

Dr. Rónai Éva,
dr. Benkő György gyógyszerész alezredes

Akut ^{60}Co -gamma besugárzás hatása a lipid peroxidációra kísérleti állatokon

A szerzők megvizsgálták a szubletális (6,0 Gy) és $\text{LD}_{50/30}$ dózisu (9,0 Gy) akut ^{60}Co -gamma-besugárzás hatását a malondialdehid (MDA)-szint alakulására patkányokon.

Eredményeik arra utalnak hogy az általuk vizsgált szervekben (agy, máj lép vese, here, gyomor, vékonybél) az akut ^{60}Co -gamma-besugárzás az idő függvényében, az egyes szervekre jellemző mértékben általában fokozta a MDA — mint fő lipidperoxidációs termék — képződését. A változás mértékének és időbeli jelentkezésének eltérő voltából az egyes szervek sugárérzékenységére lehet következtetni. Ennek alapján feltételezhető, hogy a besugárzás hatására kialakuló MDA-szint növekedés nagymértékben hozzájárul a sugárbetegség egyes tünetei kialakulásához.

A nagy dózisokkal előidézett akut sugárkárosodás során már korán — a morfológiai elváltozásokat jóval megelőzve — jelentős, kimutatható funkcionális változások lépnek fel a szervezetben. Számos, normálisan is reguláló funkcióval bíró anyag (mint pl. biogén aminok, hormonok stb.) fokozott képződése, vagy ezek hiánya, valamint más ismert, ill. ma még ismeretlen biológiailag aktív vegyület felszaporodása együttesen a fiziológiás szabályozás felborulásához vezethet.

A közelmúlt kutatásai több olyan vegyület hatásának felismeréséhez vezettek, melyek képződési viszonyairól, ill. a sugárbetegség pathomechanizmusában betöltött szerepéről ma még keveset tudunk.

Ezek közül érdeklődésünk az utóbbi időben a lipidek peroxidációja és annak egyes termékei felé irányult.

A lipidperoxididok jelenléte a szervezetben egy bizonyos peroxid-szint fiziológiai szerepére utal (1), míg e termékek mennyiségének növekedése patológiai folyamatok egyre szélesedő skálájában kimutatható (atherosclerosis, angina pectoris, öregedés, cataracta stb.) (2, 3, 4, 10).

Lipidperoxidációs termékek keletkezhetnek:

1. Döntően enzimatisz úton (telítetlen zsírsavakból, pl. az arachidonsav kaszkádon keresztül) (12),

2. aktív szabad gyökök és O_2 jelenlétében (15, 18),

3. valamint egyéb — ma még részleteiben nem tisztázott — utakon.

A lipidperoxidációs folyamatok nyomonkövetése a sugárbetegség egyes szakaszaiban is nagy fontossággal bírhat, hiszen az összes előzőekben említett körkép közül ez jár a legnagyobb szabad-gyök invázióval (22). Ezt indokolja az a megfigyelés is, miszerint a biológiai membránokba integrálódott foszfolipidek többszörösen telítetlen zsírsavkomponensei közül az arachidonsav kitűnik nagyfokú sugárérzékenységgel (7, 24). Ezt egyrészt a membránból való felszabadulás (foszfolipáz aktiválódás) másrészt a továbbalakulás (peroxidálódás stb.) fokozódásában nyilvánul meg (5, 6, 13, 23).

A lipidperoxidációs folyamatok nyomonkövetésére az idevonatkozó szakirodalomban a malondialdehid (MDA) meghatározását tartják legmegfelelőbbnek, lévén a MDA a lipidperoxidáció stabil végterméke és mennyisége biológiai mintákban könnyen mérhető (15).

Mindezek indokolták, hogy megvizsgáljuk az ionizáló sugárzás in vivo MDA-szintre gyakorolt hatását. A következő kérdésekre kerstünk választ:

1. Hogyan változik különböző szövetekben a lipidperoxidációt jellemző MDA-szint, eltérő dózisu akut ^{60}Co -gamma-besugárzásra, a besugárzás után különböző időpontokban.
2. Van-e különbség a sugárérzékeny ill. kevésbé sugárérzékeny szervek MDA-szintjének alakulása között.
3. Hogyan alakul a MDA-produkció lipidgazdag szövetekben az ionizáló sugárzás hatására.

