popsány v následující kapitole.

2.2.1 Terapie akutního radiačního syndromu

V historii probíhala péče o všechny pacienty zasažené radiačními nehodami v obdobné podobě. Po přijetí pacienta do nemocnice sestávala péče z rozboru krve, reverzní izolace, podávání tekutin, sterilizace gastrointestinálního traktu, léčby cytokiny, transplantace kostní dřeně, kognitivně behaviorální terapie apod. Následovaly transfuze krevních destiček a erytrocytů a dlouhodobé užívání širokospektrálních antibiotik. V těchto případech byly počáteční intervence zaměřeny na lékařské ošetření za předpokladu výskytu poruch krevetvorby. Součástí těchto stavů je i soubor chronických hematologických a nehematologických příhod. Při pokusech o léčbu pacientů po expozici vysokými dávkami IZ, patofyziologií multiorgánových poranění zahrnující GIT, kůži, játra, ledviny a plíce, došlo k objasnění mnoha jevů, které umožnilo vznik nových léčebných postupů. Rozvoj lékařské péče v tomto odvětví zahrnoval například transplantaci kmenových buněk, která přispívá k částečnému zlepšení prognózy u pacientů s ARS (Tanigawa, 2021).

Lékařská péče o zasažené osoby jadernými incidenty zahrnuje řádnou přípravu na příjem obětí, třídění a pohotovostní péči. Při významných radiologických událostech je vyžadována i psychosociální pomoc. Během počátečního hodnocení a třídění jsou oběti identifikovány jako oběti s vnější nebo vnitřní kontaminací, významnou vnější expozicí bez kontaminace nebo

zranění způsobená traumatem. Pro komplexní posouzení může být také nutná konzultace s hematologem, specialistou na popáleniny, dermatologem, neurologem nebo úrazovým chirurgem. Definitivní posouzení by mělo vést k léčbě a podpůrné péči u pacientů s ARS, vnitřní kontaminací a kombinovaným radiačním poškozením. Mezi základní kroky managementu urgentního příjmu v případě příjmu pacientů poraněných ozářením patří: sestavení zasahujícího týmu, informování správy nemocnice, kontrola vybavení a postupů pro radiační nehody, předpoklad kontaminace všech pacientů, zajištění pomoci při monitorování radiace, vytvoření místa k ošetření poblíž venkovního vchodu, zakrytí nebo odstranění nepotřebného vybavení, příprava plastových nádob na kontaminované materiály a oblečení, zakrytí ošetřovacího stolu několika vrstvami voděodolné fólie určené k likvidaci, sledování, zda se kontaminace neroznáší, poskytnutí dozimetrů všem zaměstnancům a podobně. Lékařská rada pro hodnocení a léčbu obětí ozářením je dostupná v USA od REAC/TS (Burnham a Franco, 2005).

Podle studií lze ARS způsobené TBI považovat spíše za důsledek postižení více orgánů než za jednotlivé události. Různé tkáně mohou obsahovat buňky s různou radiosenzitivitou, proto načasování rozvoje ARS nemusí určovat, které orgány selhávají. Dále zánětlivé reakce, ztráta vaskulární homeostázy, ztráta slizniční a dermatologické integrity, regenerační procesy a lékařské zásahy mohou klinický obraz značně zkomplikovat. Příkladem je nehoda ve městě Tokaimura, kde ze dvou ozářených zaměstnanců, kteří později zemřeli, u jednoho došlo k úspěšné počáteční fázi po transplantaci kostní dřeně. I přes to zemřel o 7 měsíců později v důsledku RI-MOF sestávajícího z fibrotických a sklerotických změn kůže, refrakterního gastrointestinálního krvácení a poškození plic (Tanigawa, 2021).

Vysoká radiosenzitivita kmenových a progenitorových buněk hematopoetického systému může mít za následek lymfopenii a atrofii kostní dřeně. Tyto projevy nejsou pod 1 Gy klinicky významné, ale mohou vyústit v akutní sepsi. Rekonstrukce dávky může být obtížná z důvodu nestejně absorbované dávky kvůli relativně velké velikosti lidského těla a blízkosti zdroje. Imunosuprese komplikuje hojení ran a popálenin. Při léčbě ARS je především důležité pečlivé sledování časných známek a symptomů v kombinaci s výsledky deplece lymfocytů během prvních 48 hodin. Deplece lymfocytů představuje záchytný bod pro odhad závažnosti poranění. Tato pozorování, v kombinaci s dicentrickými hodnotami lymfocytů, mohou sloužit k odhadu obdržené dávky a určení následné léčby. Radiační expozici dětí se v případě radiační nehody musí věnovat speciální pozornost. Hrozí větší potenciál pro vnitřní kontaminaci, zvýšená pravděpodobnost psychických onemocnění, potenciálně vyšší míra stochastických

účinků a široká škála identifikovatelných abnormalit v děloze kvůli citlivosti vyvíjejícího se nervového systému. Zdravotníkům jsou k dispozici postupy pro interně a externě exponované těhotné ženy a děti (Burnham a Franco, 2005).

Podpůrná léčba

Podpůrná léčba je nezbytná pro oběti střední a vyšší úrovně expozice, obvykle se jedná o 2 – 8 Gy. Péče zahrnuje použití cytokinů, antimikrobiálních látek, krevních složek, protiprůjmových látek, tekutin, elektrolytů, analgetik, topických krémů na popáleniny a antiemetik. Časné použití antiemetik však může být nepraktické, a dokonce nežádoucí vzhledem k hodnotě doby nástupu zvracení jako faktoru v klinické dozimetrii. Profylaktická antibiotická terapie při expozicích nad 2 Gy by měla být zahájena během období neutropenie spolu s ionizací pro imunosupresi. Pacienti s absolutním počtem neutrofilů $<0,500 \times 10^9$ buněk/l by měli dostávat širokospektrální antimikrobiální látky. Doporučený je fluorochinolon se streptokokovým krytím. Pokud není pokrytí streptokokem, měl by fluorochinolon být podáván s penicilinem nebo amoxicilinem. U pacientů pozitivních na herpes simplex by měla být podle potřeby podávána profylaxe antimykotiky a antivirotiky. Antimikrobiální terapie pokračuje, dokud absolutní počet neutrofilů není $\geq 0,500 \times 10^9$ buněk/l, nebo dokud není jasné, že terapie není účinná. K dispozici jsou další postupy pro účinné používání antimikrobiálních látek. Použití krevních produktů k boji proti aplazii vyvolané zářením se běžně nevyžaduje po dobu 2 – 4 týdnů, což poskytuje čas na identifikaci dárců. Krevní složky by měly být leukoredukovány a ozářeny, aby se zabránilo reakci štěpu proti hostiteli spojené s transfuzí u imunosuprimované oběti. To může být obtížné odlišit od orgánové toxicity projevované během ARS. Zvažování transplantace hematopoetických kmenových buněk (SCT) vyžaduje včasnou konzultaci se specialisty, kteří jsou obeznámeni s přidruženými bariérami. Zkušenosti z minulých nehod ukázaly, že SCT má několik omezení. SCT by se mělo zvažovat pouze u obětí, které obdržely rovnoměrně rozdělené dávky v rozmezí od 7 do 10 Gy, nevykazují žádné významné popáleniny a mají minimální vnitřní kontaminaci. Upřednostňuje se včasná transplantace kostní dřeně. Zásadní je spolehlivá fyzikální a biologická dozimetrie (Burnham a Franco, 2005).

Cytokinová terapie a hematopoetické růstové faktory

Mezi doporučované cytokiny k cytokinové terapii patří faktor stimulující kolonie granulocytů (G-CSF) a faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF) ve spojení s interleukinem 3 (IL-3). V letech 2015 – 2018 byly k terapii osob schváleny tři skupiny G-CSF určené k léčbě H-ARS, které byly označeny jako radiomitigátory: G-CSF – filgrastim

(Neupogen), polyethylenglykovaný (PEG)-G-CSF – PEG-fligrastim (Neulasta) a GM-CSF – sagramostim (Leukin). Jejich použitím dochází ke zlepšení přežití ozářených experimentálních zvířat (včetně nehumánních primátů), zlepšené obnově neutrofilů u pacientů s rakovinou a zkrácení období neutropenie u omezeného počtu obětí radiačních nehod. Cílem této léčebné metody je urychlená obnova granulocytů. Významnou roli hraje načasování a to, zda se využijí hematopoetické růstové faktory stimulující obnovu primitivních kmenových buněk krvetvorby nebo hematopoetické faktory stimulující prekurzory. Ke klinickým studiím se běžně používá G-CSF a GM-CSF (Burnham a Franco, 2005; Vávrová a Petýrek, 1998; Singh et al., 2017).

Transplantace kmenových buněk

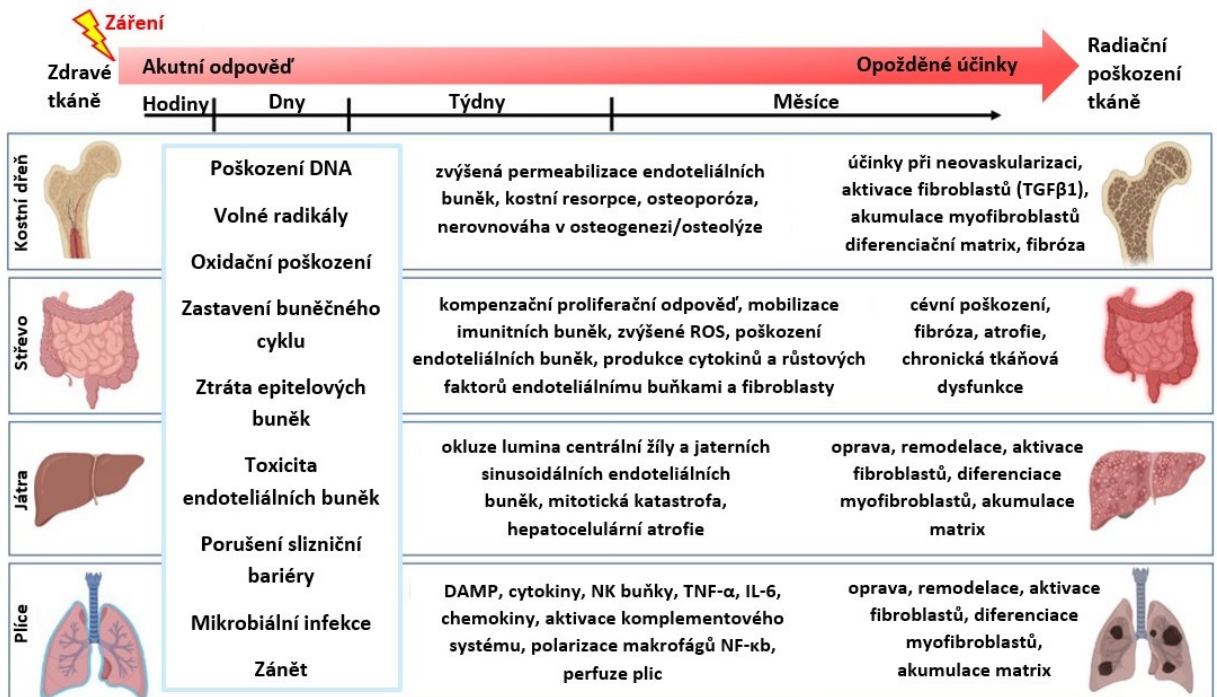
K transplantaci kmenových buněk se přistupuje, pokud přežije malá část kmenových buněk krvetvorby, ale obnova granulocytů v periferní krvi by nebyla dostatečně rychlá. Druhým, méně pravděpodobným důvodem k transplantaci kmenových buněk krvetvorby je jejich naprosté zničení a nemožnost obnovy endogenní krvetvorby. V obou případech se k transplantaci přistupuje co nejdříve po ozáření, avšak je náročné najít v tak krátké době vhodného dárce. Jako zdroj kmenových buněk krvetvorby se využívá zejména izolování buněk z periferní krve. Rychlost obnovy krvetvorby i imunitních funkcí je pro kmenové buňky z periferní krve stejná jako transplantace kostní dřeně po mobilizaci cytokiny. Transplantace kmenových buněk byla provedena celkem 31 ozářeným osobám. Z nich 27 zemřelo a 4 přežili i přes nepřijetí štěpu. Transplantace provedená u dvou zaměstnanců incidentu Tokaimura dokazuje, že i přes následné úmrtí došlo k počátečnímu přechodnému přihojení dárcovských buněk, které mělo za následek delší přežití, než jak se podle obdržené dávky a orgánové toxicity odhadovalo (Vávrová a Petýrek, 1998).

3 OPOŽDĚNÉ ÚČINKY AKUTNÍHO RADIAČNÍHO OZÁŘENÍ

Po rozpoznání ARS v 50. letech minulého století bylo u přeživších lidí a experimentálních zvířat pozorováno zkrácení života po TBI, přičemž nejčastější příčinou byla rakovina. Jedná se o pozdní projevy akutní radiační expozice, které sice souvisejí s dávkou, ale nejsou pevně spjaty s vztahem mezi dávkou a časem, které charakterizují akutní radiační syndromy. Opožděné účinky radiačního ozáření (DEARE) přesně nenásleduje jevy s časovou dávkou spojené s ARS a představuje rozmanitou škálu příznaků a patologií s nízkou mírou úmrtnosti, které se těžko vyhodnocují. DEARE se projevuje jako různorodé spektrum symptomů a histopatologických změn, které se vyskytují po dlouhou dobu. V časovém rozestupu dochází u přeživších osob k rozvoji onemocnění štítné žlázy a jater, katarakty, glaukomu, hypertenze a infarktu myokardu, plicní fibrózy atd. DEARE se vyvíjí jako součást radiačně indukovaného syndromu multiorgánové dysfunkce, ale na rozdíl od něj se hovoří pouze o poškození jedné konkrétní systémové soustavy (Micewicz et al., 2019). Časová posloupnost patofyziologických změn po vystavení vysokým dávkám IZ je znázorněna obrázkem 2.

ARS a DEARE jsou kombinací poškození dávkou a poškozením více orgánů, které se mohou vyskytnout doprovodným anebo sekvenčním způsobem. Vývoj opožděných účinků trvá měsíce až roky a nejčastěji se projeví jako fibróza. K porozumění dějů, které nastávají po radiační expozici, bylo provedeno několik pokusů na zvířatech, které napodobovaly lidskou reakci na vysokou akutní dávku záření a její léčbu. Zkoumání bylo založeno na zhodnocení a pochopení klíčových orgánově specifických a multiorgánových následků, které lze přežít v realistickém scénáři radiačního ozáření, jako jsou H-ARS, G-ARS, dále akutní poškození ledvin, opožděné poškození GIT, imunosuprese, významná ztráta tělesné hmotnosti a opožděné poškození orgánů (MOI), včetně poškození plic, ledvin a srdce. Dalším požadavkem bylo definovat radiační dávku, incidenci, závažnost a časově závislé vztahy pro akutní a opožděné následky. Dále také určit začátek, výskyt, závažnost, progresi a trvání poškození orgánů a souvisejících komorbidit závislých na dávce a času. Bylo nutné vyvinout modely, které umožní souběžné orgánové specifické poškození, jenž je nezbytné pro vývoj polyfarmacie lékařského protipatření pro určení nejučinnějšího léčebného paradigmatu MOI. Dále zavést multidisciplinární přístup k identifikaci a charakterizaci biomarkerů, které budou předpovídat klinický výsledek. Přístup k propojení multiorgánových následků ARS a DEARE závislých na dávce a čase si vyžádal vývoj dalšího modelu s využitím modelů s vysokou dávkou, šetřících modelů, spojil vývoj akutní a opožděné MOI závislý na dávce a času. Modely na myších, které

byly zaměřeny na přežití po TBI, poskytly nový pohled na interakci a potenciální kauzální vztahy mezi ARS a DEARE (MacVittie et al., 2020).

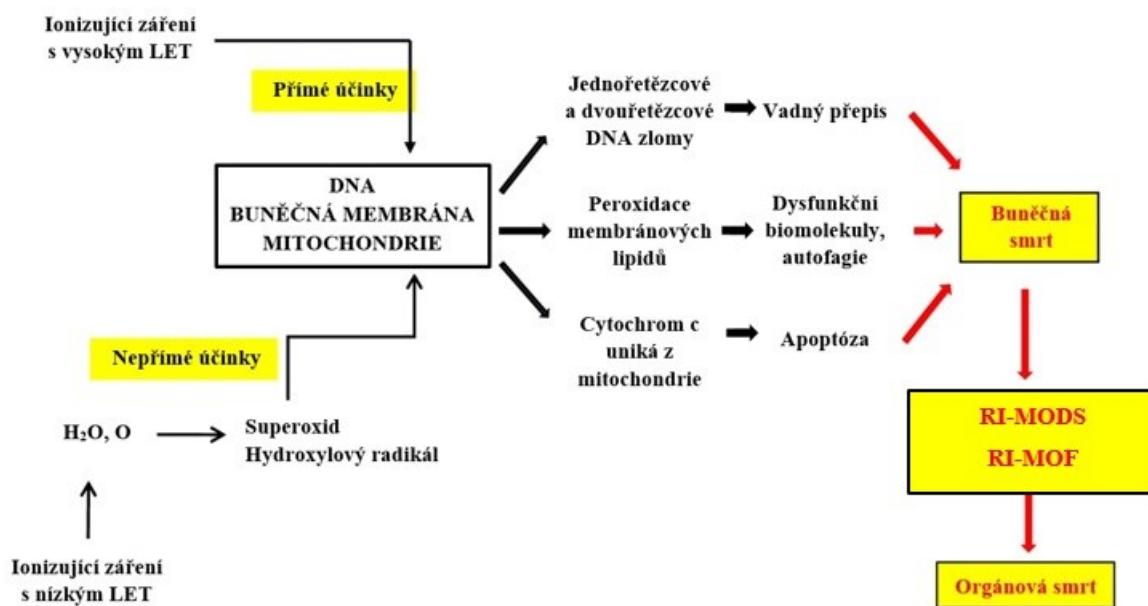


Obrázek 2 - Časová osa patofyziologických změn po vystavení vysokým dávkám IZ (Nanduri, 2021)

4 RADIČNĚ INDUKOVANÝ SYNDROM MULTIORGÁNOVÉ DYSFUNKCE A SELHÁNÍ VÍCE ORGÁNŮ

Novým konceptem dlouhodobých důsledků radiačního poškození je radiačně indukovaný syndrom multiorgánové dysfunkce (RI-MODS). V tomto konceptu se na ARS pohlíží jako na kontinuum událostí spojených s nekontrolovanými zánětlivými reakcemi a ztrátou vaskulární homeostázy, které mohou vyústit v RI-MODS. Specifické patologické mechanismy RI-MODS nejsou ještě plně objasněny, ale pravděpodobně se podobají klasickému syndromu multiorgánové dysfunkce, a dokonce vyžadují i obdobné terapeutické postupy (Tanigawa, 2021).

Na RI-MODS navazuje radiačně indukované multiorgánové selhání (RI-MOF). Jedná se o systémovou zánětlivou reakci, kdy dochází k intenzivní a nevyvážené imunitní odpovědi a následnému šíření zánětu do celého organismu doprovázené ztrátou velkého množství různých typů buněk. Pravděpodobně se jedná o množství drobných a komplexních reakcí, které zahrnují změny mikroprostředí tkáně, zejména v prostředí cytokinů, nával zánětlivých buněk před rozvojem chronického poškození tkáně a modifikaci normálních reparativních a regeneračních procesů (Williams a McBride, 2011, Dörr a Meineke, 2011). Na obrázku 3 je znázorněn mechanismus vedoucí k rozvoji RI-MODS a RI-MOF.



Obrázek 3 - Jednoduché znázornění RI-MODS, RI-MOF a výsledné úmrtnosti (King a Olabisi, 2019)

4.1 Historie

Rozpoznání a pojmenování RI-MODS v minulosti úzce souviselo s charakterizováním klasického syndromu multiorgánové dysfunkce. Během 2. světové války lékaři zjistili, že podáváním transfuzí celé krve dojde k výraznému snížení výskytu šoků vážně raněných pacientů oproti zaznamenaným případům z 1. světové války. U některých přeživších pacientů došlo k posttraumatickému selhání ledvin a následnému respiračnímu selhání. Postupně tak byl charakterizován klinický syndrom, pro který je typický vzorec postupného selhání více orgánů bez ohledu na počáteční příčinu poranění – syndrom multiorgánové dysfunkce. V průběhu let si vědci začali všimnout, že TBI vede u osob zasažených IZ k obdobnému multiorgánovému selhání, kdy po zjevném zotavení z ARS dochází k postupnému poškození kritických tkání a orgánů, čímž byl stanoven RI-MODS (Williams a McBride, 2011).

4.1.1 Černobyl

Černobylská jaderná havárie, ke které došlo krátce po půlnoci 26. dubna 1986, byla nejhorší průmyslovou radiační havárií minulého století. V důsledku chyby při plánovaném odstavení reaktoru č. 4 a následného lidského pochybení došlo k explozi uvnitř jaderného reaktoru a úniku radiace do okolí. Do té doby bylo jediným případem vystavení obyvatelstva radiaci svržení bomb na města Hirošimu a Nagasaki v roce 1945. V důsledku havárie došlo k rozvoji ARS u velkého počtu lidí, zejména zasahujících hasičů, záchranářů a zaměstnanců elektrárny. Na celotělovou dávku vyšší než 6,5 Gy zemřelo bezprostředně po explozi 28 osob, u dalších 134 osob bylo později prokázáno ARS. U těchto pacientů byla vůbec poprvé využita transplantace kostní dřeně k terapii ARS. Na základě laboratorních výsledků bylo ke transplantaci vybráno 19, z nichž však přežil pouze jeden, u kterého došlo k obnovení vlastní kostní dřeně a nepřijetí transplantátu. Na základě této události bylo v SSSR provedeno množství výzkumů, na jejichž základě byly ARS a jeho mechanismy objasněny. Během první noci zemřelo 7 lidí, z toho 2 zaměstnanci a 5 zasahujících hasičů. Během několika dalších dní se příznaky ARS projeví v různé míře u 237 osob, ale pouze u 134 z nich bylo ARS diagnostikováno. I přes poskytnutou intenzivní terapii a provedení transplantace kostní dřeně 13 pacientům zemřelo 28 lidí do 3 měsíců od expozice dávkou vyšší než 6,5 Gy v důsledku popálenin, intersticiální pneumonitidy, reakce štěpu proti hostiteli, selhání ledvin a syndromu akutní respirační tísně. Další zasažení lidé trpěli přetrvávajícím útlumem kostní dřeně a kožními projevy, například kožními vředy a dermatofibrózou (Tanigawa, 2021; Williams a McBride, 2011, Saenko et al., 2011).

4.1.2 Sorek

V izraelském městě Sorek došlo 21. června 1990 k radiační nehodě v průmyslovém podniku na sterilizaci lékařských pomůcek pomocí radioaktivního ^{60}Co . K nehodě došlo poté, co se zdrojový stojan zasekl v ozařovací pozici kvůli vzpříčeným kartonům na vnitřním dopravníku. Operátor špatně vyhodnotil situaci, obešel bezpečnostní systémy a vešel do ozařovny, kde byl vystaven celotělové dávce odhadované na 10 – 20 Gy. Zhruba po minutě v ozařovně ucítil 32letý pracovník pálení v očích a tepání v hlavě. Situaci okamžitě ohlásil nadřízenému a následně začal zvracet. Byl neprodleně převezen do nemocnice, kde začal vykazovat symptomy H-ARS a G-ARS. Do dvou hodin po expozici se u něj objevil obličejový a palmární erytém, difuzní citlivost břicha a zduření rohovky s mírným otokem dolních víček. Krevní testy prokázaly hypoxémii a hladinu lymfocytů na 2 % po pěti hodinách od nehody. Během následujících dnů se pacientův stav nijak neměnil. Třetí den večer začal znovu zvracet a trpět vodnatou stolicí. Testy provedené 4. den prokázaly 0 % lymfocytů. Transplantace kostní dřeně mu byla provedena 4. den po nehodě. Do 12. dne se jeho zdravotní stav nijak neměnil, ale následně došlo k rozvoji renální insuficience. Dále se začala zhoršovat i funkce jater se zvýšením celkového bilirubinu. Do 21. dne pacient stále trpěl nevolnostmi, zvracením a vodnatými průjmy, vysoká teplota přetrvávala i přes antibiotický režim a postupně se u něj rozvinula žloutenka. Dále vznikl erytém na rukou, hlavě a hrudníku. Projevená hypoalbuminémie vyžadovala podávání albuminu. RTG snímky hrudníku odhalily infiltráty v pravé plicí. Celkový stav se výrazně zhoršoval, až se 35. den pacient stal zmatený, dezorientovaný a rozvinula se u něj těžká hypoxie, metabolická acidóza s masivními oboustrannými intersticiálními infiltráty na RTG vyšetření hrudníku. Ke smrti došlo 36. den po nehodě (International Atomic Energy Agency, 1993; Tanigawa, 2021).