MÓDSZEREK ÉS ANYAGOK

Kísérleteinkhez 190—210 g súlyú R(AxLE/H/F₁-hibrid hím patkányokat (LATI, Gödöllő) használtunk.

A besugárzásokat két dózisban: 0,3991 Gy/min. dózisteljesítmény mellett 9,0 Gy-vel (LD_{50/30} és 3579 Gy/min. dózisteljesítmény mellett 6,0 Gy-vel, az OSSI ^{60}Co -gamma-besugárzó berendezésével végeztük.

Az állatokat a besugárzást követően különböző időpontokban dekaptáltuk, majd a vizsgálandó szerveket eltávolítottuk (agy, máj, lép, szív, vese, here, gyomor, vékonybél).

A patkányok a leölést megelőző 24 órában éheztek, vizet ad libitum kaptak.

A különböző szervek MDA-szintjének meghatározását *H. Ohkawa* és mtsai (14) általunk módosított módszerével végeztük, mely részletesen a következő volt:

A vizsgált szerveket eltávolítottuk, súlyukat lemértük, majd 0,9%-os 0 °C-os NaCl-oldattal átmoszuk. Mosás után a szerveket 1,15%-os 0 °C-os KCl-oldattal homogenizáltuk (szövet: homogenizálószer = 1:10).

A különböző szervhomogenátumokból agy esetében 0,1 ml-t, a többi szervnél 0,3 ml-t vettünk ki a meghatározáshoz.

Ehhez adtunk:

0,2 ml 4,0%-os Na-lauril-szulfát oldatot;

1,5 ml 20%-os CH₃COOH oldatot, melynek pH-ját 3,5-re állítottuk NaOH-dal;

1,5 ml 0,8%-os tiobarbitursav-oldatot, melynek pH-ját 7,0-ra állítottuk 10%-os HClO₄-el.

Amintákat 5,0 ml-re egészítettük ki desztillált vízzel, majd 95 °C-on 60 percig forraltuk vízfürdőn. Ezután lehűtöttük, majd 5000 g-n 20 percig centrifugáltuk a mintákat.

Az egyes minták abszorbanációját 532 nm-en mértük le 1 órán belül, SPEKTROMOM 203. típusú spektrofotométeren.

A minták MDA tartalmát minden esetben ismert, MDA-standardot tartalmazó minták extinciósi értékeivel való összehasonlításból számítottuk. [Standard — Malondialdehydis(diäthylacetal) MERCK.].

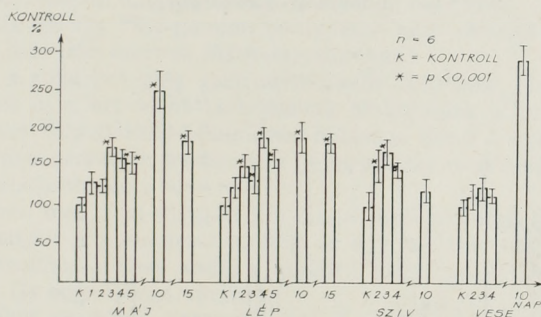
A besugárzásos kísérletekben kapott értékeket a saját kontroll %-ában fejeztük ki (\pm SE) és ábrázoltuk ábráinkon.

A zárójelben feltüntetett számok a kísérleti állatok számát jelentik.

Eredményeinket a Student-féle kétmintás „T” próbával értékeltük és megadtuk a szignifikancia (p) értékét.

EREDMÉNYEK

Kísérleteink során elsőként megvizsgáltuk a félhalálos dózisu (9,0 Gy) akut ^{60}Co -gamma-besugárzás hatását a lipidperoxidációra (MDA-szintre) különböző szervekben. A vizsgált szervek MDA-szintjének alakulását besugárzás után az 1. ábrán tüntettük fel.



1. ábra: 9,0 Gy akut ^{60}Co -gamma-besugárzás hatása a lipidperoxidációra (MDA-szintre) különböző szövetekben

Jól látható, hogy a besugárzást követően már 24 óra múlva jelentős növekedés mutatható ki a MDA-szintben a kontrollhoz képest a vizsgált szervekben (kivéve a vesét). A megnövekedett MDA-szint maximumát a besugárzás után 72—96 óra múlva éri el, majd gyakorlatilag ezen a szinten marad, ill. a 10. napon egy újabb kiemelkedően magas értéket mutat. Ez a megnőtt MDA-szint még a besugárzás után 15 nappal is kimutatható.