4.1.3 Nesvizh

Dne 26. října 1991 došlo také k radiační havárii v průmyslovém sterilizačním zařízení v Nesvizh v Bělorusku. Po ucpání vnitřního systému 34letý muž, operátor, vstoupil do ozařovací komory, aby odstranil překážku, a byl vystaven vysoké dávce IZ z planárního zdroje ^{60}Co v umístěného v pohyblivém stojanu. Odhaduje se, že obdržel celotělovou dávku 11 Gy s lokálními dávkami až 20 Gy. U pacienta se po 5 – 6 minutách projevila nevolnost a opakované zvracení. O 20 minut později byl přijat v nemocnici v Nesvizh, kde si v době přijetí stěžoval na bolest hlavy, únavu, bolest břicha a končetin. Dvě hodiny po expozici byla hladina jeho lymfocytů na 7 %. Léčba s GM-CSF a IL-3 byla zahájena první a šestý den. Erytém pozorovaný první den zcela zmizel do šestého dne. Hodnota granulocytů a trombocytů rychle klesla, dále

byla pozorována mukositida v ústech, vodnatá stolice a horečka. Osmý den po nehodě se rozvinula hluboká pancytopenie a těžký průjem. Kožní léze se objevily 11. den ve formě epilace se sekundárním erytémem, puchýři, malými erozemi a suchou deskvamací na různých částech těla. Ke konci prvního měsíce po nehodě byly kožní léze rozšířeny na celotělový erytém s lokalizovanou vlhkou deskvamací. Střevní krvácení bylo zpozorováno 36. den a 38. den byl vidět stín v laloku pravé plíce. Transamináza a kreatinfosfokináza byly zvýšené, s významně progredující hypoalbuminemií. Během tohoto období se počty neutrofilů a lymfocytů zvýšily, ale poté zůstaly stabilní na nižší úrovni. Vyšetření provedená 44. den prokázala zvýšenou celularitu. Výpočetní tomografie (CT) hrudníku provedené 54. den prokázalo zvýšenou infiltraci v levé plíci a v 58. den klinické příznaky oboustranné pneumonie. Došlo k dysfunkci jater, více patrné na konci druhého měsíce. Kůže levé nohy byla hyperemická s edémem podkožních tkání a povrchové eroze, bolest se v tomto období zhoršila. Pacient i nadále hubnul i přes přetrvávající parenterální výživu. Biochemické nálezy 80. den ukázaly přetrvávající cholestatický vzor, jakožto důsledek toxického účinku antibiotik na játra. Tři měsíce po expozici se objevily první známky selhání ledvin. Otevřená biopsie levé plíce, která nevykazovala žádné známky infekce byla provedena 102. den po expozici. O dva dny později se náhle zhoršil respirační stav pacienta, což mělo za následek fatální progresi syndromu akutní dechové tísně. Následně došlo k rychlému zvýšení hypoxémie a pacient 113. den po nehodě zemřel (Tanigawa, 2021).

4.1.4 Lilo

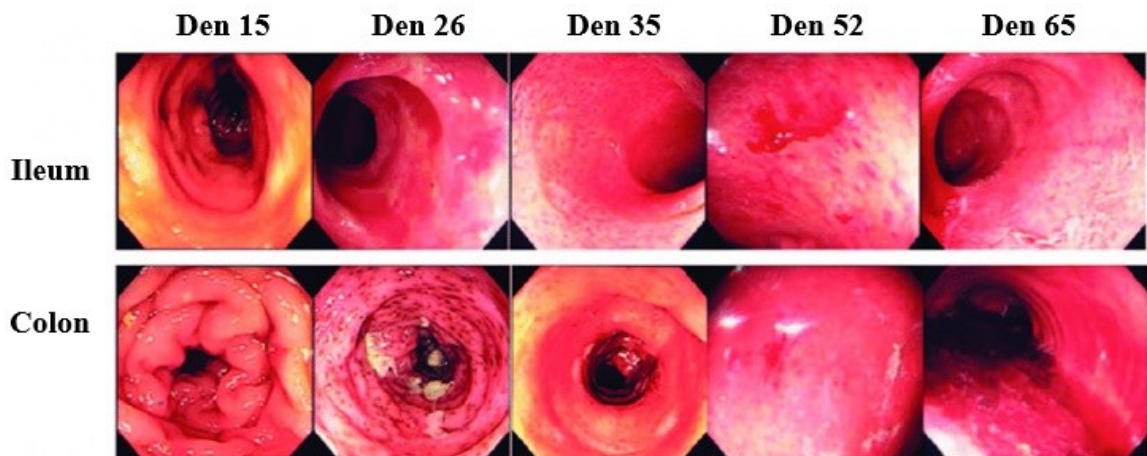
Dalším příkladem radiačního ozáření jsou pohraniční vojáci z města Lilo v Gruzii, u kterých se v průběhu roku 1997 objevila kožní poškození, o kterých se původně domnívali, že jsou popáleniny nebo projevy alergie. Po více než devíti měsících léčby a rozsáhlém šetření bylo zjištěno, že se jedná o radiační popáleniny způsobené neodbornou manipulací se zdroji IZ, konkrétně šlo o opuštěné zdroje cesia a radonu. Pozdní účinky ozáření u těchto osob naznačovaly spojitost povrchových popálenin se systémovými zánětlivými poškozeními. U těchto osob došlo ke zvýšené intracelulární adhezi, změně poměrů T-lymfocytů, expresi intercelulárních adhezních molekul 1 (ICAM-1), p1-integrinu, aberantních buněk kostní dřeně a lymfocytů, což naznačuje, že tyto opožděné účinky mohly zahrnovat systémový zánět nebo poškození imunity ve spojení s povrchovými radiačními popáleninami (Williams a McBride, 2011).

4.1.5 Tokaimura

Jedním z nejdůležitějších milníků pro pozorování RI-MODS byla radiační nehoda ve městě Tokaimura v Japonsku. Vůbec poprvé bylo prokázáno, že samo o sobě selhání kostní dřene nebylo příčinou úmrtí ARS, ale onou příčinou byla dysfunkce více orgánů následovaná jejich selháním. Dne 30. září 1999 se tři zaměstnanci, pracující pro společnost na zpracování jaderného paliva pro elektrárny, snažili urychlit výrobní proces. Při míchání dávek dusičnanu uranylu při výrobě uranu pro jaderný reaktor použili větší kontejner než obvykle. Ručně rozpouštěli oxid triuranitý o vysoké koncentraci a nalévali roztok dusičnanu do kontejneru, čímž překročili jeho hmotnostní limit, což mělo za následek kritičnost. Všichni tři pracovníci byli vystaveni masivní dávce záření. Okamžitě byli transportováni do nedaleké nemocnice a následně převezeni do Národního ústavu radiologických věd v Japonsku, kde jim byla poskytnuta podpůrná léčba. Celkem dva ze tří pracovníků téměř okamžitě po ozáření vykazovali těžkou formu ARS z ozáření jako důsledek letální radiační dávky, kterou obdržela jejich kostní dřev a kůže (Hirama a Akashi, 2005; International Atomic Energy Agency, 1999).

Nejkritičtěji zasaženým pacientem byl 35letý muž, jehož expoziční dávka byla odhadnuta podle měření ^{24}Na v krvi na 18 Gy. Ihned po expozici trpěl křečemi a o 10 minut později začal zvracet. Za 2 hodiny po nehodě se jeho hladina lymfocytů snížila na 3 %. Za dalších 5 hodin již trpěl erytémem, edémem obličeje, otoky a citlivostí podčelistních žláz. Druhý den po nehodě se u něj projevila oligurie a hypoxie, podle krevních testů neměl už žádné lymfocyty. Trpěl těžkými popáleninami a brzy u něj došlo k zvýšení vaskulární permeability, které velmi zhoršovalo hospodaření s tekutinami. Kvůli udržení krevního tlaku bylo nutné, aby přijal přes 4 litry tekutin denně. Půl hodiny po expozici začal trpět silným průjmem, který po 4 dnech náhle ustal. Plicní edém se rozvinul 3. den po nehodě a pleurální výpotek 6. den po nehodě. Po dalších 4 dnech musel být pacient intubován. Tentýž den u něj byla provedena transplantace kmenových krvetvorných buněk získaných z periferní krve. Masivní hemoragický průjem se objevil 26. den, 49. den byla stolice již hrubá, krvavá a bylo diagnostikováno krvácení do GIT. Na níže uvedeném obrázku č. 4 z kolonoskopického vyšetření je vidět, že 15. den po nehodě ještě nebyly na tlustém střevě patrné patologie, ale 26. den po nehodě byly zpozorovány skvrny na sliznici. Po 35. dnu již nebyla patrná žádná sliznice v ileu ani tlustém střevě, počet míst krvácení však vzrostl. Kožní léze se změnily z edému a erytému na puchýře a deskvamaci, která postupovala z pravého předloktí přes prekordium, obličej, levou paži po pravý bérec během několika dnů. Kůže na pravém předloktí s vysokou expoziční dávkou přešla v suchou gangrénu. Množství exsudátu z rány, která ztratila epidermis, přesáhlo 42. den po nehodě 2 litry za den,

proto byl 49. den proveden kožní štěp. Náhlá srdeční zástava nastala u pacienta 56. den. Po jedné hodině resuscitace se ho podařilo oživit, ale došlo k rozvoji anurie, a proto byla zahájena kontinuální hemodiafiltrace. Po této události se pacientovi rychle zhoršily jaterní funkce a rozvinul se hemofagocytární syndrom, po kterém se stal extrémně hemodynamicky nestabilní. Pacient zemřel na RI-MOF 82. den po nehodě (Tanigawa, 2021; International Atomic Energy Agency, 1999).



Obrázek 4 - Patologické změny v GIT u ozářeného pracovníka po incidentu Tokaimura (Igaki et al., 2008)

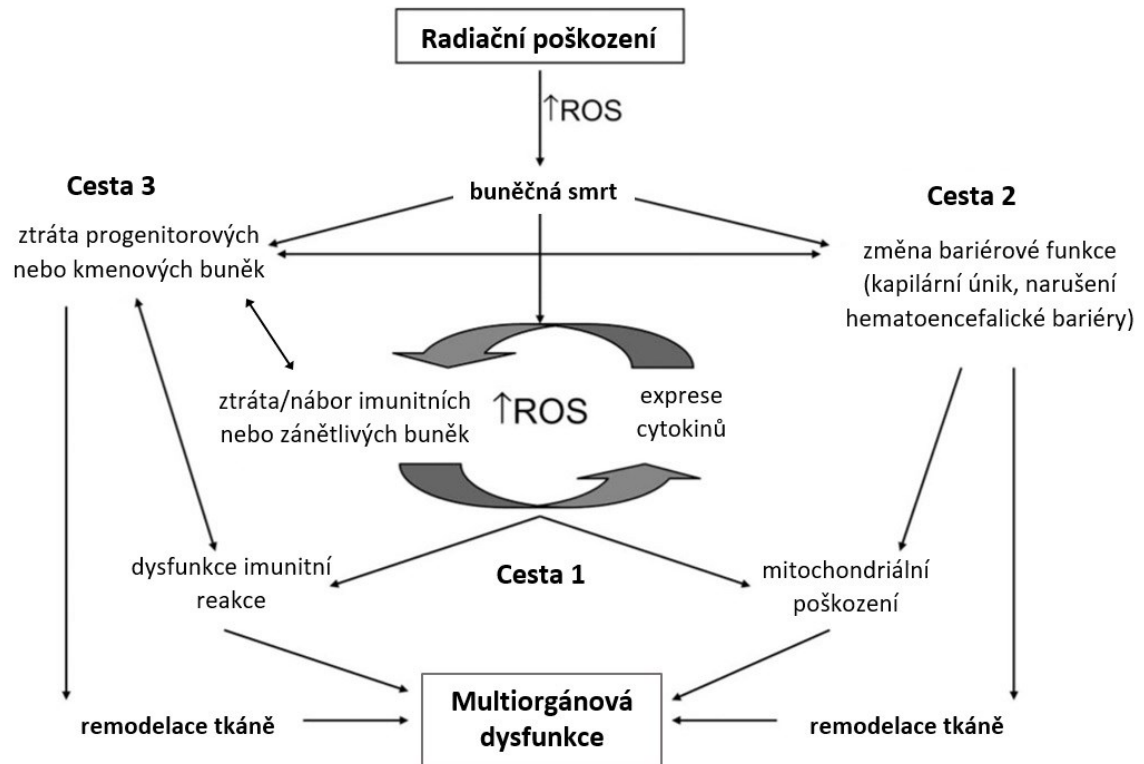
Obdržená dávka druhého pracovníka byla podle měření ^{24}Na v krvi odhadnuta na 10 Gy. I tento pracovník podstoupil transplantaci hematopoetických kmenových buněk, následovanou úspěšným připojením štepů a obnovou kostní dřeně. Kožní poškození se však nadále rozšiřovalo a zhoršovalo po celém těle, syndrom břišního kompartmentu a snížená poddajnost v důsledku vážných fibrotických a sklerotických změn kůže vedla k fatálním následkům. Průběh RI-MOF byl u něj obdobný, zemřel však až 210. den po nehodě (Williams a McBride, 2011, Tanigawa, 2021).

Nejméně ozářeným byl třetí zaměstnanec, který stál od zdroje záření nejdále a podle ^{24}Na v krvi obdržel 2,5 Gy, jako jediný přežil. Od zdroje záření byl několik metrů. Několik hodin po expozici cítil nevolnost, objevil se u něj mírný erytém a zánět spojivek. Stěžoval si na žízeň, ale jinak byl bez dalších příznaků. U tohoto pacienta byla léčba zaměřena pouze na prevenci před rozvojem infekce (Hirama a Akashi, 2005).

4.2 Radiobiologický rozvoj syndromu

Integrací klasických i moderních radiobiologických hypotéz se předpokládá, že zahájení a vývoj RI-MODS zahrnuje tři vzájemně propojené cesty, které vycházejí ze základních radiobiologických principů. První dráha zahrnuje rozvoj zánětu, reakci cytokinů na

pozměněnou imunitní odpověď a vliv ROS. Druhá dráha spočívá ve změně bariérové funkce. Třetí cestou vedoucí k rozvoji RI-MODS je ztráta kmenových nebo progenitorových buněk. Na obrázku 5 jsou znázorněny jednotlivé dráhy vedoucí k RI-MODS a RI-MOF (Williams a McBride, 2011).



Obrázek 5 - Mechanismy vedoucí k RI-MODS nebo RI-MOF po TBI (Williams a McBride, 2011)

Zánět vyvolaný zářením, který může poškodit různé orgány i roky po expozici, je jednou z nejvýznamnějších reakcí tkání na radiční ozáření. Zánět je složitý proces, který se projevuje poškozením vaskularity, migrací leukocytů do ozářené oblasti a uvolněním různých mediátorů imunitního systému. Odezvy tkání na ozáření jsou závislé na obdržené dávce, kdy se zvyšující se dávkou se zvyšuje výskyt poškození cév, hypoxie a nekrózy buněk. Tento efekt je spojen se změnami v reakci imunitního systému, což vede ke změnám v produkci cytokinů. Při vystavení buněk nízkým dávkám záření do 1 Gy dochází ke stimulaci protizánětlivých účinků, tento účinek vyplývá z vysokého výskytu apoptózy ve srovnání s nekrózou při vystavení vyšším dávkám. Naopak při vystavení vyšším dávkám než 1 Gy dochází spíše k nekróze nebo jiným typům smrti buněk než apoptóze, což vede k rozvoji zánětlivé reakce. Masivní poškození DNA a buněčná smrt po ozáření vedou k uvolnění celulózního obsahu, jako jsou molekuly, které iniciují a zároveň udržují neinfekční zánětlivou odpověď. Prostřednictvím upregulace zánětlivých mediátorů spouštějí sekrece prozánětlivých cytokinů včetně IL-1, IL-6, tumor

nekrotizující faktor α (TNF- α) apod., které s ROS vyvolaných chronickým zánětem narušují normální funkci orgánů a vedou k rozvoji autoimunitních onemocnění (Yahyapour et al., 2018).

Cytokiny jsou signální proteiny uvolňované buňkami, které mají specifický účinek na interakce a komunikaci mezi buňkami. Pojem cytokiny je obecným souhrnným označením pro lymfokiny (cytokiny vytvářené lymfocyty), monokiny (cytokiny vytvářené monocyty), chemokiny (cytokiny s chemotaktickými aktivitami) a interleukiny (cytokiny vytvářené jedním leukocytem a působící na jiné leukocyty). Podle toho, jak cytokiny působí na buňky, je rozdělujeme na endokrinní (působí na vzdálené buňky), parakrinní (působí na sousední buňky) a autokrinní (působí na buňky, které je vylučují). Různé typy buněk běžně produkují stejný cytokin a stejně tak jeden cytokin může působit na několik různých typů buněk, přičemž podobné funkce mohou být stimulovány různými cytokiny. Často jsou produkovány v kaskádě, jelikož jeden cytokin stimuluje své cílové buňky k produkci dalších cytokinů. Cytokiny jsou tvořeny mnoha buněčnými populacemi, ale převládajícími producenty jsou T-lymfocyty a makrofágy. Mohou být produkovány v periferní nervové tkáni a dále touto tkání během fyziologických a patologických procesů rezidentními a rekrutovanými makrofágy, mastocyty, endoteliálními buňkami a Schwannovými buňkami. Prozánětlivé cytokiny jsou produkovány převážně aktivovanými makrofágy a podílejí se na upregulaci zánětlivých reakcí, jedná se například o IL-1, IL-6 a TNF- α , které se podílejí na procesu patologické bolesti. Protizánětlivé cytokiny jsou série imunoregulačních molekul, které řídí prozánětlivou cytokinovou odpověď. Cytokiny působí ve shodě se specifickými inhibitory cytokinů a rozpustnými cytokinovými receptory k regulaci lidské imunitní odpovědi. Mezi hlavní protizánětlivé cytokiny patří antagonisty receptoru IL-1, IL-4, IL-10, IL-11 a IL-13. Skupina cytokinů transformující růstový faktor β (TGF- β) je profibrotickým mediátorem, která je sekretována makrofágy i poškozenou tkání. Tyto fibrotické cytokiny jsou součástí fibrotického procesu, při kterém dochází k poškození plic (Zhanq a An, 2007; Dinarello, 1997).

Běžně jsou v organismu ROS produkovány mitochondriemi a v nízkých hladinách slouží k udržování homeostázy buněk jako součásti signalizačních drah. Vysoké koncentrace ROS však mohou vést k závažnému poškození DNA a řadě buněčných reakcí včetně zastavení buněčného cyklu, stárnutí apod. Významný děj s radiobiologickým efektem je reoxygenace, ke které dochází při ozařování. ROS jsou indukovány a velmi účinně poškozují buněčnou DNA. Jako kyslíkový efekt je označován vliv koncentrace kyslíku na radiosenzitivitu tkáně. Ionizace média a sekundární poškození biomolekul prostřednictvím volných radikálů a dalších radioaktivních agens vzniklých radiolýzou vody jsou nepřímým účinkem záření. Patří mezi ně

vodíkový radikál ($H\cdot$), hydroxylový radikál ($OH\cdot$), vodíkový kation (H^+), dále ve vodním prostředí vznikající oxoniový kation (H_3O^+), hydroxylový anion (OH^-), peroxid vodíku (H_2O_2) a hydratovaný elektron (e_{aq}^-). Vzhledem ke krátké životnosti volných radikálů dochází k narušování biomolekul v bezprostřední blízkosti jejich vzniku chemickou cestou. Pokud se buňky nacházejí v okysličeném prostředí, tvoří se další reaktivní formy ROS. Mezi tyto reaktivní formy kyslíku patří hydroperoxidový radikál ($HO_2\cdot$) a superoxidový anion-radikál ($O_2^{\cdot-}$), tzv. superoxid (Havránková, 2020, s. 68; Lehnert a Iyer, 2002).

Kontinuita endoteliální bariéry je kritická pro homeostázu normální tkáně. Regulovaný průchod plynů, živin, vody, makromolekul a iontů vyžaduje dynamické funkce endoteliální bariéry, které v případě radiačního poškození nefungují správně. Cévní endoteliální buňky se podílejí na udržování vaskulární permeability prostřednictvím kontroly jejich buněčných kontaktů a intracelulárního transportu pro transecytózu. Radiační expozice destabilizuje endoteliální bariéru, zvyšuje vaskulární permeabilitu a mění vezikulární transport (Roxane et al., 2021).

Obnova tkání a orgánů postižených IZ je kriticky závislá na repopulaci kmenových buněk, které mají schopnost sebeobnovy i diferenciací. Kmenové buňky hematopoetického i epiteliálního původu sídlí v niche – diferencovaných oblastech buněčného mikroprostředí. Podpůrné buňky hematopoetického mikroprostředí přispívají nejen k repopulaci kmenových buněk, ale také k udržení jejich klidového nebo neproliferativního stavu, což umožňuje nejprimitivnějším hematopoetickým kmenovým buňkám zůstat v necyklujícím stavu chráněném před přímo ozářenými buňkami. Četnými studiemi bylo prokázáno, že jak hematopoetické kmenové buňky, tak populace mezenchymálních kmenových buněk se podílejí na opravě poškození vzdálených epiteliálních i jiných hematopoetických míst poškozených ionizujícím zářením díky své schopnosti migrovat cirkulací. Jako důkaz slouží experimenty na myších, u kterých často docházelo při stínění jedné končetiny při TBI k úplné rekonstrukci a hematopoetické obnově (Greenberger a Epperly, 2009).

4.2.1 Dráha 1 – zánět, imunita a reaktivní formy kyslíku

Obecně se věřilo, že dysfunkce vícero orgánů je výsledkem nadměrné systémové zánětlivé reakce na iniciační poškozující spouštěč. Soubor důkazů v radiobiologii podporuje roli akutního nebo chronického zánětu ve vývoji pozdních účinků normální tkáně, a tedy i v rozvoji RI-MODS. Četnými studiemi bylo prokázáno, že okamžitá reakce (tj. do 24 hodin) na radiační poškození po TBI je pozorovaná v tkáni plic a v dalších tkáních včetně mozku, GIT a kůže. Souvislost mezi akutním zánětem a chronickými následky byla pozorována v průběhu dnů,

týdnů a měsíců po ozáření. Ukázalo se, že se cyklicky opakuje období zvýšené prozánětlivé molekulární exprese, například IL-10, TGF- β , nebo prostaglandinů v ozářených normálních tkáních čímž vzniká vzor, který byl původně popsán jako tzv. věčná kaskáda cytokinů. Tyto cyklické děje byly také pozorovány a navrženy jako mechanismus RI-MODS již v 80. letech 20. století. Tato nespécifická, ale široce založená korelace mezi zánětem a normální pozdně reagující tkání naznačuje, že zánět hraje významnou roli v patofyziologii opožděných účinků. Cytokinové prostředí a jeho důsledek na pozměněnou imunitní odpověď u normálního poškození tkáně slouží k vysvětlení přetrvávání aberantní reakce na hojení ran pozorované v jednotlivých orgánech po radiačním poškození. Ačkoli nebylo přesvědčivě prokázáno, že tyto „vlny“ cytokinů mají funkční souvislost s patologickým koncovým bodem, tuto hypotézu výrazně podporuje post radiační poškození v plicích. Specifická podmnožina makrofágů, která je spojena s časným pneumonickým obdobím, exprimuje vysoké hladiny cytokinů a může proto tvořit kritickou složku patogenní vlny. Cytokiny jsou významné i pro svůj diagnostický potenciál, který může být využit ke zlepšení účinnosti radioterapie při léčbě rakoviny. Imunitní dysregulace byla rovněž navržena jako významný faktor ve vývoji RI-MODS. Obě tyto hypotézy se vyvinuly z literatury o infekcích a imunitě, zejména z konceptu, že tělo reaguje na signály vyvolané zraněnými, umírajícími nebo mrtvými buňkami. V rámci vytváření imunitní odpovědi bylo prokázáno, že monocyty a makrofágy v těle rozpoznají infekci nebo trauma pomocí vícero molekulárních receptorů (Williams a McBride, 2011; Silk a Margolin, 2019; Lierová et al., 2018).

Dále se předpokládá, že chronický oxidační stres hraje roli v progresi pozdního účinku, zejména produkce ROS v mitochondriích. Bezprostřední poškození, které pozorujeme jako výsledek expozice IZ, je způsobeno masivní, i když přechodnou produkcí ROS a reaktivních forem dusíku (RNS) zánětlivými buňkami. Nicméně pozorované vzory zánětlivých buněk a tvorba cytokinů samy o sobě mohou vést ke vzniku chronických patologických hladin ROS/RNS, které vedou k progresi tkáňových deficitů. Nepřímá data skutečně naznačují, že ROS, uvolňované nikotinamid adenindinukleotid fosfát (NADPH) oxidázou, xanthin oxidázou a oxid dusnatý syntázovou aktivitou, jsou produkty radiací indukovaného dysfunkčního mitochondriálního dýchacího řetězce. Chronická produkce ROS tedy může hrát klíčovou roli při opožděném poškození normální tkáně, protože byla pozorována v normálních tkáních, včetně mozku, kůže a kostní dřeně týdnů až měsíců po radiačním poškození (Denham a Hauer-Jensen, 2002; Williams a McBride, 2011).

4.2.2 Dráha 2 – integrita bariéry

Účinek IZ na cévy má významný dopad na radiobiologii normální tkáně. Dříve existovaly dvě základní protichůdné hypotézy, které sloužily k vysvětlení pozdních účinků normální tkáně. Jedna předpokládala, že cílovými buňkami pro pozdní poškození tkáně jsou kmenové buňky v kritických populacích v parenchymu (ztráta buněk vedoucí k repopulaci nebo přestavbě tkáně). Druhá pracovala s myšlenkou, že kritickými cílovými buňkami jsou populace vaskulárních endoteliálních buněk a základní příčinou pozdních účinků byla dysfunkce v mikrocirkulaci. Endoteliální buňky tvoří mechanickou bariéru a zároveň jsou velmi metabolicky aktivní tkání, která reguluje cévní funkce, například tonus a permeabilitu. Poškození endoteliální výstelky mechanicky, fyzikálně-chemicky nebo imunologicky může vést k cévním komplikacím. Nejnovější přístup k mechanismům, které jsou základem pozdního radiačního poškození, upravují dřívější teorie s důrazem na integritu bariéry. Ke změnám vaskulární permeability vlivem záření dochází přímými a nepřímými mechanismy. Mezi přímé mechanismy záření patří rychlé ukládání energie ve tkáních, které způsobuje přímé poškození biologických makromolekul a vytváří ROS, které vedou k vyvolání redoxního stresu a zlomům DNA. Nepřímé mechanismy zahrnují aktivaci imunitního systému nezávisle na bezprostředním dopadu záření. Kombinace přímého a nepřímého účinku na vaskulární funkci přispívá k opožděným a pozdním poškozením v jiných tkáních. Endoteliální buňky hrají zásadní roli při radiaci vyvolaných zánětlivých onemocněních a trombotických procesech. Tyto buňky nepůsobí pouze jako bariérová výstelka krevních cév, ale jsou také zapojeny do mnoha homeostatických procesů včetně poskytování funkčních prvků při zánětu, imunitě, koagulaci a angiogenezi. Radiační poškození zřejmě narušuje tyto funkce a exacerbace je pravděpodobným výsledkem vysoké dávky TBI. Časně patologické léze mohou být rozpoznány v endoteliálních buňkách formou zduření cytoplazmy, nepravidelnosti v plazmatické membráně vedoucí k tvorbě pseudopodií, což může vést k ucpání cév a následné tkáňové hypoxii. Fyziologicky může ztráta buněk vést k narušení integrity stěny cévy a vést ke změnám vaskulární permeability, která byla pozorována jak preklinicky, tak i klinicky po ozáření (Williams a McBride, 2011; Vrablík et al., 2011; Roxane et al., 2021).

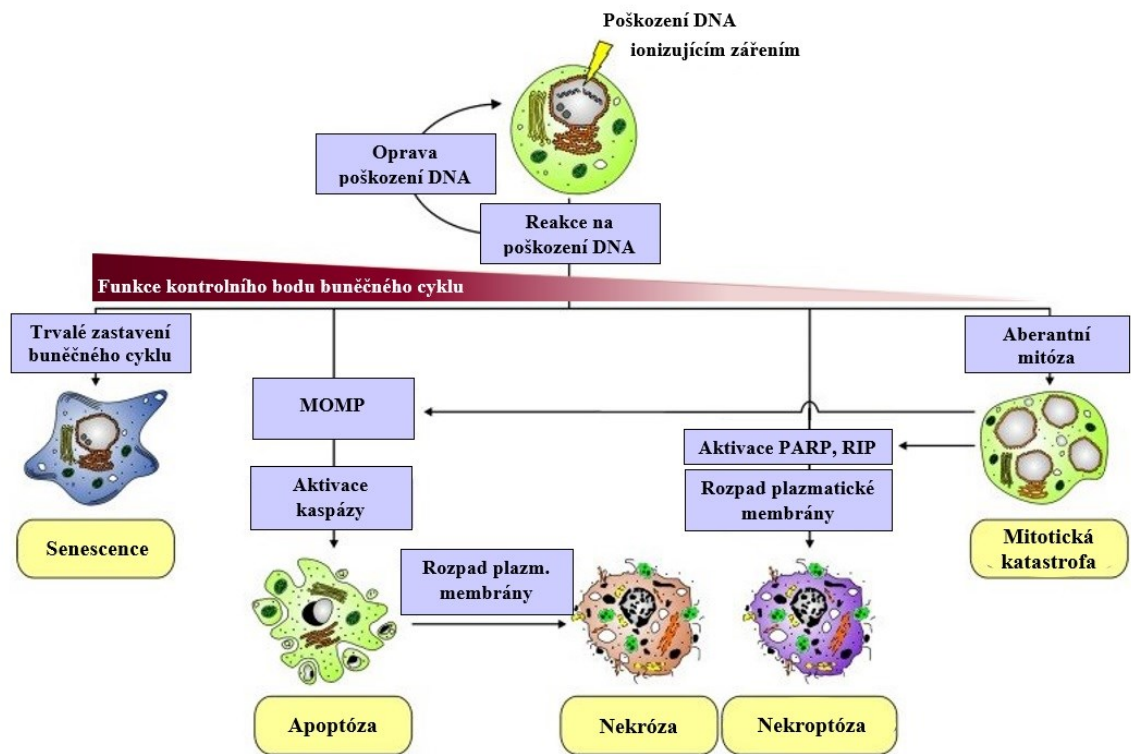
Endoteliální buňky exprimují receptory pro TNF- α a IL-1 a další cytokiny na jejich přítomnost mohou přímo reagovat. Alternativně může radiací indukované poškození cév umožnit cytokinům pronikat bariérou a vniknout do tkání. TNF- α a vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) urychlují progresivní změny v hemostatické rovnováze a změny průtoku krve v mikrovaskulatuře i v nepřítomnosti radiačního poškození a pravděpodobně v různé době po

expozici dochází k zhoršení. V tomto kontextu by iniciační vaskulární léze mohla být dostatečná ke stimulaci další vaskulární dysfunkce nebo proliferace parenchymálních buněk a radiací indukované buněčné smrti a následnému RI-MOF se zrychleným časovým průběhem. Ve vztahu mezi zánětem a vaskulární permeabilitou u všech normálních tkání je těžké určit, co předchází čemu. K radiační reakci cévní tkáně dochází ve dvou vlnách. Akutním cévním změnám do 24 hodin dominuje zářením indukovaná apoptická buněčná smrt endoteliální buňky. Pozdní vaskulární účinky nastávají během měsíců po ozáření a zahrnují kolaps kapilár, ztluštění bazální membrány a zjizvení okolní tkáně. Vaskularita však není jedinou bariérou v lidském těle, na kterou má záření vliv. Například ztráta kryptových buněk vyvolaná zářením může vést k poruše složitého střevního prostředí, zejména v epiteliální slizniční vrstvě, s následkem šíření infekce vedoucím ke smrti jako součásti ARS. Infekce také byla primární příčinou smrti u pacientů, kteří zemřeli na rozsáhlé popáleniny v Černobylu. Integrita kůže může tedy hrát stejně důležitou roli homeostázy jako GIT (Roxane et al., 2021; Williams a McBride, 2011; Rodemann a Blaese, 2007).

4.2.3 Dráha 3 – ztráta kmenových buněk

Nejzásadnějším a nejzákladnějším důsledkem radiačního poškození je buněčná smrt v důsledku makromolekulárního poškození, především v DNA. Poškozené buňky se „rozhodnou“ zemřít různými cestami. Dva základní způsoby, kterými buňka zaniká, je apoptóza a nekróza. V případě apoptózy dochází k úmrtí konkrétní buňky z důvodu složité kaskády proteolytických enzymů a kaspáz, bez vlivu na okolní buňky. Pro apoptózu je používán pojem „buněčná sebevražda“, protože se jedná o aktivní řízený proces, který zahrnuje spotřebu adenosintrifosfátu a expresi specifických genů, a signály pro jeho spuštění vychází z buňky samotné. V buňkách, které byly ozářeny, je apoptóza způsobena především přítomností neopravených nebo neopravitelných zlomů DNA. Nekrózou buňka zaniká působením vnějších vlivů, například infekcí, mechanickým či chemickým působením. Nekróza buňky vede k rozvoji zánětu, protože dochází k prasknutí cytoplazmatické membrány a vylití obsahu buňky do okolí. V případě vysokých dávek ionizujícího záření podléhá buňka nekróze z důvodu závažného poškození DNA, proteinů, membrány a buněčné organely. Dalšími formami buněčné smrti je mitotická katastrofa a autofagie, která pomáhá eliminaci poškozených buněk udržovat homeostázu a přežít nejrůznější stresy, mezi které patří i ozáření. Dalším typem buněčné smrti, která v důsledku buněčného stresu nebo poškození DNA po ozáření může nastat, je nekroptóza. Jedná se o programovanou buněčnou smrt, která je závislá na aktivitě kináz

a polymeráz (Havránková, 2020; Williams a McBride, 2011; Záleská, 2013). Na níže uvedeném obrázku 6 jsou znázorněny buněčné smrti indukované IZ.



Obrázek 6 - Různé typy buněčné smrti indukované IZ (Lauber, 2012)

Obecně se věřilo, že hematopoetické a gastrointestinální kmenové buňky jsou vysoce radiosenzitivní, jelikož tyto oblasti vykazovaly apoptické ztráty buněk vyvolané IZ. Oproti tomu ztráta kritických kmenových buněk, zejména z parenchymu, které byly stimulovány k expresi poškození při dělení za účelem nahrazení ztracených buněk, poskytla mechanismus pro vývoj pozdního účinku. Akutní systémové poškození hematopoetického systému bylo také pozorováno po vnitřní kontaminaci buď vdechnutím, nebo požitím. Kmenové buňky, včetně těch hematopoetických, sídlí chráněné v tzv. niche – „výklencích kmenových buněk“. Hlavní funkcí niche je zachovat proliferační potenciál a multipotenci kmenových buněk, což zajišťuje řízenou obnovu kmenových buněk a aktivaci pro regeneraci tkání. Regulace těchto výklenců, zejména v kostní dřeni, vyžaduje vytvoření rovnováhy mezi sebeobnovou a diferenciací, přičemž tato rovnováha se stává kritickou v době poranění. Niche kmenových buněk kostní dřene se podařilo charakterizovat a z hlediska regulace prokázat, že se vyskytují prostřednictvím buněk v mikroprostředí kostní dřene, tedy v prostředí, které zahrnuje například osteoblasty, osteoklasty a endoteliální buňky. V kontextu radiačního poškození bylo prokázáno, že niche kmenových buněk kostní dřene je relativně hypoxické, a protože kmenové buňky existují v klidovém nebo velmi pomalu cyklicím stavu, jsou tedy relativně radiačně odolné.

Během období akutní odpovědi dochází k významným a rozdílným změnám v populacích kmenových buněk a progenitorů. V důsledku toho by k následné obnově a rekonstrukci hematopoetického systému po TBI došlo prostřednictvím mobilizace a diferenciaci nepoškozených nebo více chráněných hematopoetických kmenových buněk, což by poskytovalo vysvětlení pro úspěchy zaznamenané prostřednictvím použití pouze konzervativní léčby (Williams a McBride, 2011).

Kromě akutní reakce na záření může dojít k dlouhodobému projevu poškození v kompartmentu kostní dřeně. Dochází k signifikantnímu pozdnímu poškození hematopoetického systému po zevním ozáření i vnitřní kontaminaci, přičemž nejvýraznějším zjištěním je významný pokles počtu a funkce hematopoetických kmenových buněk (HSC) v krátkodobém horizontu. Chronické změny (zejména v kontextu vnitřní kontaminace, která vede k trvalému systémovému ozáření nízkou dávkou) jsou v souladu s předchozími pozorováními jiných vědeckých týmů. Hematopoetické progenitorové buňky přispívají k pokračujícímu náboru a aktivaci zánětlivých a imunitních buněk a narušení mikroprostředí kostní dřeně a naznačují, že normální tkáňová poranění pozorovaná v souvislosti s celkovou expozicí těla mohou zahrnovat dlouhodobé účinky na hematopoézu a dysfunkci HSC, stejně jako podporovat koncept přeslechů probíhajících mezi všemi třemi navrhovanými cestami. Taková narušení mohou mít nepřímé i přímé důsledky na opožděné účinky v jiných tkáních a orgánech v důsledku změn v zánětlivých a imunitních buněčných odpovědích. Populace progenitorových buněk derivovaných z kostní dřeně by zřejmě mohly hrát roli při hojení ran a také pozdní radiační fibróze v různých tkáních. Narušení mikroprostředí kostní dřeně může ovlivnit diferenciaci imunitních buněk na osteoklasty, jako jsou myší dendritické buňky, prostřednictvím interakce mezi kostí a imunitním systémem. Podle klasické radiobiologie jsou změny v obsahu kmenových buněk a narušení jednotlivých funkčních podjednotek, které tvoří strukturální organizaci těchto tkání, kritickými událostmi v homeostatické dysregulaci. Kromě kostní dřeně existují niche kmenových buněk v dalších orgánech, včetně nervového systému a kůže. Kmenové buňky v subgranulární zóně dospělého mozku jsou citlivé na záření, přičemž poranění a ztráta buněk ovlivňuje neurogenezi a potenciálně i kognitivní funkce. Tyto změny souvisí s redoxními a zánětlivými stavy. Signalizace neurotransmiterů je součástí obranných a opravných mechanismů hostitele a fyziologické interakce mezi nervovým, imunitním a hematopoetickým systémem. Tyto děje jsou důležitým koncovým bodem (Williams a McBride, 2011).

4.2.4 Další úvahy

Poslední hypotéza se týká post-traumatických RI-MODS, známá jako tzv. model dvou zásahů. Tato teorie udává, že první zásah nebo poranění „připraví“ reagující leukocyty, tudíž druhý menší zásah vyvolá nadměrnou zánětlivou reakci, která nakonec vede k RI-MODS. Studie *in vitro* ukázaly, že ozařování má spíše primární účinek na produkci prozánětlivých cytokinů než přímou podporu vysokých hladin sekrece, další stimul lipopolysacharidu však vede k velmi vysokým hladinám. Tato zjištění jsou významná vzhledem k pravděpodobnosti kombinovaného poškození při radiologické nebo jaderné události. Záření podporuje nerovnováhu mezi prozánětlivými a protizánětlivými cytokiny, což vede k imunologické dysfunkci vedoucí ke kombinovanému poškození, které zhoršuje počáteční traumatické poškození a dále narušuje homeostázu. Tělo si zřejmě vyvinulo mechanismy, jak se vypořádat s lokálním selháním v tkáních a orgánech, ale má minimální schopnost vyrovnat se se selháním systémů, které jsou společné pro více tkání a které mohou být ovlivněny více příčinami. Výsledná porucha homeostázy může potenciálně vyústit v život ohrožující situace v důsledku RI-MOF. Složitost základních mechanismů naznačuje, že je nepravděpodobné, že by zmírnění jakékoli jednotlivé cesty nebo procesu zajistilo úplné zmírnění škod (Williams a McBride, 2011).

4.3 Terapie

Pro správné určení léčebné strategie je potřeba pochopit mechanismy, které předchází rozvoji RI-MODS a RI-MOF. Léčebné strategie, které se v dnešní době využívají, jsou zaměřené pouze na známé pozdní účinky u normálních tkání jednotlivých tkáňových struktur. Je tedy nutné vyvíjet a podávat radioprotektory (látky, které se podávají před nebo v době ozáření), radiomitigátory (jsou podávány během nebo těsně po ozáření, zmírňují účinek záření) a radioterapeutika (aplikují se po prvních příznacích) podle konkrétního radiačního poškození (Williams a McBride, 2011).

V praktické části této práce jsou zahrnuty vybrané pokusy na zvířecích modelech zaměřené na popis a detailnější charakterizaci průběhu DEARE, RI-MODS a RI-MOF a na dostupné terapeutické postupy těchto syndromů po ozáření.

REŠERŠNÍ ČÁST

5 METODIKA PRAKTICKÉ ČÁSTI

Cílem praktické části této bakalářské práce je vytvořit přehled o proběhlých pokusech na zvířecích modelech, která byla celotělově ozářena, shrnout získané informace a dále posoudit jejich přínos pro objasnění mechanismů DEARE, RI-MODS a RI-MOF a případné terapie.

5.1 Popis JBI protokolu pro PCC otázku

Ke zpracování praktické části byl zvolen přístup scoping rešerše v souladu s The Joanna Briggs Institute (JBI) a metodikou PRISMA Extension for Scoping Reviews. K dosažení cílů byl zvolen JBI protokol, který slouží k vyhledávání ve velkém množství literatury s cílem vytvořit přehled výzkumu na dané téma, určit rozsah dostupných studií a shrnout výsledky výzkumu. JBI protokol předdefinuje cíle a metody průzkumu a na jeho základě jsou nadefinovány PCC otázky (P= populace(population); C= koncept (concept); C= kontext (context), na které bychom chtěli získat odpovědi z dostupné literatury. K vybrání relevantních článků byla stanovena kritéria vyloučení a zařazení. Zahrnuty byly experimentální studie probíhající na pokusných zvířatech publikované v anglickém jazyce před 1. dubnem 2022. Vyřazeny byly studie, které byly zaměřeny na studium, popř. nové terapie ARS (30 – 60 dní po ozáření), *in vitro* a *ex vivo* studie, studie s jiným než ionizujícím gama nebo RTG zářením o vysokých dávkách, stanovení důsledku chemoterapie, nové léčby na lidech po radioterapii nebo se zaměřovaly jen na poškození jedné orgánové soustavy po radiační terapii a její případnou terapii u lidí. Také byly vyřazeny přehledové články a články v jiném než anglickém jazyce. Zařazovacími kritérii prošly články, které prošly oponentským řízením v časopise (Peters et al., 2020, Tricco et al., 2018; Klugar, 2015). Rešeršní otázka byla zvolena na základě JBI protokolu:

Jaké jsou v současné době dostupné informace z probíhajících experimentů ke studiu DEARE, RI-MODS a RI-MOF a existuje / je testována pro dané syndromy terapie?

5.2 Vybrané databáze

K vyhledání vhodných článků byly využity dvě databáze. První z nich je mezinárodní databáze PubMed (databáze 1) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>. Tato volně přístupná databáze je provozována Národní knihovnou medicíny Spojených států amerických a obsahuje impaktované recenzované zdroje a abstrakty biomedicínských odborných článků s odkazy na plné verze. Druhou databází je Scopus (databáze 2) <https://www.scopus.com/>. Tato multioborová databáze, provozovaná nizozemským nakladatelstvím Elsevier, poskytuje

registrovaným uživatelům recenzované zdroje a abstrakty z vědeckých časopisů z oblasti přírodních věd, technických věd, společenských věd a medicíny.

5.3 Zvolená klíčová slova

Jak už bylo zmíněno, kritérium P = populace byla zvolena na experimentální zvířecí modely, proto veškeré studie probíhající na lidech nebyly zahrnuty. Pro vyhledávání v obou databázích byla zvolena tato klíčová slova:

- C = koncept: delayed effects of acute radiation exposure, radiation induced multiple organ dysfunction syndrome, radiation induced multiple organ failure syndrome, DEARE, RI-MODS, RI-MOF,
- C = kontext: treatment, mitigation, drug, therapy.

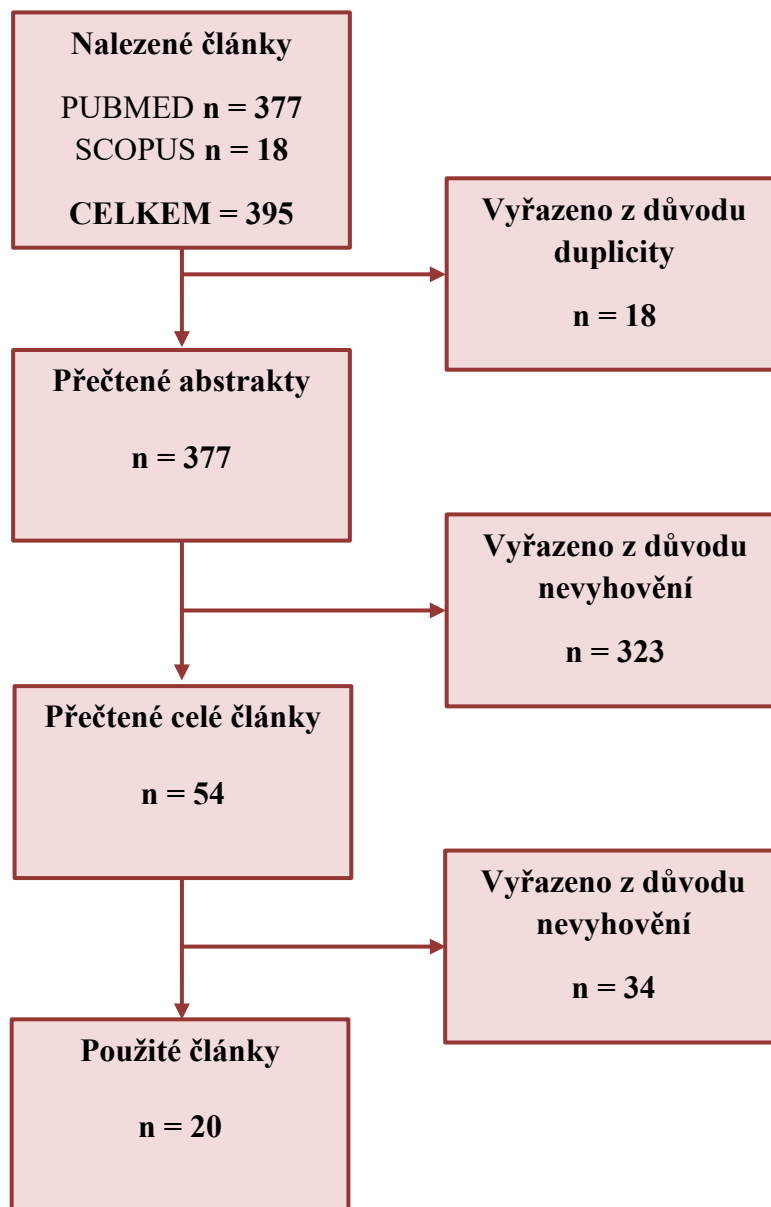
Mezi synonyma byl vkládán Booleovský operátor „OR“ který výrazy spojuje. Pro specifikaci vyhledávaných studií byl použit operátor „AND“. Tato slova byla doplněna operátorem NOT REVIEW. Aby bylo zajištěno optimální vyhledávání, byla vyhledána jak plná znění názvů syndromů, tak zkratky. Tato klíčová slova byla vybrána za účelem nalezení článků, které budou vyhovovat požadavkům na splnění PCC otázky. Počty výsledků jsou uvedeny v tabulce č. 1. Klíčová slova byla vyhledávána pouze v anglickém jazyce a zahraničních databázích, jelikož se jedná o novou problematiku, která se v českých zdrojích zatím nevyskytuje.

5.4 Výsledky hledání

Články byly v databázích prohledávány ručně s využitím tříkrokové vyhledávací strategie podle JBI. V databázi PubMed bylo nalezeno 377 článků a v databázi Scopus 18 článků. Jako první byl porovnán název článku se zadanými kritérii. U publikací, které vyhověly prvnímu kroku, byl přečten abstrakt a znovu porovnán s kritérii. Posledním krokem bylo vyhodnocení po přečtení celého textu. Postup výběru článků je znázorněn flowchart grafem na obrázku 7. Články byly nejčastěji vyloučeny na základě duplicity obou databází (18) a nevyhovění kritériím (323). Zařazeny byly studie zabývající se experimentálními studiemi a terapií RI-MODS na myších, potkanech a nehumánních primátech. Na lidech výzkum neprobíhá. Po provedení tříkrokové vyhledávací strategie bylo do praktické části zahrnuto 20 článků uvedených v tabulce 2. V této tabulce jsou souhrnně uvedeny zahrnuté studie z obou databází.