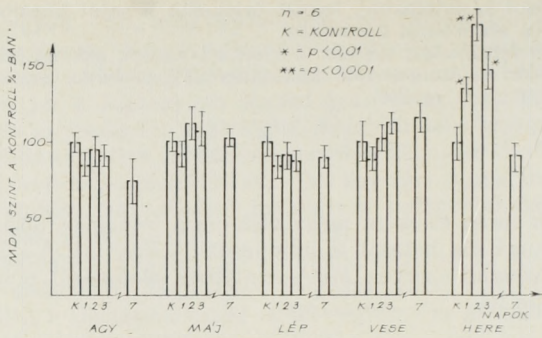
Tekintettel 9,0 Gy besugárzás után tapasztalt nagymértékű változásokra, megvizsgáltuk szubletális dózisu (6,0 Gy) besugárzás hatását a MDA-szintre. Vizsgálatainkat kiterjesztettük egyéb —, részben sugárérzékeny, részben lipidgazdag — szervekre is (gyomor, vékonybél, agy, here).

A 2. ábrán tüntettük fel az agy, máj, lép, vese és here MDA-szintjének alakulását 6,0 Gy akut ^{60}Co -gamma-besugárzását követően.

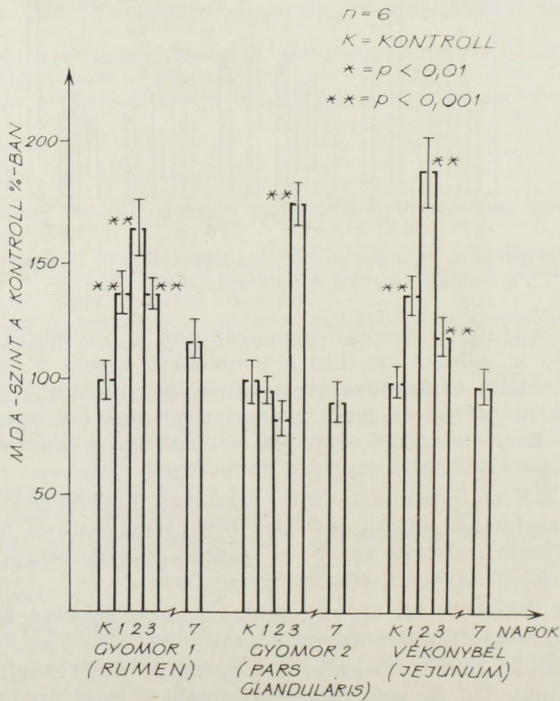
Az ábra alapján látható, hogy ez a sugárdózis nem okozott lényeges változást az agy, máj, lép és vese MDA-tartalmában, ezzel szemben a herében szignifikáns növekedés észlelhető, mely érték azonban a 7. napra már kontroll-szintet mutat.

A 3. ábrán a gyomor és a vékonybél MDA-tartalmának alakulását ábrázoltuk 6,0 Gy besugárzást követően. A gyomrot két részre osztottuk (rumen és pars glandularis) és külön-külön vizsgáltuk a MDA-szintjét.

6,0 Gy akut ^{60}Co -gamma-besugárzás hatására a gyomor ruminalis része



2. ábra: 6,0 Gy akut ^{60}Co -gamma-besugárzás hatása a MDA-szintre különböző szövetekben



3. ábra: 6,0 Gy ^{60}Co -gamma-besugárzás hatása a MDA-szintre a gastrointestinalumban

és a vékonybél (jejunum) nagyfokú MDA produkció fokozódást mutat, melynek maximuma a besugárzást követő második napra esik, majd az első hét végére normál szintre csökken. A gyomor glandularis részében MDA-szint növekedést csak a 3. napon észleltünk.

MEGBESZÉLÉS

Eredményeinkből kiderül, hogy az akut ^{60}Co -gamma-besugárzás letális és szubletális dózisa eltérő mértékben hatottak az in vivo szöveti lipidperoxidációra, ill. az azt jellemző MDA-szintre, a kísérleti állatokon.