Tabulka 1 - Výsledky vyhledávání a použitá klíčová slova pro vyhledávání v databázi 1 a databázi 2

Klíčové slovo	PUBMED databáze 1	SCOPUS databáze 2
Delayed effects of acute radiation exposure	599	282
Radiation induced multiple organ dysfunction syndrome	46	16
Radiation induced multiple organ failure syndrome	18	10
DEARE	33	25
RI-MODS	1	6
RI-MOF	1	2
Total OR	649	323
Treatment	9 150 483	7 026 380
Mitigation	117 968	104 399
Drug	4 954 451	7 292 438
Therapy	7 475 636	3 725 525
Total OR	11 004 147	13 465 123
Total AND + NOT review	377	18



Obrázek 7 - Flowchart postupu vyhledávání článků pro praktickou část práce

6 VÝSLEDKY

Celkově bylo do praktické části zahrnuto 20 článků (tabulka č. 2). Tyto články byly následně rozděleny na studie zabývající se experimentálními modely na studium DEARE, RI-MODS / RI-MOF (9) a studie zabývající se experimentálními látkami k terapii uvedených syndromů (11).

Tabulka 2 - Přehled článků zahrnutých do praktické části práce

Č.	Název	Autor, rok	Země
EXPERIMENTÁLNÍ MODELY NA STUDIUM RI-MODS			
1.	Delayed Effects of Acute Radiation Exposure in a Murine Model of the H-ARS: Multiple-Organ Injury Consequent to <10 Gy Total Body Irradiation	Unthank et al., 2015	USA
2.	Evidence of delayed gastrointestinal syndrome in high-dose irradiated mice	Booth et al., 2012	USA
3.	The Delayed Effects of Acute Radiation Syndrome: Evidence of Long-Term Functional Changes in the Clonogenic Cells of the Small Intestine	Booth et al., 2015	USA
4.	Cardiac and Renal Delayed Effects of Acute Radiation Exposure: Organ Differences in Vasculopathy, Inflammation, Senescence and Oxidative Balance	Unthank et al., 2019	USA
5.	WAG/RijCmcr rat models for injuries to multiple organs by single high dose ionizing radiation: similarities to nonhuman primates (NHP)	Fish et al., 2020	USA
6.	The prolonged gastrointestinal syndrome in rhesus macaques: the relationship between gastrointestinal, hematopoietic, and delayed multi-organ sequelae following acute, potentially lethal, partial-body irradiation	MacVittie et al., 2012	USA
7.	Organ Doses Associated with Partial-Body Irradiation with 2.5% Bone Marrow Sparing of the Non-Human Primate: A Retrospective Study	Prado et al., 2017	USA
8.	Monocyte Polarization is Altered by Total-Body Irradiation in Male Rhesus Macaques: Implications for Delayed Effects of Acute Radiation Exposure	Michalson et al., 2019	USA

9.	A Comparative Dose-response Relationship Between Sexes for Mortality and Morbidity of Radiation-induced Lung Injury in the Rhesus Macaque	Thrall et al., 2019	USA
EXPERIMENTÁLNÍ LÁTKY K TERAPII RI-MODS			
10.	The Aftermath of Surviving Acute Radiation Hematopoietic Syndrome and its Mitigation	Micewicz et al., 2019	USA
11.	Delayed effects of acute whole body lethal radiation exposure in mice pre-treated with BBT-059	Sharma et al., 2020	USA
12.	A Potential Role for Excess Tissue Iron in Development of Cardiovascular Delayed Effects of Acute Radiation Exposure	Miller et al., 2020	USA
13.	Sex-dependent effects of genetic upregulation of activated protein C on delayed effects of acute radiation exposure in the mouse heart, small intestine, and skin	Sridharan et al., 2021	USA
14.	Polypharmacy to Mitigate Acute and Delayed Radiation Syndromes	Gasperetti et al., 2021	USA
15.	Radiation Increases Bioavailability of Lisinopril, a Mitigator of Radiation-Induced Toxicities	Medhora et al., 2021	USA
16.	Delayed Effects of Acute Radiation Exposure (Deare) in Juvenile and Old Rats: Mitigation by Lisinopril	Medhora et al., 2019	USA
17.	Wound Trauma Exacerbates Acute, but not Delayed, Effects of Radiation in Rats: Mitigation by Lisinopril	Medhora et al., 2020	USA
18.	Cardiac Remodeling and Reversible Pulmonary Hypertension During Pneumonitis in Rats after 13-Gy Partial-Body Irradiation with Minimal Bone Marrow Sparing: Effect of Lisinopril	Jacobs et al., 2019	USA
19.	Combined Hydration and Antibiotics with Lisinopril to Mitigate Acute and Delayed High-dose Radiation Injuries to Multiple Organs	Fish et al., 2016	USA
20.	Lack of Cellular Inflammation in a Non-human Primate Model of Radiation Nephropathy	Cohen et al., 2020	USA

6.1 Experimentální modely na studium RI-MODS

Aby bylo možné porovnávat činidla z hlediska účinnosti v profylaxi, zmírňování a léčbě radiačního poškození, bylo nutné vytvořit standardizované systémy zvířecích modelů, které budou v souladu s požadavky Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv (FDA). K tomuto účelu byl zvolen způsob měření účinnosti z hlediska faktoru modifikující dávku, tj. dávka potřebná pro daný účinek v experimentální skupině vydělené dávkou, která zajistí stejný účinek v experimentální skupině. Pro tyto modely byly stanoveny vztahy mezi letální dávkou a odezvou pro H-ARS. Díky tomuto systému je možné spojit vztahy dávky a účinku mezi libovolnými zvířaty. Avšak velikost dávky, která je nutná pro vyvolání účinku se významně liší podle druhu a kmene, například buňky krypt myši C57BL/6 jsou citlivější k apoptóze vyvolané IZ více než buňky myšního kmene C3H/He. Označení LD_{50/30} (popř. LD_{50/60}) se používá pro označení smrtelné dávky záření, která má za následek smrt 50 % zasažené populace do 30 dní, resp. 60 dní po ozáření. Pro člověka se jedná o dávku 3 – 4 Gy, pro makaka rhesus 5 Gy, pro potkana 6 Gy a pro myš 6,5 – 9 Gy v závislosti na druhu (Williams 2010; Augustine, 2005).

6.1.1 Myší laboratorní model

1. Delayed Effects of Acute Radiation Exposure in a Murine Model of the H-ARS: Multiple-Organ Injury Consequent to <10 Gy Total Body Irradiation

Cílem této studie bylo posoudit pozdní rozvoj fibrózy ve více orgánech (ledviny, srdce a plíce) u myši, které přežily H-ARS. Výzkum probíhal na Lékařské fakultě Indiana University, Indianapolis, USA pod vedením J. L. Unthanka.

Metody: Myši byly ozářeny 8,53 – 8,72 Gy TBI ze zdroje ¹³⁷Cs a observovány 21 měsíců. Ozářené myši byly kontrolovány dvakrát denně a hodnoceny na stupnici od nuly do tří na základě shrbeného držení těla, šilhání / zavřených očí a aktivity. Myši s celkovým skóre 8 nebo 9 podstoupily euthanasii. Ke studii DEARE byly použity pouze myši, které přežily ARS. Součástí experimentu byla kontrolní neozářená skupina. Oddělené skupiny myši (více než 3 jedinci v každé skupině) byly použity pro histologické studie 1) ledvin a srdce, 2) plic. A pro funkční studie 3) echokardiografií nebo 4) hladin močoviny v krvi v časových bodech od 1. do 21. měsíce po TBI.

Výsledky: Hladiny močoviny v krvi byly významně zvýšeny u ozářených myši v 9. a 21. měsíci oproti kontrolní neozářené skupině. Glomerulární tubularizace, hypertrofie a tubulární atrofie byly také pozorovány po 21 měsících po TBI. Zvýšení intersticiální, perivaskulární, perikardiální a peri-bronchiální fibrózy (depozice kolagenu) bylo pozorováno mezi 9. – 21.

měsícem (tabulka č. 3) po TBI v ledvinách, srdci a plicích ozářených myší ve srovnání s kontrolní skupinou. Echokardiografie naznačila snížení objemů komor s kompenzačním zvýšením ejekční frakce levé komory. Podle výsledků této studie se DEARE vyskytuje v ledvinách, srdci a plicích u přeživších myší H-ARS po TBI, což odráží dříve pozorované patologie u větších druhů zvířat a lidí při vyšších dávkách záření zaměřených na specifické orgány.

Závěr: Specifické patologické stavy pozorované v této studii v ledvinách a srdci jsou podobné těm v klinických studiích. Experiment prokázal **DEARE u myší vystavených celkovému tělesnému ozáření přibližně LD_{50/30} – LD_{70/30} pro H-ARS (8,5 – 8,7 Gy)** (Unthank et al., 2015).

Tabulka 3 - Studie č. 1 (Unthank et al., 2015)

Nemoc	DEARE
Druh	Myš (C57BL/6)
Počet subjektů	Přesný počet není uveden (rozdělení 50/50 v závislosti od pohlaví)
Věk	12 týdnů
Pohlaví	Samci a samice
Primární účel	Vyhodnocení DEARE v ledvinách, srdci a plicích
Použitá látka	-
Hlavní pozorování	Zvýšení depozice kolagenu 9. – 21. měsíc

2. Evidence of delayed gastrointestinal syndrome in high-dose irradiated mice

Tato studie se zabývala gastrointestinálním DEARE po vysokých dávkách TBI, jelikož byl v minulosti zaznamenán zvýšený výskyt adenokarcinomu tlustého střeva u osob, které přežily ARS. Výzkum probíhal na Lékařské fakultě University of Maryland, Baltimore, USA pod vedením C. Booth.

Metody: Vzorky byly odebrány myším, které byly částečně ozářeny (PBI) různými dávkami a se stíněným hrudníkem, hlavou a předními končetinami (celkově ušetřeno 40 % kostní dřeně). Podpůrná péče byla poskytnuta v podobě Ciprofloxacinu (tabulka č. 4) podávaného v pitné vodě. Všechna zvířata byla zvážena a denně kontrolován jejich zdravotní stav od zahájení experimentu do konce studie. Jedinci vykazující více než 15% ztrátu hmotnosti byli považováni

za nemocné a utraceni. Všechna přeživší zvířata byla pozorována a následně v plánovaných dnech (mezi 75. a 192. dnem) usmrcena a pitvána.

Výsledky: Prvním příznakem ARS u myši byla ztráta hmotnosti. Po 20 dnech se u myši vyvinuly struktury podobné časným adenomům. V 75. den měla většina myši tyto struktury v tenkém i tlustém střevě a postupně docházelo k jejich úmrtí. V některých střevních kryptách byly přítomny abnormálně vysoké hladiny apoptických a mitotických buněk spolu s časnými adenomy, což naznačuje regeneraci tkání a oblasti deregulovaného buněčného obratu. Postupem času se také mnoho krypt a klků otupilo a vyvinula se fibrotická submukóza, což vedlo ke zmenšení funkční plochy a méně pohyblivému střevu. Tato pozorování naznačují, že vystavení záření, které způsobuje DEARE, může vyvolat předčasné stárnutí GIT.

Závěr: Tímto experimentem bylo prokázáno, že ve střevě dochází k patologickým změnám spojených s DEARE. **Gastrointestinální DEARE bylo pozorováno při dávkách vyšších než 12 Gy a odvíjelo se v závislosti na dávce** (Booth et al., 2012).

Tabulka 4 - Studie č. 2 (Booth et al., 2012)

Nemoc	DEARE
Druh	Myš (C57BL/6)
Počet subjektů	Neuvedeno
Věk	10 – 12 týdnů
Pohlaví	Samci
Primární účel	Pozorování gastrointestinálního DEARE
Použitá látka	Ciprofloxacin (podpůrná léčba antibiotiky)
Hlavní pozorování	Rozvoj časných struktur podobných adenomům 20. den Rozšíření těchto struktur po tlustém i tenkém střevu 75. den

3. The Delayed Effects of Acute Radiation Syndrome: Evidence of Long-Term Functional Changes in the Clonogenic Cells of the Small Intestine

Tato studie se zabývala zkoumáním funkčních změn v buňkách tenkého střeva v kontextu DEARE. Studie byla vedena C. Booth na University of Maryland, Baltimore, USA.

Metody: Skupiny po 6 myších, které byly ozářeny 13 Gy PBI s 5% stíněním kostní dřeně, byly pozorovány po dobu 196 dní. Po uplynutí této doby byly myši znovu ozářeny 11, 12, nebo 13

Gy. Eutanazie byla provedena 200. den a následně byly zkoumány střevní krypty ozářených myší. Součástí experimentu byla paralelní skupina, která byla poprvé ozářena až po 196 dnech. Výsledky těchto skupin byly porovnány za účelem zhodnocení vlivu věku. Podpůrná léčba byla podávána v pitné vodě ve formě Ciprofloxacinu (tabulka č. 5) do 20. dne po ozáření. Zdravotní stav myší byl pravidelně kontrolován. V den eutanazie byla odebrána krev srdeční punkcí a stanoven krevní obraz. Orgány byly histologicky zkoumány.

Výsledky: Po ozáření, které vedlo k rozvoji GI-ARS, přetrvávaly nepravidelnosti ve střevním epitelu 28 týdnů. Zvýšená úroveň přežití a regenerace střevních krypt ve srovnání s kontrolní skupinou naznačuje, že ve střevních kryptách myší, které přežily GI-ARS bylo přítomno více klonogenů. Druhou variantou je, že tyto přítomné klonogenní buňky byly odolnější vůči IZ.

Závěr: Toto pozorování je v rozporu s původní hypotézou a obecným přesvědčením, že dříve ozářená zvířata mohou mít zhoršenou nebo zpožděnou regenerační reakci a jevit se citlivěji na radioaktivní záření. Změny v rámci klonogenů a účinky na funkci GIT, včetně schopnosti produkovat diferencované linie, nejsou známy (Booth et al., 2015).

Tabulka 5 - Studie č. 3 (Booth et al., 2015)

Nemoc	DEARE
Druh	Myš (CBA/Ca)
Počet subjektů	24
Věk	12 týdnů
Pohlaví	Samci
Primární účel	Zkoumání funkčních změn v buňkách tenkého střeva
Použitá látka	Ciprofloxacin (podpůrná léčba antibiotiky)
Hlavní pozorování	Zvýšená úroveň přežití a regenerace střevních krypt

4. Cardiac and Renal Delayed Effects of Acute Radiation Exposure: Organ Differences in Vasculopathy, Inflammation, Senescence and Oxidative Balance

Cílem této studie bylo určit časové souvislosti ve vývoji vaskulopatie a progresi renálních a kardiovaskulárních DEARE při dávkách TBI nižších než 9 Gy a objasnit potenciální roli stárnutí, zánětu a oxidačního stresu. Radiační nefropatie je spojena s kardiovaskulárním onemocněním po TBI a bylo prokázáno, že způsobuje onemocnění myokardu a koronárních

cév po lokálních i celotělových expozicích, což naznačuje kauzální spojení mezi renálními a kardiovaskulárními DEARE. Studie byla provedena na University of Maryland, Baltimore, USA pod vedením J. L. Unthank.

Metody: Myši obou pohlaví (tabulka č. 6) byly ozářeny 8,53 nebo 8,72 Gy TBI. K experimentu byly použity pouze myši, které přežily akutní fázi (30 dní) a skupina kontrolních neozářených myší. Oddělené skupiny byly použity pro histologické a molekulární studie ledvin a srdce v časových bodech od 4 do 22 měsíců po TBI.

Výsledky: Výsledky ukázaly významnou ztrátu endoteliálních buněk v koronárních tepnách do 4 měsíců po TBI (8,53 nebo 8,72 Gy). Tato ztráta předcházela renální dysfunkci a intersticiální fibróze a postupovala k abnormalitám v arteriálním médiu a adventicii a ztrátě koronárních arteriol. Mezi srdcem a ledvinami byly velké rozdíly v patobiologii vyvolané zářením, co se týče progresu vaskulopatie a také v ukazatelích zánětu, stárnutí a oxidační nerovnováhy.

Závěr: Tato studie vedla k určení časových vztahů ve vývoji vaskulopatie a progresi renálního a kardiovaskulárního DEARE a přítomnosti markerů stárnutí, zánětu a redoxní nerovnováhy na myším modelu H-ARS při dávkách 9 Gy TBI. **Radiační dávky blízké LD_{50/30} u H-ARS mají za následek progresivní renální a kardiovaskulární DEARE**, časně vaskulární poranění, zejména v srdci, se ztrátou endoteliálních buněk a spojené s akumulací tkáňového železa, progresivní vaskulopatii charakterizovanou ztrátou arteriol a fibrózou media a perivaskulárního prostoru a dále orgánové rozdíly v radiací vyvolaném stárnutí tkání, zánětu a oxidační nerovnováze (Unthank et al., 2019).

Tabulka 6 - Studie č. 4 (Unthank et al., 2019)

Nemoc	Renální a kardiovaskulární DEARE
Druh	Myš (C57BL/6)
Počet subjektů	Přesný počet není uveden (rozdělení 50/50 v závislosti od pohlaví)
Věk	10 – 12 týdnů
Pohlaví	Samci i samice
Primární účel	Určení časových souvislostí vývoje vaskulopatie a progresu renálních a kardiovaskulárních DEARE
Použitá látka	-
Hlavní pozorování	Ztráta endoteliálních buněk do 4 měsíců po TBI

6.1.2 Potkaní laboratorní model

5. WAG/RijCmcr rat models for injuries to multiple organs by single high dose ionizing radiation: similarities to nonhuman primates (NHP)

Tato studie se zabývala porovnáním modelů potkanů a nehumánních primátů pro ARS a DEARE. Tento výzkum byl veden B. L. Fishem ve Zdravotním středisku v Milwaukee, USA.

Metody: Tato studie byla rozdělena na několik částí, přičemž potkani byli ozáření buď PBI leg-out, nebo TBI o dávce 11 – 13,5 Gy a následně rozděleni do skupin podle zkoumané problematiky: 1) změny na GIT, 2) radiační pneumonitida a 3) radiační nefropatie. Podpůrná péče (tabulka č. 7) sestávala z podávání Enrofloxacinu (10 mg/kg denně) a subkutánní hydratace fyziologickým roztokem. Potkanům byly hlídány dechové intervaly, hladiny močoviny v krvi byly měřeny 90. a 120. den po ozáření a následně byla provedena histologie tkání. Výsledky byly porovnány s výsledky nehumánních primátů z dříve proběhlé studie.

Výsledky: U potkanů se vyvinula závažnější a progresivnější nefropatie než u nehumánních primátů. K latenci z důvodu poranění docházelo dříve u potkanů. K latenci došlo dříve u potkanů než makaků. Po ozáření hrudníku dávkou do 13 Gy došlo u potkanů k obnovení funkce plic po pneumonitidě. U nehumánních primátů nebyl tento aspekt hodnocen. Latence, incidence, závažnost a progresse radiační pneumonitidy nebyly ovlivněny časným multiorgánovým poškozením ARS.

Závěr: Potkani a makakové vykazovali po ozáření podobné orgánové dysfunkce, počínaje GI-ARS a H-ARS syndromy, toxicitou plic, srdce a ledvin (Fish et al., 2020).

Tabulka 7 - Studie č. 5 (Fish et al., 2020)

Nemoc	ARS a DEARE
Druh	Potkan (WAG/RijCmcr)
Počet subjektů	456
Věk	7 – 12 týdnů
Pohlaví	Samci i samice
Primární účel	Porovnání zvířecích modelů pro ARS a DEARE
Použitá látka	Enrofloxacin (podpůrná léčba antibiotiky)
Hlavní pozorování	Podobné orgánové dysfunkce zvířecích modelů

6.1.3 Laboratorní model založený na nehumánních primátech

6. The prolonged gastrointestinal syndrome in rhesus macaques: the relationship between gastrointestinal, hematopoietic, and delayed multi-organ sequelae following acute, potentially lethal, partial-body irradiation

Tato studie se zabývala dlouhodobými účinky vysokých dávek záření na GIT, doprovodný hematopoetický syndrom a další multiorgánové poškození včetně plic. Tato studie probíhala na University of Maryland v Baltimore, USA pod vedením T. J. MacVittie.

Metody: Makakové byli ozáření dávkami 9 – 12,5 Gy PBI s 5% úsporou kostní dřeně (stíněné holenní kosti, kotníky a chodidla). Po ozáření byli primáti sledováni na více orgánově specifických parametrů po dobu 180 dní. V průběhu sledování jim byla poskytnuta lékařská podpůrná péče (tabulka č. 8) včetně podávání intravenózních tekutin, antiemetik, profylaktických antibiotik apod. Primárním cílovým parametrem bylo přežití 15, 60 nebo 180 dní po expozici. Sekundárním cílovým parametrem bylo hodnocení hydratace, průjmu, hematologických parametrů, respirační tísně, histologie tenkého a tlustého střeva, rentgenové snímky plic a průměrná doba přežití.

Výsledky: Mortalita závislá na dávce a času definovala několik orgánově specifických následků s LD_{50/15} 11,95 Gy, LD_{50/60} 11,01 Gy a LD_{50/180} 9,73 Gy pro příslušné akutní gastrointestinální, kombinované hematopoetické a gastrointestinální a multiorgánové opožděné poranění včetně plic.

Závěr: Tento výzkum analyzoval **doprovodné multiorgánové následky, čímž poskytl propojení mezi akutními a opožděnými radiačními účinky.** Specifická a multiorgánová lékařská protipatření mohou být hodnocena z hlediska účinnosti a interakce během současného vývoje akutních a opožděných klíčových orgánově specifických subsyndromů (MacVittie et al., 2012).

Tabulka 8 - Studie č. 6 (MacVittie et al., 2012)

Nemoc	DEARE
Druh	Makak rhesus
Počet subjektů	81
Věk	Neuvedeno

Pohlaví	Samci
Primární účel	DEARE v orgánových soustavách
Použitá látka	Podpůrná léčba – Baytril, Zofran, Imodium aj.
Hlavní pozorování	Vztah mezi akutními a opožděnými účinky ozáření

7. Organ Doses Associated with Partial-Body Irradiation with 2.5% Bone Marrow Sparing of the Non-Human Primate: A Retrospective Study

Tato studie, pod vedením C. Prado na University of Maryland v Baltimore, USA, se zabývala vytvořením zvířecího modelu PBI s 2,5% šetřením kostní dřeně za účelem stanovení vztahu mezi obdrženou dávkou a prodlouženými multiorgánovými účinky.

Metody: V této retrospektivní studii byli samci makaků (tabulka č. 9) ozáření předepsanou dávkou 10 Gy PBI se stíněnými holenními kostmi. Bodové a orgánové dávky byly vypočteny zvlášť pro každého primáta ze skenů CT s použitím heterogenních dat o hustotě. Byly vypočteny příslušné průměrné orgánové dávky pro objemy devíti orgánů, včetně srdce, plic, střev a ledvin. Analýza dávky dodané do kritických orgánů ve vztahu k cílové dávce pro celé tělo umožnila analýzu orgánově specifických účinků a jejich příslušný vliv při poškození více orgánů.

Výsledky: V této studii byly pozorovány rozdíly v dávce mezi orgány až 9 % z tradičního množství určujícího dávku. Tyto rozdíly jsou způsobeny jak specifickou povahou ozáření a metodou použitou pro výpočet dávky.

Závěr: Zde popsáný **dozimetrický přístup umožnil analýzu podélného orgánového poškození se znalostí specifické orgánové dávky**. Skutečné orgánové dávky lze vypočítat pouze pomocí výpočtů heterogenní distribuce dávek v objemu CT a přesných dodávek. Střední dávka pro orgán není rovna předepsané bodové dávce. Tyto informace v budoucnu umožní přesnější srovnávací analýzu a určení latence, incidence, závažnosti, progresu a vyřešení na dávce závislé orgánové patologie ve vztahu k dávce orgánu a předepsané TBI nebo PBI dávce. Navrhovaná interakce mezi orgány, jako jsou plíce, srdce a ledviny, při určování poškození ostatních orgánů může být analyzována ve vztahu ke střední dávce dodané každému orgánu a na dávce a čase závislé biologii (Prado et al., 2017).