A 9,0 Gy akut ^{60}Co -gamma-besugárzás jellemző idődinamikát követve (48—96 óras és 10 napos maximumokkal) általában fokozta a szöveti MDA képződést (kivéve a vesét, ahol csak a 10. napi érték volt szignifikánsan magas). Érdekes módon e sugárdózis hatására nem találtunk különbséget a MDA-szint változás mértékében, aszerint, hogy sugárérzékeny (lép), vagy relatíve sugárrezisztens szervet (máj, szív) vizsgáltunk, tehát a változás vagy létrejött, vagy nem. Különbség mutatható ki azonban abból a szempontból, hogy az MDA-szint növekedés a besugárzás után mennyi idő múlva alakul ki. Míg a lép esetében már 48 órával a besugárzás után szignifikáns növekedést tapasztaltunk, addig a máj és szív esetén mindezt csak a 72. órában észleltük.

A szubletális 6,0 Gy ^{60}Co -gamma-besugárzás nem okozott lényeges változást a korábban már leírt szervek MDA-tartalmában.

Tekintettel a sugárbetegség gastrointestinalis tüneteire, érdeklődésünk kiterjedt a gyomor és a bél MDA-tartalmának alakulására is besugárzást követően. 6,0 Gy akut ^{60}Co -gamma-besugárzás hatására mind a gyomor ruminalis, mind a glandularis részében, valamint a jejunumban nagyfokú MDA-produkció fokozódást találtunk.

Az előzőekben még nem vizsgált két magas lipidtartalmú szerv (agy, here) eltérő módon reagált a besugárzásra. Míg az agy esetében nem tapasztaltunk változást a kontrollhoz képest, addig a herében nagyfokú MDA-produkció volt kimutatható, 6,0 Gy sugárdózist követően.

Mivel mindkét szervben nagymennyiségű prekursor (arachidonsav) található — melyből csak a here esetében keletkezik fokozott mértékben MDA — úgy tűnik, hogy a besugárzás hatására létrejövő MDA-szint növekedés részben oka lehet egy szerv sugárérzékenységének. Ez annál is inkább valószínű, mivel több szerző egybehangzó véleménye alapján a lipidperoxidációs folyamatok felgyorsulása miatt keletkező MDA citotoxikus hatású (11, 20).

A kapott eredmények arra utalnak, hogy az általunk vizsgált szervekben az akut ^{60}Co -gamma-besugárzás, dóziszfüggően és jellemző idődinamikát követve általában fokozta a MDA — mint fő lipidperoxidációs termék — képződését. A MDA-szint növekedés mértékének és időbeli jelentkezésének eltérése kapcsolatban van a vizsgált szervek sugárérzékenységével.

Az irodalomban közölt kutatások legújabb eredményei arról informálnak, hogy az egyes szövetfajtákban mért MDA mennyisége egyes esetekben jó párhuzamot mutat a vizsgált szövetekben keletkező prostaglandin endoperoxid végtermékkel, pl. a thromboxánokkal (TxB_2) és prostaglandinokkal (1, 17, 19), míg más esetekben ilyen egyezést nem figyeltek meg (21). Ezen megfigyelések bizonyítékaul szolgál többek szerint az a tény, hogy az arachidonsav kaszkádban résztvevő egyes enzimek pl. a thromboxán szint hatása a thromboxánokon (TxA_2 — TxB_2) kívül a MDA szintézisére is képes (9). Ily módon az egyes szervekben mért MDA-szint változások nemcsak a lipidperoxidációs folyamatok összességéről informálnak, hanem közvetve az egyes PG-endoperoxidációs végtermékek kvalitatív indikátorául is szolgálhatnak. E feltételezés részletesebb tanulmányozása jelenlegi vizsgálataink tárgyát képezi.

Szerzők köszönetüket fejezik ki Farkas Tündének, lelkiismeretes asszisztensi munkájáért.