Tabulka 9 - Studie č. 7 (Prado et al., 2017)

Nemoc	DEARE
Druh	Makak rhesus
Počet subjektů	12
Věk	3 – 6 let
Pohlaví	Samci
Primární účel	Analýzu orgánově specifických účinků
Použitá látka	-
Hlavní pozorování	Analýza podélného orgánového poškození na základě orgánové dávky

8. Monocyte Polarization is Altered by Total-Body Irradiation in Male Rhesus Macaques: Implications for Delayed Effects of Acute Radiation Exposure

Radiačně indukovaná fibróza je běžnou součástí DEARE postihující různé tkáně včetně srdce, plic, jater a kůže, což vede ke snížené funkci tkání a zvýšené nemocnosti. Experiment se zabýval hypotézou, že střední až vysoké úrovně TBI změní polarizaci monocytů a vytvoří fenotypy, které by mohly podporovat multiorgánovou fibrózu DEARE. Studie byla vedena K. T. Michalsonem na Duke University, Durham, North Carolina, USA.

Metody: K pokusu bylo použito 16 dospělých samců makaka rhesus, z nichž 10 bylo vystaveno 4 Gy TBI a šest falešně ozářených sloužilo jako kontrolní skupina. Po ozáření byla denně sledována spotřeba potravy, defekace, močení a známky onemocnění. Celkové počty monocytů a jiných frakcí krevních buněk byly získávány z kompletního krevního obrazu, který byl odebírán před ozářením, poté každý týden po ozáření po dobu dvou měsíců a následně měsíčně po dobu půl roku.

Výsledky: Celkové počty bílých krvinek, monocytů, lymfocytů a neutrofilů byly akutně sníženy u primátů, kteří podstoupili TBI. Počet monocytů a neutrofilů se obnovil 30. den po ozáření, zatímco celkový počet bílých krvinek a lymfocytů byl významně snížen až do 51. a 58. dne po ozáření. Celkový počet bílých krvinek, monocytů a neutrofilů po TBI se po zotavení nelišil od výsledků kontrolní skupiny, ale lymfocyty ozářených makaků se zvýšily

(tabulka č. 10) nad hodnoty kontrolních jedinců měřených 129. den po ozáření a zůstaly zvýšené až do 200. dne.

Závěr: Tato zjištění podporují hypotézu, že **TBI může změnit programování monocytů a polarizaci směrem k profibrotickému fenotypu**, což poskytuje novou cílovou příležitost pro terapie k inhibici nebo prevenci radiačně indukované fibrózy (Michalson et al., 2019).

Tabulka 10 - Studie č. 8 (Michalson et al., 2019)

Nemoc	DEARE
Druh	Makak rhesus
Počet subjektů	16
Věk	okolo 5,8 roku
Pohlaví	Samci
Primární účel	Vliv polarizace monocytů na rozvoj DEARE
Použitá látka	-
Hlavní pozorování	Zvýšení hodnot lymfocytů po TBI 129. – 200. den

9. A Comparative Dose-response Relationship Between Sexes for Mortality and Morbidity of Radiation-induced Lung Injury in the Rhesus Macaque

Tato studie pod vedením K. D Thrall proběhla na University of Maryland, Baltimore, USA a zabývala se srovnáním vztahu dávka-odpověď, úmrtností a poraněním plic mezi samci a samicemi makaka rhesus. Tento experiment spočíval ve vytvoření modelu ozáření hrudníku u samic makaka rhesus a porovnání výsledků s dříve proběhlou studií na samcích stejného druhu.

Metody: Všech 40 makaků podstoupilo CT vyšetření, následně byli rozděleni do 5 skupin a vystaveni jedné expozici zaměřené na plíce o dávce 9,5; 10; 10,5; 11 a 11,5 Gy. Všem samicím byla poskytnuta podpůrná léčba (tabulka č. 11) včetně podávání Dexametazonu. Tato studie probíhala 180 dní.

Výsledky: Procentní mortalita na dávku záření byla 12,5 % při 9,5 Gy, 25 % při 10 Gy, 62,5 % při 10,5 Gy, 87,5 % při 11 Gy a 100 % při 11,5 Gy. Podle výsledného grafu pro model ozáření celého hrudníku platí LD_{50/180} 10,28 Gy, což odpovídá dříve publikovanému výsledku 10,27 Gy pro samce makaka rhesus.

Závěr: Klíčové parametry morbidity a mortality podporují závěr, že **u makaka rhesus neexistuje vliv pohlaví na vztah dávka-odpověď po ozáření celého hrudníku**. Tato práce také poskytla významnou mezilaboratorní validaci dříve publikovaného modelu na samcích makaků (Thrall et al., 2019).

Tabulka 11 - Studie č. 9 (Thrall et al., 2019)

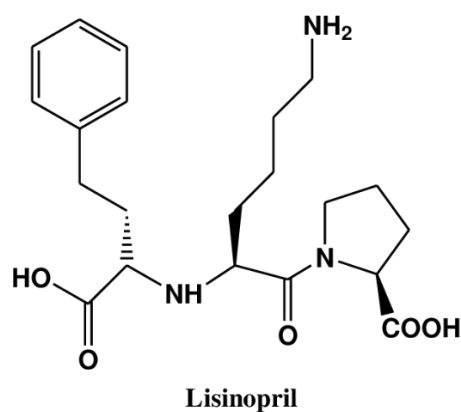
Nemoc	DEARE
Druh	Makak rhesus
Počet subjektů	40
Věk	Neuvedeno
Pohlaví	Samice
Primární účel	Srovnáním vztahu dávka-odpověď mezi pohlavími makaka rhesus
Použitá látka	Dexametazon (podpůrná léčba)
Hlavní pozorování	U makaků rhesus neexistuje vliv pohlaví na vztah dávka-odpověď

6.2 Experimentální látky k terapii RI-MODS

6.2.1 Lisinopril

Lisinopril je léčivý přípravek ze skupiny angiotenzin konvertující enzym (ACE)-inhibitorů, který se už téměř 30 let používá k regulaci krevního tlaku, terapii při léčbě srdečního selhání a kontrole proteinurie a posttransplantační erytrocytózy. Jedná se o inhibitor enzymu konvertující angiotenzin, který způsobuje plynulé a postupné snižování krevního tlaku bez ovlivnění srdeční frekvence nebo kardiovaskulárních reflexů. Principem je zabránit přeměně angiotenzinu I na angiotenzin II. Pokles angiotensinu II následně způsobí snížení sekrece aldosteronu, což způsobí snížení reabsorpce sodíku ve sběrném kanálku a snížení vylučování draslíku, což může mít za následek mírné zvýšení sérového draslíku. Odstraněním negativní zpětné vazby angiotenzinu II dochází ke zvýšení aktivity sérového reninu. Antihypertenzní účinek nastupuje do 2 hodin od perorálního podání, maximální sérová koncentrace se objevuje po 6 – 8 hodinách a trvá nejméně 24 hodin. Lisinopril je v nezměněné podobě vylučován močí (Olvera Lopez et al., 2022; Gomez et al., 1987).

ACE inhibitory jsou jednou z mála látek zmírňujících DEARE u potkanů. Při použití ACE inhibitoru lisinoprilu dochází ke snížení poškození ledvin u potkanů, kteří obdrželi částečné ozáření s jednou stíněnou zadní nohou (PBI leg-out) vedoucí k repopulaci kostní dřeně, s následným projevem DEARE v plicích a ledvinách bez transplantace kostní dřeně. Inhibitory ACE včetně lisinoprilu navíc snižují prevalenci radiací indukované pneumonitidy u pacientů s rakovinou léčených radioterapií, což ukazuje na účinnost i u lidí. ACE inhibitory však neprokázaly účinnost při zmírňování ARS u myši, ale jsou účinné u potkanů, což vyžaduje vyhodnocení kombinace ACE inhibitorů s dalšími mitigátory. Receptory pro lisinopril jsou přítomny v endoteliálních buňkách vystylajících krevní cévy a plíce (Gasperetti et al., 2021; Medhora et al., 2021). Chemická struktura lisinoprilu je zobrazena na obrázku č. 8.



Obrázek 8 - Chemická struktura lisinoprilu (Karaman, 2014)

6.2.2 BBT-059

Ke snížení trombocytopenie vyvolané chemoterapií byl používán IL-11, nicméně jeho klinické použití bylo doprovázeno závažnými vedlejšími účinky. Z tohoto důvodu byl vyvinut PEGylovaný-IL.11 (BBT-059), který při studiích na hlodavcích vykazoval delší poločas rozpadu a indukoval déletrvající zvýšení hematopoetických buněk než IL-11. Při experimentech se subkutánním použitím BBT-059 bylo prokázáno zvýšené přežití myší po TBI na 70 – 100 % z letálních dávek a již jedna dávka výrazně zvyšuje počty bílých krvinek, krevních destiček, lymfocytů a neutrofilů (Kumar et al., 2018).

6.2.3 Nitrofenylové sloučeniny

Nově používané sloučeniny 4-nitrofenylsulfonamid (NPS) a nitrofenylpiperazin (NPSP) výrazně snižují úmrtnost na H-ARS. Ke zmírnění H-ARS dochází prostřednictvím aktivace nezralých myeloidních buněk (fenotyp CD11b⁺ Ly6G⁺ Ly6C⁺) indukovaných zářením. Podle provedeného experimentu byly tyto sloučeniny účinné, pokud byly podány myším před nebo po TBI. Dále měly určitý protinádorový účinek, tudíž by mohly být v budoucnu použity při radiační terapii rakoviny. Tyto sloučeniny byly navíc účinné na zmírnění letálního G-ARS, subakutní radiační pneumonitidy a pozdní plicní fibrózy. Jejich výhodou je nízká toxicita a určitý protinádorový účinek (Micewicz et al., 2017).

6.2.4 Aktivovaný protein C

Aktivovaný protein C (APC) působí jako inhibitor koagulace. APC může inhibovat zánětlivou odpověď blokováním buněčné sekrece zánětlivých cytokinů, jako je TNF- α , IL-1 β , monocytový chemoatraktant protein-1 a makrofágový zánětlivý protein 1- α , a snížením exprese adhezních molekul na buněčném povrchu vyžadované pro transendoteliální migraci zánětlivých buněk do míst poškození tkáně. APC může také chránit před zánětem snížením permeability endoteliálních buněk a migrací zánětlivých buněk (Stavrou a Schmaier, 2014).

6.2.5 Deferipron + Ferrostatin

Deferipron je chelátor železa, který je dlouhodobě podáván pacientům s talasémií. Deferipron byl také identifikován jako „lapač“ volných radikálů. Díky těmto vlastnostem, včetně statusu léku schváleného v mnoha zemích, může být použit v urgentní radiační medicíně. Ferrostatin je selektivní inhibitor indukované ferroptózy. Specificky inhibuje smrt selektivní letální sloučeninou, ale ne buněčnou smrt indukovanou jinými oxidativními letálními sloučeninami a činnými indukcijí apoptózu (Fukuda et al., 2006; Zhang et al., 2021).

6.2.6 Neulasta + Neupogen

Jako již bylo uvedeno, od roku 2015 jsou postupně FDA schvalovány cytokinové růstové faktory jako radiomitigátory k IZ poškození. Neulasta je leukocytární růstový faktor sloužící k snížení výskytu infekce, která se projevuje febrilní neutropenií a dále ke zvýšení přežití osob akutně vystavených myelosupresivním dávkám záření (H-ARS). Neupogen je lék, který pomocí synteticky vyrobeného G-CSF filgrastimu, zvyšuje počet bílých krvinek u pacientů s utlumenou krvetvorbou (Legesse et al., 2019; Štefánek, 2011).

10. The Aftermath of Surviving Acute Radiation Hematopoietic Syndrome and its Mitigation

Tento výzkum probíhal zejména s cílem zkoumat úmrtnost myši na DEARE po přežití ARS a podávání 4-nitrofenylsulfonamidové (NPS) nebo nitrofenylpiperazinové (NPSP) sloučeniny (tabulka č. 12) během 660 dní po ozáření. Experiment byl proveden pod vedením E. D. Micewicz na University of California, Los Angeles, California.

Metody: Samci myši ve věku 9 – 12 týdnů byli ozáření TBI bez použití anestezie. Obdrželi dávku v rozmezí 7,725 – 8,509 Gy. Myším byly podány NPS nebo NPSP sloučeniny. Dávky těchto látek se pohybovaly mezi 1 a 75 mg/kg a byly podávány ode dne ozáření po dobu pěti dní, a to zejména subkutánně, ale i per os.

Výsledky: Použití „aktivních“ NSP mitigátorů vedlo ke zvýšení procenta myši přežívajících H-ARS z 33 % na 84 %. Rakovina nebyla u myši detekována před tím, než dosáhly vysokého věku, a to dokonce pouze s přibližně 10% výskytem. Dřívější nenádorová úmrtí byla hlavní příčinou DEARE.

Závěr: Pozorování v této studii vedla k závěru, že **zvířata stejného věku, kmene a pohlaví, která obdržela stejnou TBI dávku, měla velmi odlišné dlouhodobé výsledky. Vznikl předpoklad že posuny v myeloidních buňkách a v mikrobiomu mohou být biomarkery DEARE a mohou sloužit pro další terapeutickou intervenci.** Tento koncept důležitosti systémové a trvalé aktivace buněk po TBI pravděpodobně zasahuje do vzájemné závislosti mezi buňkami a tkáněmi a způsobuje abskopální účinky. Tato vzájemná závislost může být ovlivněna radiačním poškozením různých tkání, avšak myeloidní aktivace zřejmě provází rozvoj DEARE (Micewicz et al., 2019).

Tabulka 12 - Studie č. 10 (Micewicz et al., 2019)

Nemoc	DEARE
Druh	Myš (C57Bl/6)
Počet subjektů	613
Věk	9 – 12 týdnů
Pohlaví	Samci
Primární účel	Zmírnění DEARE
Léčebná látka	NPS a NPSP sloučeniny
Hlavní pozorování	Zvýšení přežití myši H-ARS použitím NSP mitigátorů z 33 % na 84 %

11. Delayed effects of acute whole body lethal radiation exposure in mice pre-treated with BBT-059

Tato studie se zabývala dlouhodobými účinky PEGylovaného interleukinu 11 (BBT-059) jako radiačního protipatření. Cílem tohoto experimentu je vyvinout profylaktické opatření, které by prošlo schválením FDA, a mohlo by být použito jako ochrana pro zásahové jednotky v kontaminovaných oblastech. V potaz je třeba vzít účinnost tohoto protipatření jak při zvyšování přežití v primárním koncovém bodě expozice, tak i DEARE. Výzkum probíhal na University of the Health Sciences, Bethesda, Maryland, USA pod vedením N. K. Sharma.

Metody: Tento experiment probíhal na myších, které byly ozářeny dávkou 7,5 – 12,5 Gy TBI. Jednalo se o 288 samců, kteří byli rozděleni do 12 skupin. Do experimentu byla zahrnuta i kontrolní neozářená skupina myši. Skupinám 1 – 6 byl podáván formulační pufr (FB; 10 mM fosforečnan sodný, 1 % sacharóza, 4 % mannitol, pH 6,2)) pro BBT-059 (0,1 ml subkutánně) a skupinám 7 – 12 byl podáván BBT-059 (0,3 mg/kg ve formě formulačního pufru, 0,1 ml subkutánně) 24 hodin před TBI. Každá skupina byla následně ozářena různými dávkami záření: 7,5; 8; 8,5; 9; 9,5 a 10 Gy ve skupinách 1 – 6 a dávkami 10,5; 11; 11,5; 11,75; 12 a 12,5 ve skupinách 7 – 12. Myším byla pravidelně odebírána krev a stanovován krevní obraz.

Výsledky: V dlouhodobé studii zvířata prokázala zrychlenou obnovu (tabulka č. 13) počtu periferních krvinek, jednotek tvořících kolonie kostní dřeně, sternální celularity a počtu megakaryocytů u léčených myši ve srovnání s formulačním pufrem. Navíc byla pozorována zvýšená senescence v ledvinách zvířat, kterým byla podávána profylaktická léčiva a byla

vystavena nejvyšším dávkám záření. U zvířat, kterým bylo podáváno FB, byly pozorovány snížené hladiny E-kadherinu, laminu B1 a zvýšené hladiny cyklinu D a proteinu 21 ve slezině. Nedošlo ani k žádné znatelné změně hmotnosti během 12 měsíců po TBI u přeživších zvířat ve srovnání s kontrolní skupinou.

Závěr: Výsledky této studie naznačovaly vysokou úroveň ochrany po podání BBT-059 u myši vystavených letálním a supraletálním dávkám TBI. Zároveň došlo i k výraznému prodloužení doby přežití ozářených myši (Sharma et al., 2020).

Tabulka 13 - Studie č. 11 (Sharma et al., 2020)

Nemoc	ARS a DEARE
Druh	Myš (CD2F1)
Počet subjektů	288
Věk	8 – 10 týdnů
Pohlaví	Samci
Primární účel	Vyvinutí radiačního protiopatření
Léčebná látka	BBT-059
Hlavní pozorování	Zrychlená obnova buněk při profylaxi BBT-059 Prodloužení přežití

12. A Potential Role for Excess Tissue Iron in Development of Cardiovascular Delayed Effects of Acute Radiation Exposure

Z předchozích výzkumů vyplývá, že pacienti, kteří přežili H-ARS po TBI, trpěli významnou ztrátu endoteliálních buněk srdečních cév spolu se zvýšeným tkáňovým železem již 4 měsíce po TBI. Cílem této studie bylo zjistit možnou roli přebytku tkáňového železa při ztrátě endoteliálních buněk koronárních tepen po TBI. Výzkum vedený S. J. Millerem proběhl na Indiana University, Indianapolis, USA.

Metody: Tento výzkum probíhal na myších, které byly vystaveny jednotné dávce TBI 8,53 Gy. Následně byly myši rozděleny do skupin a k 12týdennímu experimentu byly použity pouze ty, které přežily ARS (30 dní po ozáření). Součástí byla i neozářená kontrolní skupina. Deferipron (tabulka č. 14) byl myším podáván v pitné vodě v koncentraci 2,5 g/litr po dobu 14 dnů. Ferrostatin byl podáván ve vehikulu (fosfátový pufr s 5% ethanolem) 1x denně

intraperitoneálně po dobu 14 dní. Podávání bylo zahájeno 24 hodin před ozáření. Kontrolní myši dostávaly pouze vehikulum. Poté byly provedeny odběry tkání, sérové testy a zobrazování srdečních řezů.

Výsledky: Celkové sérové železo, saturace transferinu, hematokrit a červené krvinky byly kvantifikovány, aby se určily krátkodobé (1 – 12 týdnů po TBI) účinky IZ na železo v séru. Výsledky ukázaly, že sérové železo bylo zvýšeno 1 týden po TBI, vrcholilo ve 2. týden a vrátilo se na neozářené kontrolní hodnoty 4. týden po TBI. Hustota endoteliálních buněk koronární arterie byla významně snížena již za dva týdny oproti neozářeným kontrolám, a snížená hustota přetrvávala až 12 týdnů po ozáření. Léčba deferipronem u ozářených myši zabránila poklesu hustoty endoteliálních buněk 2 a 4 týdny po TBI ve srovnání s ozářenými neléčenými myši. Celkově vzato výsledky naznačují, že přebytek tkáňového železa přispívá k úbytku endoteliálních buněk časně po TBI a může být významnou událostí ovlivňující vývoj opožděných účinků akutní radiační expozice.

Závěr: Studie ukázala, že **podávání deferipronu před radiační expozicí snížilo akutní ukládání železa v tkáních a zabránilo ztrátě endoteliálních buněk a naznačuje roli přebytku železa v progresi srdečního DEARE.** Podávání haptoglobinu nebo hemopexinu může také sloužit k prevenci akutního zvýšení železa po ozáření, a tak snížit rozvoj DEARE (Miller et al., 2020).

Tabulka 14 - Studie č. 12 (Miller et al., 2020)

Nemoc	ARS a DEARE
Druh	Myš (C57BL/6)
Počet subjektů	Přesný počet není uveden (rozdělení 50/50 v závislosti od pohlaví)
Věk	10 – 12 týdnů
Pohlaví	Samci i samice
Primární účel	Role přebytku tkáňového železa po TBI
Použitá látka	Deferipron a ferrostatin
Hlavní pozorování	Snížení akutního ukládání železa v tkáních po TBI Zabránění ztráty endoteliálních buněk

13. Sex-dependent effects of genetic upregulation of activated protein C on delayed effects of acute radiation exposure in the mouse heart, small intestine, and skin

Tato studie se zabývala zkoumáním vlivu aktivovaného proteinu C (APC) na zkrácení DEARE v závislosti na pohlaví. Experiment byl rozdělen na dvě části, z nichž první se zaměřovala na 30denní přežití myši po TBI a druhá na dlouhodobé sledování myši po PBI se stíněnými zadními končetinami. Studii vedl V. Sridharan na University of Arkansas, Little Rock, Arkansas, USA.

Metody: K dlouhodobému sledování přežití byly použity divoké a geneticky modifikované APCHi myši, které byly ozářeny buď simulovaně nebo dávkou 9,5 Gy PBI se stíněnými zadními končetinami za účelem obnovy kostní dřeně a dlouhodobého přežití. Následně byl myším podáván APC (tabulka č. 15). Kritéria k určení, kdy by měla být zvířata utracena, byla shrbená poloha, letargie a výrazný úbytek hmotnosti. Po této době byly myši pitvány a provedena histologie.

Výsledky: Žádná ze 140 myši nedosáhla koncových bodů a všechny přežily do 6 měsíců po ozáření. Po této době měly všechny ozařované skupiny nižší tělesnou hmotnost než kontrolní neozářené myši. U samců byl účinek záření významně závažnější u divokých myši ve srovnání se skupinou myši APCHi. Samice myši APCHi vykazovaly nejzávažnější radiací indukovanou depozici srdečních kolagenů, ale byly chráněny před radiací indukovanou ztrátou mikrovaskulární hustoty. Samci i samice APCHi myši byli chráněni proti radiací indukované upregulaci Toll-like receptor 4 v srdci, ale to se nepromítlo do jasné ochrany proti infiltraci imunitních buněk. V tenkém střevě neměl genotyp APCHi žádný vliv na zvýšení počtu buněk pozitivních na myeloperoxidázu (pozorované většinou u samic) nebo zvýšení exprese T-buněčného markeru CD2 (samci). Samci i samice APCHi myši byli chráněni proti radiací vyvolanému ztluštění epidermis a zvýšení počtu keratinocytů pozitivních na 3-nitrotyrosin.

Závěr: Bylo prokázáno, že **APC snižuje oxidační stres u různých modelů onemocnění. Kromě svých účinků na endoteliální a imunitní buňky inhibuje APC buněčnou smrt a podporuje proliferaci keratinocytů v kůži.** Prodloužené vysoké hladiny APC v modelu transgenních myši měly malé účinky na indikátory DEARE v srdci, tenkém střevě a kůži. U obou pohlaví vysoká hladina APC chránila pouze proti zvýšení exprese buněčného receptoru podobného genu *Toll* – 4 v srdci, ztluštění epidermis a zvýšení počtu keratinocytů v kůži pozitivních na 3-nitrotyrosin (marker poškození buněk) (Sridharan et al., 2021).

Tabulka 15 - Studie č. 13 (Sridharan et al., 2021)

Nemoc	DEARE
Druh	Myš (APCHi + divoké)
Počet subjektů	149
Věk	12 – 14 týdnů
Pohlaví	Samci i samice
Primární účel	Zkrácení DEARE
Léčebná látka	Aktivovaný protein C
Hlavní pozorování	Malé účinky APC na indikátory DEARE

14. Polypharmacy to Mitigate Acute and Delayed Radiation Syndromes

Tato studie se zabývala zmírněním letálního ARS a DEARE užitím trojkombinace hematopoetických růstových faktorů (TC) – polyethylenglykol (PEG) lidský faktor stimulující kolonie granulocytů (hG-CSF), PEG myší granulocyt-makrofág-CSF (mGM-CSF) a PEG lidský IL-11 s ACE inhibitorem lisinopriem. Cílem této studie bylo nalézt terapii ARS a DEARE. V této studii byly kvůli účinnosti kombinace léků použity dvě sady experimentů využívající různé modely poranění. Tato studie byla vedena T. Gasperetti na Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA.

TC (2.75 ml kg⁻¹, 10 mM fosforečnan sodný, 4% mannitol, 1% sacharóza; PEG hG-CSF 0.55 mg kg⁻¹; PEG mGM-CSF 0.55 mg kg⁻¹; PEG hIL-11 0.165 mg kg⁻¹).

Vehikulum (2.75 ml kg⁻¹, 10 mM fosforečnan sodný, 4% mannitol, 1% sacharóza).