IRODALOM

1. *Best, L. C., P. B. B. Jones, R. B. B. Russel*: The relationship between the production of thromboxane B₂ and malondialdehyde by human blood platelets. *Clinical Sci.*, 1980. 59. 131—135.
2. *Bhuyan, K. C., D. K. Bhuyan S. M. Podos*: Evidence of increased lipid peroxidation in cataract. *Pathology*, 1981. 9. 126—127.
3. *Glavind, J., S. Hartmann, J. Clemmensen, K. E. Hessen, H. Dam*: Studies on the role of lipidperoxides in human pathology II. The presence of peroxidised lipids in the atherosclerotic aorta. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1952. 30. 1—6.
4. *Harman, D.*: Free radical theory of aging. *Nutritional Implications Age*, 1978. 1. 143—150.
5. *Kergonou, J. F., P. Bernard, M. Braquet, G. Rocquet*: Effect of whole-body gamma irradiation on lipid peroxidation in rat tissues. *Biochimie*, 1981. 63. 555—559.
6. *Konings, A. W. T.*: Dose-rate effects in biomembranes. *J. Radiat. Res.* 1979. 20. 259—263.
7. *Lai-Ching-San, L. H. Piette*: Spin-trapping studies of hydroxyl radical production involved in lipid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 1978. 190. 27—38.
8. *Ma Cay P. B.*: Physiological significance of lipidperoxidation. Symposium, 64. th. Annual Meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology, California, 1980.
9. *McMillan, R. M., MacIntyre, D. E., A. Booth, J. L. Gordon*: Malonaldehyde formation in intact platelets is catalysed by thromboxan synthetase. *Biochem. J.*, 1978. 176. 595—598.
10. *Mehta, J., P. Mehta, C. R. Conti*: Platelet function studies in coronary heart disease. IX. Increased platelet prostaglandin generation and abnormal platelet sensitivity to prostacyclin and endoperoxid analog in angina pectoris. *Amer. J. of Cardiol.*, 1980. 46. 943—947.
11. *Mitchell, J. R., C. V. Smith, E. C. Horning*: Drug-induced lipidperoxidation and hepatocellular necrosis: cause or result? *Gastroenterology*, 1979. 77. A 28 (abstract).
12. *Moncada, S., J. R. Vane*: Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂ and prostacyclin. *Amer. Soc. Pharm. Exp. Ther.*, 1979. 30. 293—331.
13. *Nakazawa, T., S. Nagatsuka*: Radiation induced lipid peroxidation and membrane permeability in liposomes. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1980. 38. 537—544.
14. *Ohkawa, H., N. Ohishi, K. Yagi*: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 1966. 95. 359—364.
15. *Pryor, W. A.*: Free radical reactions and their importance in biochemical systems. *Fed. Proc.*, 1973. 32. 1862—1867.
16. *Pryor, W. A., J. P. Stanley, E. Blair*: Autooxidation of polyunsaturated fatty acids II. Suggested mechanism for the formation of TBA-reactive materials from prostaglandin like endoperoxides. *Lipids*, 1976. 11. 370—379.
17. *Robak, J., B. Sobanska*: Relationship between lipid peroxidation and prostaglandin generation in rabbit tissues. *Biochem. Pharmacol.*, 1976. 25. 2233—2236.
18. *Slater, T. F.*: Free radical mechanism in tissue. *Injury Pion Ltd.*, London, 1972.
19. *Smith, J. B., C. M. Ingerman, M. J. Silver*: Malondialdehyde formation as an indicator of prostaglandin production by human platelets. *J. Lab. Clin. Med.*, 1976. 88. 167—172.
20. *Yoney, S., Furni. H.*: Lethal and mutagenetic effects of MDA. *Mutation Res.*, 1981. 88. 23—32.
21. *Vane, J. R., S. Bunting, S. Moncada*: Prostacyclin in physiology and pathophysiology. *Int. Rev. Exp. Path.*, 1982. 23. 161—207.

22. *Várterész V.*: Sugárbiológia. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1963.
23. *Wills, E. D., A. E. Wilkinson*: Effect of irradiation on sub-cellular components. II. Hydroxylation in the microsomal fraction. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1970. 17. 229—236.
24. *Zibok, V. A., C. Mallia, E. Morhart, J. R. Taylor*: Induced biosynthesis of cutaneous prostaglandins by ionizing irradiation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1982. 169. 386—391.