1. část

Metody: První část této studie se zabývala zmírněním ARS po TBI s PEG-hGF. K experimentu byly vybrány samice potkanů ve věku 11 – 12 týdnů, které byly vystaveny celotělovému ozáření s obdržanou dávkou 7,5 Gy. Potkani byli následně rozděleni do 5 skupin podle typu zvolené terapie: 1) nebyla ničím léčena, 2) podstoupila terapii vehikulem, 3) TC, 4) vehikulum + lisinopril a 5) TC + lisinopril. Součástí studie byla i kontrolní neozářená skupina (n = 12).

Sedmý den po ozáření, kdy je obvykle pozorováno zotavení z G-ARS, bylo zahájeno podávání lisinoprilu v pitné vodě a pokračovalo až do ukončení skupiny 4 a 5.

Výsledky: Do 30 dnů po ozáření zemřelo 69 % potkanů, kteří obdrželi dávku 7,5 Gy TBI a žádné TC. Při podávání TC došlo ke zlepšení přežití ve srovnání s ozářenými potkany, kteří dostávali pouze vehikulum. Potkani, kteří obdrželi dávku 7,5 Gy TBI s TC a lisinoprilem, měli také zvýšené přežití ve srovnání se skupinou, která po ozáření dostala vehikulum a lisinopril, v tomto případě šlo pouze o 28% morbiditu. TC tedy zlepšuje přežití i v přítomnosti lisinoprilu.

2. část

Metody: Ke studii zmírnění DEARE po PBI leg-out byly vybrány samice potkanů ve věku 11 – 12 týdnů. Ozáření i dozimetrie byla provedena stejným způsobem jako v 1. části této studie s tím rozdílem, že IZ bylo vystaveno celé tělo kromě jedné zadní končetiny, jednalo se tedy o částečné ozáření. Tato končetina byla natažena a stíněna olověným blokem za účelem obnovy kostní dřevě. Všem potkanům byla poskytnuta podpůrná léčba.

Pro studii DEARE po dobu 120 dnů byli potkani rozděleni do pěti studijních ramen, viz tabulka č. 16. U 120denní studie DEARE byly frekvence dýchání zaznamenávány každý druhý týden počínaje 4. týdnem po ozáření a pokračovaly do 16. týdne za účelem vyhodnocení funkce plic. Krev byla potkanům odebrána přes jugulární žílu 90. a 120. den po ozáření ke kontrole hladiny močoviny v krvi. V 56. den (během vrcholu radiační pneumonitidy) byli náhodně usmrceni potkani z každé skupiny kvůli histologii plic. Při ukončení experimentu 120. den byli všichni potkani usmrceni a ledviny byly odebrány na histologii.

Pro studii DEARE po dobu 160 dní byli potkani rozděleni do čtyř skupin, viz tabulka 16. Jedna dávka buď TC, vehikula pro TC nebo PEG-hG-CSF ($0,55 \text{ mg kg}^{-1}$) byla aplikována subkutánně 24 hodin po ozáření. Podávání lisinoprilu v pitné vodě bylo zahájeno 7. den po ozáření a pokračovalo až do skončení experimentu. Studie DEARE byla ukončena po 160 dnech, přičemž přežití sloužilo jako primární cílový bod. Hladiny močoviny v krvi byly měřeny 90., 120. a 150. den po ozáření. Po odebrání krve následovala pitva všech potkanů, kteří byli identifikováni jako umírající, aby se potvrdila letální radiační pneumonitida nebo nefropatie jako příčina smrti.

Tabulka 16 – Studie č. 14 – Rozdělení do skupin ve 2. části (Gasperetti et al., 2021)

	Skupina	n =	Obdržená dávka	Látka
DEARE po dobu 120 dní	1	10	0 Gy	Vehikulum (pro TC)
	2	28	13 Gy PBI leg-out	Vehikulum
	3	21	13 Gy PBI leg-out	TC
	4	21	13 Gy PBI leg-out	PEG-hG-CSF
	5	16	13 Gy PBI leg-out	TC + lisinopril
DEARE po dobu 160 dní	1	12	13 Gy PBI leg-out	Vehikulum (pro TC)
	2	12	13 Gy PBI leg-out	TC
	3	12	13 Gy PBI leg-out	Vehikulum + lisinopril
	4	12	13 Gy PBI leg-out	TC + lisinopril

Výsledek: Po 120 dnech zemřelo 63 % ozářených potkanů, kterým byl podáván pouze PEG-hG-CSF, přičemž většina z nich zemřela mezi 60. a 80. dnem se současným rozvojem pneumonitidy. Ke smrti potkanů docházelo od 50. dne ve všech skupinách, kromě té s podáváním TC + lisinoprilu. Potkani, kteří dostávali TC + lisinopril, vykazovali pouze 6% morbiditu. Průměrné dechové intervaly měřené po 6 týdnech před nástupem pneumonitidy se u jednotlivých skupin nijak nelišily. Při měření po 12 týdnech byly u všech ozářených skupin potkanů kratší dechové intervaly než u skupiny neožářených potkanů, což odpovídá vrcholu radiační pneumonitidy ve 12. týdnu po ozáření. U skupiny dostávající vehikulum a také u skupiny dostávající PEG-hG-CSF došlo k významnému snížení dýchacích intervalů ve srovnání s neožářenými po 12 týdnech. Tento jev nebyl pozorován u ozářené skupiny s TC. Ozářená skupina, které byl podáván PEG-hG-CSF, měla také významně snížené dechové intervaly ve srovnání se skupinou, která dostávala TC a lisinopril. Přidání lisinoprilu k TC, ale

nikoli k TC samotnému, zmírnilo poškození plic vyvolané zářením, které bylo pozorováno u samotného PEG-hG-CSF po 12 týdnech. Ke stanovení poškození ledvin bylo použito měření hladiny močoviny v krvi, která vyšla u všech potkanů po 90 dnech zvýšená a nadále se až do 120. dne zvyšovala. Skupina s TC + lisinopilem měla tyto hodnoty oproti ostatním skupinám významně nižší než potkani, kterým bylo podáno pouze TC, což ukazuje na neletální poškození ledvin vyvolané zářením.

Co se týče zmírnění DEARE během 160 dní, jeden potkan ze skupiny s podáváním vehikula a lisinoprilu zemřel po 11 dnech na hematopoetický syndrom ARS. První plicní opožděné následky se u potkanů objevovaly mezi 60. a 80. dnem (tabulka č. 17) po ozáření současně s pneumonitidou. U všech ozářených potkanů došlo po 90. dnu ke zvýšení hodnoty močoviny v krvi. Tyto hodnoty se u potkanů, kterým bylo podáváno vehikulum nebo TC, i nadále zvyšovaly, naopak u potkanů s vehikulem nebo TC + lisinopril byly hodnoty nižší. Po 140 dnech následovala renální fáze zahrnující renální nefropatii. Pouze jeden ze 12 potkanů zemřel ve skupině s podáváním vehikula a lisinoprilu během pneumonitidy, u ostatních nedošlo k rozvinutí závažné nefropatie až do 150. dne. Experiment byl ukončen po 160 dnech, kdy přežití potkanů, kterým bylo podáváno TC + lisinopril, bylo 100%.

Závěr: Trojkombinace hematopoetických růstových faktorů, která byla podávána s ACE inhibitorem lisinopilem, vedla ke zmírnění ARS a DEARE ve dvou modelech ozařování potkanů použitých v této studii. Skupina TC + lisinopril vykazovala sníženou morbiditu, rychlejší obnovu neutrofilů a menší poškození plic a ledvin, které bylo v několika případech srovnatelné s výsledky kontrolních neozářených potkanů. Použití PEGylovaných léků vyžadovalo pouze jednorázové podání hematopoetických růstových faktorů, tudíž je tato metoda výhodná pro případ hromadných jaderných útoků. Kombinace růstových faktorů a lisinoprilu byla bezpečná u potkaních modelů a v budoucnu by mohla být účinným lékařským protipatřením i pro lidi ke zmírnění akutních a opožděných zranění v případě jaderné katastrofy nebo nehody (Gasperetti et al., 2021).

Tabulka 17 - Studie č. 14 (Gasperetti et al., 2021)

	1. část	2. část
Nemoc	ARS	DEARE
Druh	Potkan (WAG/RijCmcr)	Potkan (WAG/RijCmcr)
Počet subjektů	182	96
Věk	11 – 12 týdnů	11 – 12 týdnů
Pohlaví	Samice	Samice
Primární účel	Zmírnění ARS po TBI	Zmírnění DEARE po PBI leg-out
Léčebná látka	Lisinopril, TC, vehikulum, PEG-hG-CSF	Lisinopril, TC, vehikulum, PEG-hG-CSF,
Hlavní pozorování	Zlepšení přežití	Nástup pneumonitidy 60.–80. den Nástup renální nefropatie 140.–150. den

15. Radiation Increases Bioavailability of Lisinopril, a Mitigator of Radiation-Induced Toxicities

Tato studie se zabývala porovnáním farmakokinetiky ACE inhibitoru lisinoprilu u ozářených a neozářených potkanů s cílem získání licence FDA k použití lisinoprilu ke zmírnění DEARE. Studie byla vedena M. Medhorou na Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA.

Metody: K tomuto experimentu byly vybrány samice potkanů ve věku 11 – 12 týdnů (tabulka č. 18). Potkani byli ozáření 12,5 – 13 Gy PBI leg-out. Po 35 dnech od ozáření, během latentního období, byla ozářeným i neozářeným potkanům podána jedna dávka lisinoprilu, a to buď sondou do žaludku, nebo intravenózně. Potkani byli rozděleni do 3 skupin podle aplikace lisinoprilu: 1) 0,3 mg lisinoprilu sondou do žaludku, 2) 0,6 mg lisinoprilu intravenózně a 3) 0,06 mg lisinoprilu intravenózně. Následně byly potkanům v různých časech měřeny hladiny lisinoprilu v plazmě, moči, plicích, játrech a ledvinách. Po sledování distribuce lisinoprilu v různých kompartmentech bylo provedeno farmakokinetické modelování.

Výsledek: Farmakokinetické modelování bylo provedeno na základě dat distribuce léčiva v různých tkáních (kompartmentech). Dvoukompartmentový farmakokinetický model (centrální plazma a periferie) nejlépe vyhovoval měření lisinoprilu. Rychlost absorpce a renální clearance byla u neozářených a ozářených zvířat podobná. Rychlost absorpce a renální

clearance byla u neozářených a ozářených potkanů podobná, zatímco biologická dostupnost léčiva byla o 33 % vyšší. Podle této studie se rychlost absorpce a clearance lisinoprilu 35 dnů po ozáření neměnila.

Závěr: Tento model poskytl odhady poměrů absorpce, clearance, mezikompartmentové clearance a biologické dostupnosti (poměr dávky, která dosáhne systémové cirkulace) lisinoprilu mezi neozářenými a ozářenými potkany. **Ozáření více orgánů zvýšilo cirkulující hladiny lisinoprilu, pokud byl podáván 35 dní po expozici.** Podle statického modelování to bylo způsobeno sníženým množstvím lisinoprilu distribuovaného na periférii ozářených potkanů. Absorpce po delší dobu (ale stejnou rychlostí) u ozářených potkanů, kterým byla podávána žaludeční sonda, by mohla vést ke zvýšené biologické dostupnosti a nelze ji vyloučit, protože vylučování ze střeva do stolice nebylo v této studii měřeno (Medhora et al., 2021).

Tabulka 18 - Studie č. 15 (Medhora et al., 2021)

Nemoc	DEARE
Druh	Potkan (WAG/RijCmcr)
Počet subjektů	219
Věk	11 – 12 týdnů
Pohlaví	Samice
Primární účel	Zmírnění DEARE po PBI leg-out
Léčebná látka	Lisinopril
Hlavní pozorování	Vyšší biologická dostupnost léčiva

16. Delayed Effects of Acute Radiation Exposure (Deare) in Juvenile and Old Rats: Mitigation by Lisinopril

Cílem této studie bylo vyvinout preklinické modely relevantní k jadernému útoku nebo havárii a použít lisinopril ke zmírnění DEARE u potkanů v různých reprodukčních fázích života. Tuto studii vedla M. Medhora na Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA.

Metody: Nedospělým (42 dnů starým, předpubertálním) potkanům obou pohlaví bylo provedeno PBI leg-out o dávce 13 Gy. Tito potkani byli rozděleni do dvou skupin na základě podání lisinoprilu. Staří potkani (starší než 483 dní, reprodukčně senescentní) byli ozáření 13 Gy PBI leg-out, přičemž u některých byla navíc stíněna i hlava. Staří jedinci byli rozděleni

do 3 skupin. Součástí experimentu byla i jedna skupina dospělých samců, která sloužila k porovnání výsledků s ostatními věkovými skupinami. Rozdělení do skupin je znázorněno tabulkou č. 19. Dále byla potkanům odebírána krev k určení hladiny močoviny v krvi k vyhodnocení renálních funkcí. Všem potkanům byla poskytnuta podpůrná léčba za účelem překonání ARS.

Tabulka 19 - Studie č. 16 - Rozdělení do skupin (Medhora et al., 2019)

	Mladí n = 37		Staří n = 58			Dospělí n = 16
	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 1
Dávka	13 Gy leg-out PBI	13 Gy leg-out PBI + lisinopril	0 Gy	13 Gy leg-out PBI	13 Gy leg-out PBI + lisinopril	13 Gy leg-out PBI
Samice n =	13	9	7	11	7	0
Samci n =	8	7	9	15	9	16

Výsledky: U mladých potkanů obou pohlaví byla zaznamenána letalita při poranění plic mezi 39 – 58 dny po ozáření a radiační nefropatie mezi 106 – 114 dny (tabulka č. 20). Všichni ozáření mladí potkani byli morbidní z DEARE do 114 dnů, zatímco při podávání lisinoprilu (24 mg denně) od 7. dne po ozáření došlo k zlepšení přežití na 88 %. Lisinopril zmírnil radiační pneumonitidu u mladých samic a radiační nefropatii u obou pohlaví.

U ozářených starých samic se vyvinula letální nefropatie a všechny se staly morbidními do 170 dnů po ozáření, ačkoli žádná z nich nevykazovala smrtelnou radiační pneumonitidu. U starých samců se do 150 dnů po ozáření vyvinula méně závažná radiační nefropatie než u samic stejného věku, ačkoli 33 % z nich zůstalo naživu 180 dní po ozáření. Při 13 Gy nedošlo u starých samic a samců k vyvinutí letální radiační pneumonitidy do 80 – 90 dnů po expozici, ale mohou být citlivější na ARS v prvních 30 dnech ve srovnání s mladými potkany. Lisinopril zmírnil radiační nefropatii u starých potkanů obou pohlaví.

Závěr: Tato studie popsala letální DEARE po 13 Gy PBI leg-out u mladých a starých potkanů. **Porovnání zmírnění DEARE u různých věkových skupin potkanů vedlo k závěru, že**

mladší potkani byli citlivější na DEARE s dřívější manifestací poranění některých orgánů (Medhora et al., 2019).

Tabulka 20 - Studie č. 16 (Medhora et al., 2019)

Nemoc	DEARE
Druh	Potkan (WAG/RijCmcr)
Počet subjektů	111
Věk	41 – 651 dní
Pohlaví	Samci i samice
Primární účel	Zmírnění DEARE
Léčebná látka	Lisinopril
Hlavní pozorování	Nástup pneumonitidy u mladých potkanů 39 – 58 dnů po expozici Nástup nefropatie u mladých potkanů 106 – 114 dny Nástup nefropatie u starých potkanů do 150 dnů K nástupu pneumonitidy u starých potkanů nedošlo během 80 – 90 dnů

17. Wound Trauma Exacerbates Acute, but not Delayed, Effects of Radiation in Rats: Mitigation by Lisinopril

Cílem této práce bylo vyvinout model ARS a DEARE s cílem porozumět a zmírnit jejich účinky v případě radiační havárie, kdy je poranění ozářením doprovázeno poraněním kůže nebo popáleninami. Studie proběhla na Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA pod vedením M. Medhora.

Metody: Tato studie zahrnovala 6 skupin potkanů: 1) pouze poranění, 2) pouze rány + lisinopril, 3) pouze ozáření, 4) ozáření + lisinopril, 5) rány + ozáření, 6) rány + ozáření + lisinopril. Samice potkanů (tabulka č. 21) obdržely 13 Gy PBI leg-out a během 2 hodin jim byly přivezeny rány na kůži. U vybraných skupin byla zahájena léčba lisinoprilem podávaným v pitné vodě od 7. dne po ozáření. Morbidita, oblast kožní rány, interval dýchání a obsah močoviny v krvi byly měřeny až 160 dní po ozáření, aby se nezávisle vyhodnotilo trauma rány a DEARE.

Výsledek: Interakce mezi ranami a lisinoprilem v čase morbidit u ozářených potkanů nemohla být v tomto experimetu zkoumána, protože nedošlo k žádné morbiditě ve skupině potkanů

s lisinoprilem a bez zranění. Účinek lisinoprilu na přežití mezi 31. a 90. dnem (během pneumonitidy) byl hodnocen pomocí Log Rank testů. Zranění zhoršilo morbiditu u ozářených potkanů mezi 5. – 14. dnem po ozáření (během fáze ARS) a ozáření zpomalilo hojení ran. Poranění však nezměnilo opožděnou morbiditu během DEARE během 31. – 160. dne.

Závěr: Výsledky tohoto experimentu kombinovaných poranění naznačují různé mechanismy poranění a hojení ARS a DEARE po ozáření (Medhora et al., 2020).

Tabulka 21 - Studie č. 17 (Medhora et al., 2020)

Nemoc	DEARE
Druh	Potkan (WAG/RijCmcr)
Počet subjektů	74
Věk	11 – 12 týdnů
Pohlaví	Samice
Primární účel	Zmírnění DEARE v kontextu traumatu
Léčebná látka	Lisinopril
Hlavní pozorování	Zhoršená morbidita u zraněných ozářených potkanů 5. – 14. den během ARS Nezměněná morbidita u zraněných ozářených potkanů 31. – 160. den během DEARE

18. Cardiac Remodeling and Reversible Pulmonary Hypertension During Pneumonitis in Rats after 13-Gy Partial-Body Irradiation with Minimal Bone Marrow Sparing: Effect of Lisinopril

Tato studie proběhla pod vedením E. R. Jacobs na Medical College of Wisconsin, Zablocki VAMC, Milwaukee, USA. Cílem tohoto výzkumu bylo definovat echokardiografické rysy u ozářených potkanů nejdříve před letální radiační pneumonitidou (50. den po ozáření) a poté po zotavení z pneumonitidy, ale ještě před letální radiační nefropatií (100. den po ozáření). Dále také určit účinky ACE inhibitoru lisinoprilu.

Metody: Tento experiment byl rozdělen na 3 soubory, které se od sebe lišily pouze dny, kdy bylo potkanům provedeno echokardiografické vyšetření, pitva a následná histologie. Samice potkanů byly rozděleny do 4 skupin: 1) neozářené, 2) neozářené + lisinopril, 3) ozářené PBI leg-out a 4) ozářené PBI leg-out + lisinopril. Sedm dní po ozáření dávkou 13 Gy začal být podáván lisinopril v pitné vodě až do ukončení studie. Všem potkanům byla poskytnuta podpůrná léčba. Echokardiogramy byly pořízeny 50., 100. nebo 50. + 100. den po ozáření podle toho, jaký soubor experimentu právě probíhal.

Výsledky: U skupiny, která obdržela PBI leg-out bez lisinoprilu prokázalo echokardiografické vyšetření přechodnou plicní hypertenzi po 50 dnech, která byla do 100. dne u většiny potkanů vyléčena. Ozáření potkani, kterým byl podáván lisinopril, nevykazovali žádné zvýšení tlaku v plicnici po 50 dnech, ale došlo u nich k remodelaci levé komory. Při měření po 100 dnech tito potkani vykazovali určité známky plicní hypertenze. Lisinopril samotný neměl u neozářených potkanů žádný vliv na echokardiografické koncové body v žádném čase. Při pozorování po 100 dnech po ozáření byl objeven mírný nárůst žírných buněk a fibróza v srdci. Příčinou morbidity u potkanů, kteří byli pouze ozářeni, byla radiační pneumonitida, která byla při pitvě prokázána poraněním plic a viditelným pleurálním výpotkem. Mezi jednotlivými soubory potkanů léčených stejným způsobem nebyly žádné rozdíly.

Závěr: Lisinopril modifikoval kardiovaskulární remodelaci (tabulka č. 22) ke **zvýšení přežití v tomto modelu ze 41 % na 86 %** (Jacobs et al., 2019).

Tabulka 22 - Studie č. 18 (Jacobs et al., 2019)

Nemoc	DEARE
Druh	Potkan (WAG/RijCmcr)
Počet subjektů	83
Věk	11 – 12 týdnů
Pohlaví	Samice
Primární účel	Vliv lisinoprilu na echokardiografické rysy potkanů po ozáření
Léčebná látka	Lisinopril
Hlavní pozorování	Zvýšení přežití potkanů při podávání lisinoprilu

19. Combined Hydration and Antibiotics with Lisinopril to Mitigate Acute and Delayed High-dose Radiation Injuries to Multiple Organs

Cílem této studie bylo vyvinout protipatření k léčbě akutních a opožděných účinků záření, která mohou nastat při jaderných událostech. Výzkum sestával ze dvou částí, a to ARS po poškození gastrointestinálního a hematopoetického systému do 30 dnů po expozici a DEARE po poškození plic, ledvin, mozku, střev a hematopoetického systému v řádu měsíců po ozáření. Studie byla vedena B. L. Fishem na Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA.

Metody: Aby bylo možné vyvinout modely DEARE, bylo zabráněno toxicitě kostní dřeně pomocí léků, transplantace kostní dřeně nebo šetřením kostní dřeně stíněním. Následně byly vytvořeny dva potkaní modely. První sloužil k pozorování zmírnění pozdních poranění plic a ledvin po podávání lisinoprilu, G-CSF a Enrofloxacinu. V této skupině bylo 30 samic potkanů, které byly ozářeny PBI leg-out o dávce 12,5 Gy. Součástí byly dvě neozářené kontrolní skupiny (tabulka č. 23). Druhý model sloužil k pozorování zmírnění ARS a DEARE. Ozářeno bylo 40 samic potkanů dávkou 13 Gy PBI leg-out s následnou podpůrnou léčbou v podobě podávání Enrofloxacinu a pravidelné hydratace subkutánní injekcí fyziologického roztoku. Součástí byla kontrolní skupina 3 potkanů. U obou modelů probíhal experiment po dobu 150 dní.

Tabulka 23 - Studie č. 19 - Rozdělení do skupin (Fish et al., 2016)

		Dávka	Intervence	n =
Zmírnění pozdních poranění plic a ledvin	skupina 1	12,5 Gy leg-out PBI	-	10
	skupina 2	12,5 Gy leg-out PBI	lisinopril	10
	skupina 3	12,5 Gy leg-out PBI	lisinopril + G-CSF	10
	skupina 4	0 Gy	-	6
	skupina 5	0 Gy	lisinopril	6
Zmírnění ARS + DEARE	skupina 1	13 Gy leg-out PBI	-	14
	skupina 2	13 Gy leg-out PBI	lisinopril	13
	skupina 3	13 Gy leg-out PBI	lisinopril + G-CSF	13
	skupina 4	0 Gy	-	3
	skupina 5	0 Gy	s podpůrnou péčí	3

Výsledky: Ozáření potkanů PBI leg-out, kdy nebyly provedeny žádné intervence, přežila všechna zvířata 120 dní, po kterých však rychle zemřela v závislosti na zvyšující se hladině močoviny v krvi. V první fázi po ozáření bylo 25 % potkanů morbidních do 20 dnů. Druhá fáze morbidity proběhla mezi 50 – 70 dny, kdy měli potkani typické známky pneumonitidy s vyšší frekvencí dýchání. U některých morbidních potkanů byly při pitvě pozorovány pleurální výpotky. U potkanů, kteří přežili posledních 70 dnů, se po 120 dnech vyvinula radiační nefropatie. U potkanů s dávkou 13 Gy PBI leg-out došlo k gastrointestinální morbiditě s průjmem mezi 4. – 10. dnem a pouze 30 % potkanů bylo naživu ve 20. dni. Stejně jako u jiných dávek se i u těchto potkanů rozvinula radiační pneumonitida (45. – 70. den) nebo nefropatie (120. – 160. den), viz tabulka č. 24.

Závěr: Touto studií bylo prokázáno, že použitím **kombinace lisinoprilu s fyziologickým roztokem a antibiotiky došlo ke zmírnění ARS i DEARE**. Vzhledem k tomu, že všechny tyto tři látky jsou schváleny pro klinické použití, mohly by být v případě akutní potřeby při radiologickém útoku předepsány i praktickým lékařem. Lisinopril byl také účinný v přítomnosti G-CSF a Enrofloxacinu. V případech, kdy byl lisinopril podáván samostatně nebo s G-CSF a Enrofloxacinem po 12,5 Gy PBI leg-out, nedošlo k žádné morbiditě do 150 dnů (Fish et al., 2016).

Tabulka 24 - Studie č. 19 (Fish et al., 2016)

Nemoc	ARS a DEARE
Druh	Potkan (WAG/RijCmcr)
Počet subjektů	70
Věk	11 – 12 týdnů
Pohlaví	Samice
Primární účel	Zmírnění ARS a DEARE
Léčebná látka	Lisinopril
Hlavní pozorování	Rozvoj pneumonitidy 45. – 70. den Rozvoj nefropatie 120. – 160. den

20. Lack of Cellular Inflammation in a Non-human Primate Model of Radiation Nephropathy

Tato studie se zabývala studiem zánětu jako mechanismu rozvoje radiační nefropatie v kontextu akutních a dlouhodobých účinků IZ. Proběhlo kvantifikování přítomnosti buněčného zánětu v ledvinách u nehumánních primátů, u kterých se vyvinulo akutní a chronické poškození ledvin po PBI. Tento výzkum byl veden E. P. Cohenem na University of Maryland, Baltimore, USA.

Metody: Makakové byli ozáření 10 Gy PBI, přičemž 43 mělo 2,5% úsporu kostní dřeně a 31 makaků 5% úsporu kostní dřeně. Součástí experimentu byla kontrolní neozářená skupina. Ze skupiny s 2,5% úsporou kostní dřeně bylo 31 primátů léčeno dvěma G-CSF – Neupogenem nebo Neulastou (tabulka č. 25). Ze skupiny, která měla 5% úsporu kostní dřeně podstoupilo 16 jedinců plánovanou euthanasii před koncem studie. Podávání leukocytárního růstového faktoru Neulasta nebo Neupogen probíhalo na základě tělesné hmotnosti. Látky byly podávány subkutánně pomocí čtyř léčebných kohort: Neulasta byla podávána jednou injekcí první (24 h) a osmý den nebo třetí (72 h) a desátý den. Neupogen byl aplikován jednou denně počínaje prvním (24 h) nebo třetím dnem (72 h) po ozáření. Dávkování Neupogenu bylo zastaveno po třech po sobě jdoucích dnech, kdy byl pozorován absolutní počet neutrofilů. Všechny skupiny byly pozorovány 180 dní nebo do jejich euthanasie. Orgány odebrané při pitvě byly zpracovány pro histologii.

Výsledky: Akutní poškození ledvin bylo u makaků zjištěno ihned po PBI a přetrvávalo i poté. Chronické poškození ledvin bylo také prokázáno brzy po PBI. Poté došlo k trvalému nárůstu skóre chronického poškození ledvin a všichni makakové, kteří přežili do konce studie měli toto skóre nad normou. Chronické poškození ledvin bylo také nalezeno brzy po PBI. Absence buněčného zánětu je zdůrazněna jeho nedostatkem ve skupinách makaků, kteří byli léčeni leukocytárními růstovými faktory. Ti nevykazovali rozdíly v buněčném zánětu renálního parenchymu navzdory použití leukocytárních růstových faktorů, u kterých lze očekávat prozánětlivý účinek.

Závěr: Tento experiment vedl k závěru, že **buněčný zánět není mechanismem akutního ani chronického poškození ledvin**. Pro renální radiační poškození byly navrženy další mechanismy poškození, jako je oxidační stres (Cohen et al., 2020).

Tabulka 25 - Studie č. 20 (Cohen et al., 2020)

Nemoc	Radiační nefropatie
Druh	Makak rhesus
Počet subjektů	74
Věk	Neuvedeno
Pohlaví	Neuvedeno
Primární účel	Prokázání zánětu jako mechanismu radiační nefropatie
Použitá látka	Neulasta a Neupogen
Hlavní pozorování	Buněčný zánět není mechanismem radiační nefropatie

7 DISKUZE

Koncept radiačního poškození organismu zahrnující RI-MODS, RI-MOF a DEARE je novým pohledem na vliv IZ na organismus. Již od objevení RTG záření na konci 19. století byly pozorovány první případy radiační dermatitidy a leukémie. Nicméně až po svržení atomových bomb na Hirošimu a Nagasaki a jaderné havárii v Černobyli došlo k popsání a objasnění mechanismů ARS. Až do nehody v Tokaimuře panovalo přesvědčení, že ARS spočívá v poškození tří orgánových soustav. Po tomto incidentu, kdy i přes včasné zahájení terapie, došlo k opožděným projevům ozáření a následnému úmrtí zasažených pracovníků byl učiněn závěr, že radiační poškození sestává ze systémového selhání. Pojmem RI-MODS byl označen stav poškození více orgánů, který graduje do RI-MOF – selhání více orgánů. Ačkoli byly mechanismy vedoucí k rozvoji RI-MODS zkoumány a navrženy dráhy, které vedou k jeho projevení, doposud nebylo mnoho jevů objasněno. Pravděpodobně se jedná o kontinuum událostí spojených s nekontrolovanými zánětlivými reakcemi a ztrátou vaskulární homeostázy. V posledních desetiletích se výzkum zaměřuje zejména na terapeutické a profylaktické možnosti těchto syndromů z důvodu hrozících válek a teroristických útoků (Williams a McBride, 2011; Tanigawa, 2021).

K určení a zahájení správné terapeutické péče je nutné znát mechanismy, které předchází rozvoji RI-MODS. K těmto účelům slouží experimentální zvířecí modely, na kterých jsou sledovány jevy, ke kterým dochází po ozáření. Hojně využívané myší modely se zaměřují zejména na rozvoj fibrózy ve více orgánech, změny ve střevě včetně rozvoje časných adenomů a regenerace střevních krypt. Potkaní modely se taktéž využívají k sledování dlouhodobých účinků vysokých dávek záření na různé orgánové soustavy a k porovnání s výsledky získaných ze studií na nehumánních primátech. U makaků, jakožto nehumánních primátů, je sledován vliv IZ na stejné orgánové soustavy jako u myší a potkanů včetně porovnání výsledků samců a samic stejného druhu.

Léčebné strategie, které se v dnešní době využívají, jsou zaměřené pouze na známé pozdní účinky u normálních tkání jednotlivých tkáňových struktur. Je tedy potřebné vyvíjet radioprotektory, radiomitigátory a radioterapeutika podle konkrétního radiačního poškození. K tomuto účelu slouží studie zaměřené na experimentální látky sloužící k terapii RI-MODS. Ve studiích jsou využívány zejména dlouhodobě používané léčivé přípravky schválené FDA, které by v případě akutní radiační události byly snadno dostupné. Mezi tyto přípravky patří v první řadě lisinopril, který patří do skupiny ACE inhibitorů a je jednou z mála látek, která má

zmírňující účinky na DEARE u potkanů, avšak nezmírňují ARS. Dalšími běžně využívanými léčivy je deferipron a ferrostatin, které vycytávají volné radikály a jsou proto v mnoha zemích schváleny k využití v akutní radiační medicíně. Dalšími látkami, které mají prokázaný vliv na zmírnění DEARE je aktivovaný protein C, nitrofenylové sloučeniny a BBT-059. Cílem těchto studií zaměřených na terapii RI-MODS je vytvoření účinných profylaktických a terapeutických farmak, která budou schválena FDA k užití osobám zasažených radiačními událostmi. V těchto studiích je pozorován vliv dané látky na zlepšení přežití po překonání H-ARS a opožděný rozvoj pneumonitidy, nefropatie apod. Na myších je testována valná většina těchto léčiv kromě lisinoprilu, který jakožto ACE inhibitor není u myši účinný. Naopak u potkanů je lisinopril jednou z nejčastěji testovaných látek, a to buď samostatně, tak i v kombinaci s dalšími látkami. Model nehumánních primátů byl využit ke zkoumání vlivu léků Neulasta a Neupogen na zánět, jakožto mechanismus vedoucí k rozvoji radiační nefropatie. Využívání modelů PBI leg-out slouží při těchto experimentech k obnově kostní dřeně a snazšímu překonání H-ARS s cílem zkoumat DEARE (Gasperetti et al., 2021).

Po expozici 10 – 11 Gy dochází k akutnímu i chronickému poškození ledvin. Pozdní chronické poškození je rysem radiační nefropatie, ke kterému dochází v řádu měsíců po ozáření. K hodnocení funkce ledvin se využívá hodnot sérového kreatininu a močoviny v krvi, které slouží ke klasifikaci rizika, poranění, selhání, ztráty a konečného stádia renálního onemocnění (Cohen et al., 2017). Unthank et al. (studie č. 1) myši byly ozářeny dávkou 8,53 – 8,72 Gy TBI a následně jim byla pravidelně kontrolována hladina močoviny v krvi, která byla v 9. a 21. měsíci zvýšená. V této době byla zvýšená i depozice kolagenu v orgánech včetně ledvin (Unthank et al., 2015). Unthank et al. (studie č. 4) prokázala, že u myši ozářených 9 Gy TBI došlo do 4 měsíců po ozáření nejdříve ke ztrátě endoteliálních buněk v koronárních tepnách a následně i renální dysfunkci (Unthank et al., 2019). Porovnáním výsledků potkaního modelu s modelem nehumánních primátů se zabýval Fish et al., (studie č. 5) ve které byli potkani ozáření 11 – 13,5 Gy TBI. Touto studií bylo zjištěno, že u potkanů dochází k rozvinutí závažnější a progresivnější radiační nefropatie než u makaků rhesus (Fish et al., 2020). Gasperetti et al. (studie č. 14) byli potkani rozděleni do několika skupin a ozáření 13 Gy PBI leg-out. Podávání terapie v podobě trojkombinace růstových faktorů v kombinaci s lisinoprilem mělo za následek pozdní nástup nefropatie mezi 140. – 150. dnem (Gasperetti et al., 2021). Medhora et al. (studie č. 16) se zabývala porovnáním výsledků mladých a starých potkanů vystavených dávce 13 Gy PBI leg-out. Výsledky ukázaly, že mladí potkani jsou citlivější na DEARE a radiační nefropatie se u nich rozvinula mezi 106. – 114. dnem po ozáření. Oproti

tomu u starých potkanů došlo k rozvoji nefropatie až o několik desítek dní později (Medhora et al., 2019). Jacobs et al. (studie č. 18) potkani ozáření 13 Gy PBI leg-out + lisinopril vykazovali při měření po 120 dnech po ozáření zvýšené hodnoty močoviny v krvi. Nefropatie se u nich objevila mezi 120. – 160. dnem (Jacobs et al., 2019). Cohen et al. (studie č. 20) byli makakové ozáření 10 Gy s 2,5% úsporou kostní dřeně. Těmto primátům byly podávány látky Neulasta a Neupogen. Akutní poškození ledvin se u nich rozvinulo ihned po ozáření a později i chronické. Touto studií bylo prokázáno, že zánět není mechanismem, který způsobuje radiační nefropatii (Cohen et al., 2020). Výsledky těchto studií se shodují. Těmito experimentálními studii na zvířecích modelech byl prokázán výskyt radiačního poškození ledvin po ozáření od 8,5 Gy, které dokazovala zvýšená hladina močoviny v krvi experimentálních zvířat a zvýšená depozice kolagenu v ledvinách. Studie zaměřující se na testování terapeutických látek prokázaly účinnost lisinoprilu a dalších léčiv na rozvoj radiační nefropatie, která se v případě časného zahájení terapie u zvířat projevila až po více než 100 dnech od ozáření.

Závislost poškození dávkou cílenou na oblast hrudníku je velmi výrazná. Již ozáření dávkou 5 Gy vede u potkanů k mírnému zvýšení hmotnosti pravé komory a snížení aktivity plicního angiotensin konvertujícího enzymu. U dávek nad 10 Gy dochází k výpadkům plicních cév, hypertrofii pravé komory apod. Mechanismy, kterými se tyto účinky na srdce vyskytují, nejsou dosud plně pochopeny. Tyto různé mechanismy pravděpodobně vedou k různým srdečním patologiím, např. mikrovaskulárnímu poškození a fibróze vedoucí k městnavému srdečnímu selhání a ateroskleróze koronárních tepen vedoucí k ischemii myokardu (Slezák et al., 2017). Unthank et al. (studie č. 1) myši byly ozářeny 8,53 – 8,72 Gy TBI. V 9. a 21. měsíci po ozáření bylo provedeno echokardiografické vyšetření a změřeny hladiny močoviny v krvi. U myši byla v této době pozorována zvýšená intersticiální, perivaskulární, perikardiální a peri-bronchiální fibróza v několika orgánech včetně srdce. Podle echokardiologie došlo u myši ke snížení objemů komor a zvýšení ejekční frakce levé komory (Unthank et al., 2015). Unthank et al. (studie č. 4) byla zkoumána souvislost ve vývoji vaskulopatie a kardiovaskulárních DEARE. Myši byly ozářeny 8,53 nebo 8,72 Gy TBI a následně byl po 4 a 22 měsících proveden histologický a molekulární rozbor srdce. Bylo prokázáno, že radiační dávky blízké LD_{50/30} mají za následek progresivní renální a kardiovaskulární DEARE (Unthank et al., 2019). Fish et al. (studie č. 5) se zabýval porovnáním výsledků potkanů a nehumánních primátů. Po ozáření 11 – 13,5 Gy vykazovali potkani i makakové obdobné orgánové dysfunkce a toxicitu srdce. Po podávání deferipronu a ferostatinu myším, které byly ve studii č. 12 ozářeny 8,53 Gy došlo ke snížení akutního ukládání železa do tkání a tím bylo zabráněno ztrátě endoteliálních buněk

a pravděpodobně i zpomalilo progresi srdečního DEARE (Fish et al., 2020). Fish et al. (studie č. 19) došlo u potkanů ozářených 13 Gy PBI leg-out s terapií v podobě podávání lisinoprilu, který modifikoval kardiovaskulární remodelaci a zvýšil přežití těchto potkanů ze 41 % na 86 % (Fish et al., 2016). Studie zahrnuté v praktické části se shodují na vlivu IZ na rozvoj kardiovaskulárních DEARE. Na zvířecích modelech byla prokázána fibróza srdce a rozvoji srdečních patologií. V jedné studii byl prokázán vliv deferipronu a fferostatinu na zpomalení srdečního DEARE.

Radiační poškození v plicích se rozvíjí po obdržení významných dávek záření na oblast hrudníku ale také po absorbování TBI vyšších než 8 Gy. V plicní tkáni dochází k přetrvávajícím vlnám zvýšené exprese různých prozánětlivých a profibrotických cytokinů a následně ke vzniku radiační pneumonitidy (zánětlivá odpověď) s následnou progresí do fibrózy. K pozorování těchto dějů byly vytvořeny zvířecí modely, z nichž je nejčastěji využíván model myši. Pro myši je stanovena prahová dávka pro rozvoj radiačně indukované pneumonitidy na 12 Gy, nicméně byly zaznamenány případy, kdy se příznaky radiačně indukovaného plicního poranění projeví po obdržení nižších dávek (Lierová et al., 2018). Unthank et al. (studie č. 1) spočívala v posouzení rozvoje pozdní fibrózy ve více orgánech včetně plic. U myši ozářených 8,53 – 8,72 Gy TBI byla v 9. a 21. měsíci po ozáření pozorována zvýšená depozice kolagenu v několika orgánech včetně plic (Unthank et al., 2015). Fish et al. (studie č. 5) byly porovnávány výsledky potkanů a nehumánních primátů po ozáření dávkou 11 – 13,5 Gy. Po ozáření hrudníku došlo u potkanů k obnově funkce plic po pneumonitidě. U nehumánních primátů nebyl tento aspekt hodnocen. Potkani a makakové vykazovali obdobné orgánové dysfunkce včetně toxicity plic (Fish et al., 2020). MacVittie et al. (studie č. 6) byli makakové ozářeni dávkami 9 – 12,5 Gy PBI s 5% úsporou kostní dřeně a sledování po dobu 180 dnů, kdy byly definovány orgánově specifické následky pro multiorgánové opožděné poranění včetně plic (MacVittie et al., 2012). Thrall et al. (studie č. 9) se zaměřovala na porovnání výsledků vztahu dávka-odpověď u samců a samic makaka rhesus. Primáti rozdělení do 5 skupin byli vystaveni expozici zaměřené na plíce o dávce 9,5; 10; 10,5; 11 nebo 11,5 Gy a následně jim byl podáván Dexametazon. Podle výsledného grafu pro model ozáření celého hrudníku u samic makaka rhesus platí LD50/180 10,28 Gy, což odpovídá dříve publikovanému výsledku 10,27 Gy pro samce stejného druhu (Thrall et al., 2019). Gasperetti et al. (studie č. 14) potkani obdrželi dávku 7,5 Gy TBI a následně jim byla poskytnuta terapie podle rozřazení do skupin. Nástup pneumonitidy nastal 60. – 80. den. Při měření po 12 týdnech byly u všech ozářených skupin potkanů kratší dechové intervaly než u skupiny neozařených potkanů, což odpovídá vrcholu radiační pneumonitidy ve 12. týdnu

po ozáření. Přidání lisinoprilu k TC, ale nikoli k TC samotnému, zmírnilo poškození plic vyvolané zářením, které bylo pozorováno u samotného PEG-hG-CSF po 12 týdnech (Gasperetti et al., 2021). Medhora et al. (studie č. 16) byli potkani ozáření 13 Gy PBI leg-out a následně byl vybraným skupinám podáván lisinopril. K nástupu radiační pneumonitidy došlo u mladých potkanů mezi 39. – 58. dnem po expozici. Během 80. – 90. dne po ozáření nedošlo u starých potkanů k rozvoji pneumonitidy (Medhora et al., 2019). Jacobs et al. (studie č. 18) se zaměřovala na zmírnění DEARE pomocí podávání lisinoprilu potkanům ozářeným dávkou 12,5 – 13 Gy PBI leg-out. Radiační pneumonitida se u těchto potkanů rozvinula 45. – 70. den po ozáření (Jacobs et al., 2019). Ve studiích, které jsou zahrnuty do praktické části byly pozorovány patologické změny v plicní tkáni zvířat již od dávek 8,5 Gy TBI, kdy byly u myši pozorovány změny v depozici kolagenu a zaznamenány kratší dechové intervaly. Podáváním terapeutických léčiv, např. lisinoprilu došlo k zmírnění a oddálení rozvoje radiační pneumonitidy.

Unthank et al. (studie č. 1), Fish et al. (studie č. 5) a MacVittie et al. (studie č. 6) se zabývali vlivem IZ na více orgánových soustav a tudíž na popis RI-MODS. V těchto studiích byl popsán rozvoj fibrózy v ledvinách, srdci a plicích, dále rozvoj radiačně indukované nefropatie, pneumonie a změny na GIT. Byly pozorovány obdobné orgánové dysfunkce a příčinné souvislosti v poškození a selhání těchto orgánových soustav, na základě čeho je možné jednoznačně potvrdit nový koncept radiačního poškození (Unthank et al., 2015; Fish et al., 2020; MacVittie et al., 2012). Většina současných experimentálních látek testovaných k terapii RI-MODS je navržena pro koncept akutních radiačních příhod, jelikož se jedná o běžně používané a dobře dostupné látky, např. lisinopril. Ze studií je patrné, že tyto látky mají vliv na zmírnění DEARE.

Ačkoli je obava z možného využití atomových bomb a teroristických útoků čím dál větší, současné terapeutické postupy jsou nedostačující. I přes množství probíhajících studií, které testují farmaka s cílem využít je ke zmírnění DEARE, stále neexistuje účinná profylaxe ani terapie, která by dokázala ochránit zasahující složky u radiačních nehod. Aktuální světová situace však může vést k většímu financování těchto studií a tudíž i novým objevům v tomto odvětví.

8 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo popsat vliv IZ na organismus a vznik radiačního poškození a dále navázat rešerší dostupných informací o novém konceptu radiačního poškození, kterým je RI-MODS a RI-MOF. Druhým důležitým záměrem bylo vyhledat v databázích studie, které se věnují experimentálním zvířecím modelům na studium DEARE, RI-MODS a RI-MOF a studie zaměřené na experimentální látky k terapii k uvedeným syndromům.

Teoretická část obsahuje obecný vhled do problematiky radiačního poškození organismu od počátků radiobiologie až po nejnovější koncept DEARE, RI-MODS a RI-MOF. Z historického hlediska bylo radiačního poškození poprvé pozorováno současně s objevem RTG záření, ale k přelomovým objevům došlo až po svržení atomových bomb na japonská města Hirošimu a Nagasaki, kdy bylo poprvé charakterizováno ARS, kterému je věnován prostor i v této práci. Další významné historické události, jako je jaderná havárie v Černobylu a incident Tokaimura, vedly k dalšímu zkoumání vlivu IZ na člověka a stanovení nového radiobiologického konceptu. V další kapitole je vysvětlen pojem DEARE v kontextu s ARS. Po obecné charakteristice RI-MODS bylo několik kapitol věnováno jednotlivým historickým událostem, při kterých byl tento syndrom pozorován. Dále byly popsány jednotlivé cesty, které vedou k rozvoji tohoto syndromu, včetně popisu radiací vyvolaného zánětu, reakce imunitního systému, vlivu ROS na buňky, vlivu IZ na integritu bariéry a buněčné smrti. Poslední část teorie se věnuje současným terapeutickým možnostem radiačního poškození a volně navazuje na praktickou část.

Praktická část byla zaměřena na vyhledávání v databázích a následném zpracování nalezených studií. V této části práce je popsána metodika, včetně výběru databází, zvolení klíčových slov, vysvětlení JBI protokolu a stanovení PCC otázky, na základě, které byly vyhledány studie věnující se experimentálním zvířecím modelům na studium RI-MODS nebo experimentálními látkami sloužícími k terapii RI-MODS. Dále byl u každé studie uveden postup, výsledky a závěr experimentu včetně přehledové tabulky. V této části jsou také popsány látky, které se v experimentech zabývajících se terapií RI-MODS používají.

V teoretické i praktické části této bakalářské práce došlo k dosažení cílů. Byl popsán nový koncept radiačního poškození zahrnující RI-MODS, RI-MOF a DEARE, včetně historického kontextu, mechanismů, které vedou k jeho rozvoji a současných terapeutických možností. V praktické části byly shrnuty a posouzeny výsledky nalezených vědeckých studií zaměřených na tuto problematiku. Toto téma je v dnešní době válečných konfliktů

a teroristických útoků velmi aktuální, a proto je více než kdy jindy potřeba se tomuto tématu intenzivně věnovat a znát vhodné terapeutické a profylaktické postupy.

Psaní této bakalářské práce mě obohatilo o nové poznatky z oboru radiobiologie. Jelikož je tematika RI-MODS, RI-MOF a DEARE relativně nová a v českém jazyce dosud nebyla takto komplexně zpracována, výrazně má bakalářská práce přispívá k současné literatuře, ale také poukazuje na další potřebu intenzivního výzkumu v této vědecké oblasti.