Ронаи Е., Бенкэ Дь., подполковник м/с:

ДЕЙСТВИЕ ОСТРОГО ОБЛУЧЕНИЯ ^{60}Co -ГАММА НА ПЕРОКСИДАЦИЮ ЛИПИДОВ В ОПЫТАХ НА ЖИВОТНЫХ

Авторы исследовали действие сублетальной (6,0 Gy) и $\text{LD}_{50/30}$ (9,0 Gy) доз острого ^{60}Co -гамма облучения на изменение уровня малондиальдегида (МДА).

Полученные результаты говорят о том, что в исследованных органах (мозг, печень, селезенка, почки, семенник, желудок, тонкая кишка) острое облучение ^{60}Co -гамма приводит к повышению уровня МДА — главного продукта пероксидации липидов, а мера нарастания МДА зависит от времени и характерна для отдельных органов. Величина изменения и появление его в времени позволяют сделать выводы о радиочувствительности органов. На основании всего этого предполагается, что нарастание МДА вследствие облучения в значительной мере способствует проявлению различных симптомов лучевой болезни.

Dr. Éva Rónai, Dr. György Benkő, Obstlnt. d. Pharm. Dienstes:

DIE WIRKUNG DER AKUTEN ^{60}Co -GAMMA-BESTRAHLUNG AUF DIE LIPIDPEROXYDATION BEI VERSUCHSTIEREN

Es wurde die Wirkung der akuten ^{60}Co -Gamma-Bestrahlung in subletaler (6,0 Gy) und $\text{LD}_{50/30}$ (9,0 Gy) Dosis auf den Malondialdehyd (MDA)-Spiegel bei Ratten untersucht. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die akute ^{60}Co -Gamma-Bestrahlung in den untersuchten Organen (Gehirn, Leber, Milz, Niere, Hoden, Magen, Dünndarm) in Abhängigkeit von der Zeit, in für die einzelnen Organe charakteristischem Masse die Bildung des MDA — als hauptsächlichem Lipidperoxydationsprodukt — im allgemeinen steigerte. Aus den Abweichungen des Ausmasses der Veränderungen und des zeitlichen Auftretens kann man auf die Strahlenempfindlichkeit der einzelnen Organe schliessen. Aufgrund dessen kann angenommen werden, dass der Anstieg des MDA-Spiegels durch Bestrahlung stark zur Ausbildung einzelner Symptome der Strahlenkrankheit beiträgt.

Verospiron[®] tabletta

ÖSSZETÉTEL

1 tabletta 25 mg spironolactonumot tartalmaz.

JAVALLATOK

Máj-cirrhosis ascitisszel, cardialis és renalis ödéma, agy-ödéma, idiopathikus ödéma Ascitisszel és ödémával járó daganatos megbetegedések. Hipertóniában antihipertenzív kezelésként rauwolfiával, illetőleg saluretikumokkal kombinálva. Súlyos égési sérülés, hypokalaémias és myasthenias eredetű paroxysmalis izombenulás. Portocavalis shunt-műtét utáni állapotban.

ELLENJAVALLAT

Hyperkalaemiával járó veseelégtelenség.

ADAGOLÁS

A diagnosis és a klinikai kép súlyosságának megfelelően az adagot esetenként kell meghatározni. Általában napi 4-szer 2 tablettát (200 mg) a kezdő adag (pl. 6 óránként 2 tablettát). Az egyéni szük-

séglet és türekeposség figyelembevételével célszerű a napi adagot változtatni.

A fenntartó adagja naponta 4 x 1 tablettát.

Gyermekgyógyászatban használatos adagja 2-3 mg/ testsúlykg naponta, fenntartó kezelésre 1-1,5 mg/ testsúlykg naponta.

MELLÉKHATÁSOK

Gastrointestinális panaszok, ritkán: reversibilis gynaecomastia, menstruációs zavarok.

FIGYELMEZTETÉS!

Verospiron adása magas szérumszódiumszint esetén csak kivételes esetben rendelhető, mert további káliumszint-emelkedést hozhat létre. Bár a vegyülettel kapcsolatos magzati károsodás ez ideig még nem ismeretes, alkalmazását a terhesség első harmadában nem ajánljuk.

Huzamos Verospiron-kezelés során a szérumszódium- és K⁺-szint időszakos ellenőrzése javasolt.

KÖBÁNYAI GYÓGYSZERÁRUGYÁR
BUDAPEST