9 POUŽITÁ LITERATURA

- AUGUSTINE, A. D., GONDRÉ-LEWIS, T., MCBRIDE, W., MILLER, L., PELLMAR, T. C., & ROCKWELL, S., 2005. *Animal Models for Radiation Injury, Protection and Therapy*. *Radiation Research* [online]. 164(1), 100–109. Dostupné z: doi:10.1667/rr3388
- BOOTH, C., TUDOR, G. L., KATZ, B. P., & MACVITTIE, T. J., 2015. The Delayed Effects of Acute Radiation Syndrome: Evidence of Long-Term Functional Changes in the Clonogenic Cells of the Small Intestine. *Health physics* [online]. 109(5), 399–413. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000356>
- BOOTH, C., TUDOR, G., TONGE, N., SHEA-DONOHUE, T., & MACVITTIE, T. J., 2012. Evidence of delayed gastrointestinal syndrome in high-dose irradiated mice. *Health physics* [online]. 103(4), 400–410. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/hp.0b013e31826530e2>
- BURNHAM, J. W., & FRANCO, J., 2005. Radiation. *Critical care clinics* [online]. 21(4), 785–viii. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2005.06.003>
- COHEN, E. P., FARESE, A. M., PARKER, G. A., KANE, M. A., & MACVITTIE, T. J., 2020. Lack of Cellular Inflammation in a Non-human Primate Model of Radiation Nephropathy. *Health physics* [online]. 119(5), 588–593. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000001329>
- COHEN, E. P., HANKEY, K. G., BENNETT, A. W., FARESE, A. M., PARKER, G. A., & MACVITTIE, T. J., 2017. Acute and Chronic Kidney Injury in a Non-Human Primate Model of Partial-Body Irradiation with Bone Marrow Sparing. *Radiation research* [online]. 188(6), 661–671. Dostupné z: <https://doi.org/10.1667/RR24857.1>
- DECOURSEY E. C., 1948. M.C., U. S. Army, Human Pathologic Anatomy of Ionizing Radiation Effects of the Atomic Bomb Explosions, *The Military Surgeon* [online]. Volume 102, Issue 6, Pages 427–432, Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/milmed/102.6.427>
- DENHAM, J. W., & HAUER-JENSEN, M., 2002. The radiotherapeutic injury--a complex 'wound'. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology* [online]. 63(2), 129–145. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/s0167-8140\(02\)00060-9](https://doi.org/10.1016/s0167-8140(02)00060-9)

- DESOUKY O., DING N., ZHOU G., 2015. Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation, *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* [online]. Volume 8, Issue 2, Pages 247-254, ISSN 1687-8507, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.03.003>
- DONNELLY, E. H., NEMHAUSER, J. B., SMITH, J. M., KAZZI, Z. N., FARFÁN, E. B., CHANG, A. S., & NAEEM, S. F., 2010. Acute radiation syndrome: assessment and management. *Southern medical journal* [online]. 103(6), 541–546. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/SMJ.0b013e3181ddd571>
- DÖRR, H., & MEINEKE, V., 2011. Acute radiation syndrome caused by accidental radiation exposure - therapeutic principles. *BMC medicine* [online]. 9, 126. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-126>
- FISH, B. L., GAO, F., NARAYANAN, J., BERGOM, C., JACOBS, E. R., COHEN, E. P., MOULDER, J. E., ORSCHELL, C. M., & MEDHORA, M., 2016. Combined Hydration and Antibiotics with Lisinopril to Mitigate Acute and Delayed High-dose Radiation Injuries to Multiple Organs. *Health physics* [online]. 111(5), 410–419. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000554>
- FISH, B. L., MACVITTIE, T. J., SZABO, A., MOULDER, J. E., & MEDHORA, M., 2020. WAG/RijCmcr rat models for injuries to multiple organs by single high dose ionizing radiation: similarities to nonhuman primates (NHP). *International journal of radiation biology* [online]. 96(1), 81–92. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1554921>
- FUKUDA, S., IKEDA, M., ANZAI, K., SUZUKI, M., KATOH, A., & KONTOGHIORGHES, G. J., 2006. Radiation Protection by Deferiprone in Animal Models. *Hemoglobin* [online]. 30(2), 201–208. Dostupné z: [doi:10.1080/03630260600642484](https://doi.org/10.1080/03630260600642484)
- GASPERETTI, T., MILLER, T., GAO, F., NARAYANAN, J., JACOBS, E. R., SZABO, A., COX, G. N., ORSCHELL, C. M., FISH, B. L., & MEDHORA, M., 2021. Polypharmacy to Mitigate Acute and Delayed Radiation Syndromes. *Frontiers in pharmacology* [online]. 12, 634477. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.634477>
- GOMEZ, H. J., CIRILLO, V. J., & Moncloa, F., 1987. The clinical pharmacology of lisinopril. *Journal of cardiovascular pharmacology* [online]. 9 Suppl 3, S27–S34. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/00005344-198700003-00008>

- GREENBERGER, J. S., & EPPERLY, M., 2009. Bone Marrow–Derived Stem Cells and Radiation Response. *Seminars in Radiation Oncology* [online]. 19(2), 133–139. Dostupné z: doi:10.1016/j.semradonc.2008.11.006
- HAVRÁNKOVÁ, Renata, 2020. *Klinická radiobiologie*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 184 s. ISBN 978-80-247-4098-0.
- HIRAMA, T., & AKASHI, M., 2005. Multi-organ involvement in the patient who survived the Tokai-mura criticality accident. *The British Journal of Radiology, Supplement* [online]. 27(1), 17–20. Dostupné z: doi:10.1259/bjr/51028846
- CHIANG, C. S., & MCBRIDE, W. H., 1991. Radiation enhances tumor necrosis factor alpha production by murine brain cells. *Brain research* [online]. 566(1-2), 265–269. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91707-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91707-8)
- CHOUHDARY S., 2018. Deterministic and Stochastic Effects of Radiation. *Canc Therapy & Oncol Int J.* [online]. 12(2): 555834. Dostupné z: DOI: 10.19080/CTOIJ.2018.12.555834.
- IGAKI, H., NAKAGAWA, K., UOZAKI, H., AKAHANE, M., HOSOI, Y., FUKAYAMA, M., MIYAGAWA, K., AKASHI, M., OHTOMO, K., & MAEKAWA, K., 2008. Pathological changes in the gastrointestinal tract of a heavily radiation-exposed worker at the Tokai-mura criticality accident. *Journal of radiation research* [online]. 49(1), 55–62. Dostupné z: <https://doi.org/10.1269/jrr.07058>
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 1993. The Radiological Accident in Soreq, *Non-serial Publications* [online]. IAEA, Vienna. Dostupné z: <https://www.iaea.org/publications/3798/the-radiological-accident-in-soreq>
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 1999. Report on the Preliminary Fact Finding Mission Following the Accident at the Nuclear Fuel Processing Facility in Tokaimura, Japan, *Non-serial Publications* [online]. IAEA, Vienna. Dostupné z: <https://www.iaea.org/publications/5957/report-on-the-preliminary-fact-finding-mission-following-the-accident-at-the-nuclear-fuel-processing-facility-in-tokaimura-japan>
- JACOBS, E. R., NARAYANAN, J., FISH, B. L., GAO, F., HARMANN, L. M., BERGOM, C., GASPERETTI, T., STRANDE, J. L., & MEDHORA, M., 2019. Cardiac Remodeling and Reversible Pulmonary Hypertension During Pneumonitis in Rats after 13-Gy Partial-Body Irradiation with Minimal Bone Marrow Sparing: Effect of Lisinopril. *Health physics* [online]. 116(4), 558–565. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000919>

- KARAMAN, Rafik, 2014. Prodrugs Design - A New Era: Prodrugs Design Based on Inter- and Intramolecular Processes [online]. In: Nova Science Publishers, Inc., pp.1-76. [cit. 2022-04-19]. ISBN 978-1-63117-701-9. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/272565621_Prodrugs_Design_Based_on_Inter-_and_Intramolecular_Processes
- KIANG, J. G., OLABISI, A. O., 2019. Radiation: a poly-traumatic hit leading to multi-organ injury. *Cell Biosci* [online]. 9, 25. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0286-y>.
- KLUGAR, Miloslav, 2015. Systematická review ve zdravotnictví. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. 120p. ISBN 978-80-244-4785-8.
- KUMAR, V. P., BISWAS, S., SHARMA, N. K., STONE, S., FAM, C. M., COX, G. N., & GHOSH, S. P., 2018. PEGylated IL-11 (BBT-059): A Novel Radiation Countermeasure for Hematopoietic Acute Radiation Syndrome. *Health physics* [online]. 115(1), 65–76. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000841>
- LAUBER, K., ERNST, A., ORTH, M., HERRMANN, M., & BELKA, C., 2012. Dying cell clearance and its impact on the outcome of tumor radiotherapy. *Frontiers in oncology* [online]. 2, 116. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fonc.2012.00116>
- LEGESSE, B., KAUR, A., KENCHEGOWDA, D., HRITZO, B., CULP, W. E., & MORONI, M., 2019. Neulasta Regimen for the Hematopoietic Acute Radiation Syndrome: Effects Beyond Neutrophil Recovery. *International journal of radiation oncology, biology, physics* [online]. 103(4), 935–944. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2018.11.043>
- LEHNERT, B. E., & IYER, R., 2002. Exposure to low-level chemicals and ionizing radiation: reactive oxygen species and cellular pathways. *Human & Experimental Toxicology* [online]. 21(2), 65–69. Dostupné z: [doi:10.1191/0960327102ht212oa](https://doi.org/10.1191/0960327102ht212oa)
- LIEROVA, A., JELICOVA, M., NEMCOVA, M., PROKSOVA, M., PEJCHAL, J., ZARYBNICKA, L., & SINKOROVA, Z., 2018. Cytokines and radiation-induced pulmonary injuries. *Journal of radiation research* [online]. 59(6), 709–753. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jrr/rry067>
- LÓPEZ, M., & MARTÍN, M., 2011. Medical management of the acute radiation syndrome. Reports of practical oncology and radiotherapy : journal of Greatpoland Cancer Center in Poznan and Polish Society of Radiation Oncology, [online]. 16(4), 138–146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rpor.2011.05.001>

MACIÀ I GARAU, M., A. L. CALDUCH a E. C. LÓPEZ, 2011. Radiobiology of the acute radiation syndrome. Reports of practical oncology and radiotherapy [online]. Elsevier Urban. vol. 16, iss. 4, s. 123-130 [cit. 2020-05-17]. Dostupné z: DOI: 10.1016/j.rpor.2011.06.001.

MACVITTIE, T. J., & FARESE, A. M., 2020. Defining the Concomitant Multiple Organ Injury within the ARS and DEARE in an Animal Model Research Platform. *Health Physics*. [online]. Dostupné z: doi:10.1097/hp.0000000000001327

MACVITTIE, T. J., BENNETT, A., BOOTH, C., GAROFALO, M., TUDOR, G., WARD, A., SHEA-DONOHUE, T., GELFOND, D., MCFARLAND, E., JACKSON, W., 3rd, LU, W., & FARESE, A. M., 2012. The prolonged gastrointestinal syndrome in rhesus macaques: the relationship between gastrointestinal, hematopoietic, and delayed multi-organ sequelae following acute, potentially lethal, partial-body irradiation. *Health physics* [online]. 103(4), 427–453. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0b013e318266eb4c>

MEDHORA, M., GAO, F., GASPERETTI, T., NARAYANAN, J., KHAN, A. H., JACOBS, E. R., & FISH, B. L., 2019. Delayed Effects of Acute Radiation Exposure (Deare) in Juvenile and Old Rats: Mitigation by Lisinopril. *Health physics* [online]. 116(4), 529–545. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000920>

MEDHORA, M., GASPERETTI, T., SCHAMERHORN, A., GAO, F., NARAYANAN, J., LAZAROVA, Z., JACOBS, E. R., TARIMA, S., & FISH, B. L., 2020. Wound Trauma Exacerbates Acute, but not Delayed, Effects of Radiation in Rats: Mitigation by Lisinopril. *International journal of molecular sciences* [online]. 21(11), 3908. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms21113908>

MEDHORA, M., PHADNIS, P., NARAYANAN, J., GASPERETTI, T., ZIELONKA, J., MOULDER, J. E., FISH, B. L., & SZABO, A., 2021. Radiation Increases Bioavailability of Lisinopril, a Mitigator of Radiation-Induced Toxicities. *Frontiers in pharmacology* [online]. 12, 646076. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.646076>

METTLER, Fred A., Angelina K. GUS'KOVA a Igor GUSEV, 2007. HEALTH EFFECTS IN THOSE WITH ACUTE RADIATION SICKNESS FROM THE CHERNOBYL ACCIDENT. *Health Physics* [online]. vol. 93, iss. 5, s. 462-469. Dostupné z: 10.1097/01.HP.0000278843.27969.74

MICEWICZ, E. D., IWAMOTO, K. S., RATIKAN, J. A., NGUYEN, C., XIE, M. W., CHENG, G., BOXX, G. M., DERIU, E., DAMOISEAUX, R. D., WHITELEGGE, J. P., RUCHALA, P.

- P., AVETISYAN, R., JUNG, M. E., LAWSON, G., NEMETH, E., GANZ, T., SAYRE, J. W., MCBRIDE, W. H., & SCHAUE, D., 2019. The Aftermath of Surviving Acute Radiation Hematopoietic Syndrome and its Mitigation. *Radiation research* [online]. 191(4), 323–334. Dostupné z: <https://doi.org/10.1667/RR15231.1>
- MICEWICZ, E. D., KIM, K., IWAMOTO, K. S., RATIKAN, J. A., CHENG, G., BOXX, G. M., DAMOISEAUX, R. D., WHITELEGGE, J. P., RUCHALA, P., NGUYEN, C., PURBEY, P., LOO, J., DENG, G., JUNG, M. E., SAYRE, J. W., NORRIS, A. J., SCHAUE, D., & MCBRIDE, W. H., 2017. 4-(Nitrophenylsulfonyl)piperazines mitigate radiation damage to multiple tissues. *PloS one* [online]. 12(7), e0181577. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181577>
- MICHALSON, K. T., MACINTYRE, A. N., SEMPOWSKI, G. D., BOURLAND, J. D., HOWARD, T. D., HAWKINS, G. A., DUGAN, G. O., CLINE, J. M., & REGISTER, T. C., 2019. Monocyte Polarization is Altered by Total-Body Irradiation in Male Rhesus Macaques: Implications for Delayed Effects of Acute Radiation Exposure. *Radiation research* [online]. 192(2), 121–134. Dostupné z: <https://doi.org/10.1667/RR15310.1>
- MILLER, S. J., CHITTAJALLU, S., SAMPSON, C., FISHER, A., UNTHANK, J. L., & ORSCHELL, C. M., 2020. A Potential Role for Excess Tissue Iron in Development of Cardiovascular Delayed Effects of Acute Radiation Exposure. *Health physics* [online]. 119(5), 659–665. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000001314>
- MIZOCK B. A., 2009. The multiple organ dysfunction syndrome. *Disease-a-month* [online]. DM, 55(8), 476–526. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2009.04.002>
- NANDURI, L., DUDDEMPUDI, P. K., YANG, W. L., TAMARAT, R., & GUHA, C., 2021. Extracellular Vesicles for the Treatment of Radiation Injuries. *Frontiers in pharmacology* [online]. 12, 662437. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.662437>
- OLVERA LOPEZ E, PARMAR M., PENDELA V. S., et al., 2022. Lisinopril. [Updated 2022 Jan 16]. In: StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482230/?report=classic>
- PETERS, M., GODFREY, C., MCINERNEY, P., MUNN, Z., TRICO, A., & KHALIL, H., 2020. Chapter 11: Scoping Reviews. *JBIM Manual for Evidence Synthesis* [online]. Dostupné z: <https://doi.org/10.46658/jbimes-20-12>

PRADO, C., MACVITTIE, T. J., BENNETT, A. W., KAZI, A., FARESE, A. M., & PRADO, K., 2017. Organ Doses Associated with Partial-Body Irradiation with 2.5% Bone Marrow Sparing of the Non-Human Primate: A Retrospective Study. *Radiation research* [online]. 188(6), 615–625. Dostupné z: <https://doi.org/10.1667/RR14804.1>

PRESTON R. J., 2005. Radiation biology: concepts for radiation protection. *Health physics* [online]. 88(6), 545–556. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/00004032-200506000-00003>

RAY, Kausik a Melissa STICK, 2015. Radiation and Health Effects. *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents* [online]. Elsevier, s. 431-446 [cit. 2022-04-14]. ISBN 9780128001592. Dostupné z: [doi:10.1016/B978-0-12-800159-2.00032-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800159-2.00032-4)

RODEMANN, H. P., & BLAESE, M. A., 2007. Responses of Normal Cells to Ionizing Radiation. *Seminars in Radiation Oncology* [online]. 17(2), 81–88. Dostupné z: [doi:10.1016/j.semradonc.2006.11.005](https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2006.11.005)

ROSENTHAL, A., ISRAILEVICH, R., & Moy, R., 2019. Management of acute radiation dermatitis: A review of the literature and proposal for treatment algorithm. *Journal of the American Academy of Dermatology*, [online]. 81(2), 558–567. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.02.047>

SAENKO, V., IVANOV, V., TSYB, A., BOGDANOVA, T., TRONKO, M., DEMIDCHIK, Y., & YAMASHITA, S., 2011. The Chernobyl accident and its consequences. *Clinical oncology (Royal College of Radiologists (Great Britain))* [online]. 23(4), 234–243. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clon.2011.01.502>

SASAKI, M. S., ENDO, S., HOSHI, M., & NOMURA, T., 2016. Neutron relative biological effectiveness in Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors: a critical review. *Journal of radiation research* [online]. 57(6), 583–595. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jrr/rrw079>

SHARMA, N. K., HOLMES-HAMPTON, G. P., KUMAR, V. P., BISWAS, S., WUDDIE, K., STONE, S., ASCHENAKE, Z., WILKINS, W. L., FAM, C. M., COX, G. N., & GHOSH, S. P., 2020. Delayed effects of acute whole body lethal radiation exposure in mice pre-treated with BBT-059. *Scientific reports* [online]. 10(1), 6825. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63818-7>

SCHILLACI, Mario E., 1995. Radiation and Risk – A Hard Look at the Data: A Brief History of Radiation. *Los Alamos Science* [online]. iss. 23, s. 116-123 [cit. 2022-04-14]. Dostupné z: <https://permalink.lanl.gov/object/tr?what=info:lanl-repo/lareport/LA-UR-95-4005-03>

SILK, A. W., & MARGOLIN, K., 2019. Cytokine Therapy. *Hematology/oncology clinics of North America* [online]. 33(2), 261–274. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2018.12.004>

SINGH, Vijay K., Melissa GARCIA a Thomas M. SEED, 2017. A review of radiation countermeasures focusing on injury-specific medicinals and regulatory approval status: part II. Countermeasures for limited indications, internalized radionuclides, emesis, late effects, and agents demonstrating efficacy in large animals with or without FDA IND status. *International Journal of Radiation Biology* [online]. vol. 93, iss. 9, 870-884 [cit. 2022-04-020]. ISSN 0955-3002. Dostupné z: doi:10.1080/09553002.2017.1338782

SLEZÁK, J. et al., 2017. Potential markers and metabolic processes involved in the mechanism of radiation-induced heart injury. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* [online]. 95(10), 1190–1203. Dostupné z: doi:10.1139/cjpp-2017-0121

SRIDHARAN, V., JOHNSON, K. A., LANDES, R. D., CAO, M., SINGH, P., WAGONER, G., HAYAR, A., SPRICK, E. D., EVELD, K. A., BHATTACHARYYA, A., KRAGER, K. J., AYKIN-BURNS, N., WEILER, H., FERNÁNDEZ, J. A., GRIFFIN, J. H., & BOERMA, M., 2021. Sex-dependent effects of genetic upregulation of activated protein C on delayed effects of acute radiation exposure in the mouse heart, small intestine, and skin. *PloS one* [online]. 16(5), e0252142. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252142>

STAVROU, E. X., & SCHMAIER, A. H., 2014. *Venous and Arterial Thrombosis. Cellular and Molecular Pathobiology of Cardiovascular Disease* [online]. 277–296. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-405206-2.00015-6

ŠTEFÁNEK, Jiří, 2011. Neupogen. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/neupogen>

TANIGAWA K., 2021. Case review of severe acute radiation syndrome from whole body exposure: concepts of radiation-induced multi-organ dysfunction and failure. *J Radiat Res.* [online]. 2021;62(Supplement_1):i15-i20. Dostupné z: doi:10.1093/jrr/rraa121

THRALL, K. D., MAHENDRA, S., JACKSON, M. K., JACKSON, W., FARESE, A. M., & MACVITTIE, T. J., 2019. *A Comparative Dose-response Relationship Between Sexes for Mortality and Morbidity of Radiation-induced Lung Injury in the Rhesus Macaque.* *Health Physics* [online]. 116(3), 354–365. Dostupné z: doi:10.1097/hp.0000000000000925

TRICCO, A. C., LILLIE, E., ZARIN, W., O'BRIEN, K. K., COLQUHOUN, H., LEVAC, D., & STRAUS, S. E., 2018. Prisma Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation. *Annals of Internal Medicine* [online]. 169(7), 467. Dostupné z: <https://doi.org/10.7326/m18-0850>

TUBIANA M., 1996. Wilhelm Conrad Röntgen et la découverte des rayons X [Wilhelm Conrad Röntgen and the discovery of X-rays]. *Bulletin de l'Academie nationale de medecine* [online]. 180(1), 97–108. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8696882/>

ULLMANN, V., n. d. Biologické účinky ionizujícího záření: Radiační ochrana. *AstroNuklFyzika* [online]. Ostrava [cit. 2022-04-15]. Dostupné z: <https://astronuklfyzika.cz/RadiacniOchrana.htm>

UNTHANK, J. L., MILLER, S. J., QUICKERY, A. K., FERGUSON, E. L., WANG, M., SAMPSON, C. H., CHUA, H. L., DISTASI, M. R., FENG, H., FISHER, A., KATZ, B. P., PLETT, P. A., SANDUSKY, G. E., SELLAMUTHU, R., VEMULA, S., COHEN, E. P., MACVITTIE, T. J., & ORSCHELL, C. M., 2015. Delayed Effects of Acute Radiation Exposure in a Murine Model of the H-ARS: Multiple-Organ Injury Consequent to <10 Gy Total Body Irradiation. *Health physics* [online] 109(5), 511–521. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000357>

UNTHANK, J. L., ORTIZ, M., TRIVEDI, H., PELUS, L. M., SAMPSON, C. H., SELLAMUTHU, R., FISHER, A., CHUA, H. L., PLETT, A., ORSCHELL, C. M., COHEN, E. P., & MILLER, S. J., 2019. Cardiac and Renal Delayed Effects of Acute Radiation Exposure: Organ Differences in Vasculopathy, Inflammation, Senescence and Oxidative Balance. *Radiation research* [online]. 191(5), 383–397. Dostupné z: <https://doi.org/10.1667/RR15130.1>

VÁVROVÁ, Jiřina a Pavel PETÝREK, 1998. Kmenové buňky krvetvorby versus cytokiny. *Vojenské zdravotnické listy* [online]. Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové. Ročník VII, 1998, č. 5 [cit. 2022-04-12]. Dostupné z: doi:6 16-001. 28-036. 1 1-089. 843. 018.46

VRABLÍK, Michal, Michaela JONOTOVÁ, Eva MOTYKOVÁ a Martina PRUSÍKOVÁ, 2011. Endoteliální dysfunkce – první stadium aterosklerózy. *Medicína pro praxi* [online]. 2011; 8(3). Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2011/03/05.pdf>

- WILLERS, H., HELD, K. D., 2006. Introduction to clinical radiation biology. *Hematology/oncology clinics of North America* [online]. 20(1), 1–24. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2006.01.007>
- WILLIAMS, J. P., & MCBRIDE, W. H., 2011. *International journal of radiation biology* [online]. 87(8), 851–868. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.560996>
- WILLIAMS, J. P., BROWN, S. L., GEORGES, G. E., HAUER-JENSEN, M., HILL, R. P., HUSER, A. K., KIRSCH, D. G., MACVITTIE, T. J., MASON, K. A., MEDHORA, M. M., MOULDER, J. E., OKUNIEFF, P., OTTERSON, M. F., ROBBINS, M. E., SMATHERS, J. B., & MCBRIDE, W. H., 2010. Animal models for medical countermeasures to radiation exposure. *Radiation research* [online]. 173(4), 557–578. Dostupné z: <https://doi.org/10.1667/RR1880.1>
- WOJCIK, A., HARMS-RINGDAHL M., 2019. Radiation protection biology then and now, *International Journal of Radiation Biology* [online]. 95:7, 841-850, Dostupné z: DOI: 10.1080/09553002.2019.1589027
- YAHYAPOUR, R., AMINI, P., REZAPOUR, S. et al., 2018. Radiation-induced inflammation and autoimmune diseases. *Military Med Res* [online]. 5, 9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s40779-018-0156-7>
- YAMAGUCHI M, KASHIWAKURA I., 2013. Role of Reactive Oxygen Species in the Radiation Response of Human Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *PLOS ONE* [online]. 8(7): e70503. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070503>
- ZÁLESKÁ, Alena, 2013. Nekroptóza. Brno. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie. Vedoucí práce Doc. MUDr. Iva Slaninová PhD. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/oy2bg/Nekroptoz_a_-_BP.pdf
- ZHANG, J. M., & AN, J., 2007. Cytokines, inflammation, and pain. *International anesthesiology clinics* [online]. 45(2), 27–37. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>
- ZHANG, X., TIAN, M., LI, X., ZHENG, C., WANG, A., FENG, J., HU X., CHANG S., ZHANG, H., 2021. Hematopoietic protection and mechanisms of ferrostatin-1 on hematopoietic acute radiation syndrome of mice. *International Journal of Radiation Biology* [online]. 97(4), 464–473. Dostupné z: doi:10.1080/09553002.2021.1876956