

616—00128:616.74—002.4—022:71.55—085.779.93 tetracyklin —092.21—0929

PŘÍSPĚVEK K OTÁZCE PRŮNIKU A RETENCE TETRACYKLINU V LOŽISKU ROZVÍJEJÍCÍ SE KLOSTRIDIOVÉ MYONEKRÓZY U OZÁŘENÉHO ORGANISMU

Podplukovník MUDr. B. KONEČNÝ, kapitán MUDr. P. PETÝREK
VLVDÚ v Hradci Králové

K 60. narozeninám genmjr. prof. MUDr. Zdeňka Kunce, DrSc.

I

Podání tetracyklinu (TTC) v profylaxi klostridiové myonekrózy doporučuje celá řada autorů (1, 2, 3). Příčinu vyšší účinnosti profylaktického podání TTC ve srovnání s jinými antibiotiky studovali kromě jiných Málek, Demelová, Zástava a Kolc (3), kteří došli k závěru, že:

1. ischemizované a traumatizované svaly hromadí a zadržují chlortetracyklin na dlouhou dobu;
2. úplná myonekróza při klostridiové infekci brání průniku chlortetracyklinu, kolem nekrózy se však chlortetracyklin hromadí a fixuje ve vysoké koncentraci.

V průběhu experimentální práce, zaměřené na studium účinnosti profylaxe klostridiové infekce u neozářeného a ozářeného organismu podáním antibiotik, prokázali jsme snížení účinnosti profylaktického podání TTC v prevenci modelové klostridiové myonekrózy, vyvolané *Cl. oedematiens*, typ A 54/62 u králíků ozářených celotělovou dávkou 350 R a 450 R, oproti účinnosti profylaktického podání TTC u neozářených zvířat. Stupeň snížení účinnosti profylakticky podaného TTC byl závislý na dávce celotělového ozáření.

Při hledání příčiny snížené účinnosti profylaktického podání TTC v prevenci modelové klostridiové myonekrózy u ozářeného organismu položili jsme si též otázku, zda a do jaké míry dochází ke změně nálezu kinetiky tetracyklinu, popsaných Málkem u organismu neozářeného. Nálezy Mráze a Lonské (4) a Petýrka a Mráze (5) o změnách vstřebávání a orgánové distribuce TTC u ozářených zvířat dávaly předpoklad, že jednou z příčin snížení účinnosti profylaktického podání TTC u ozářených zvířat by mohlo být i změněné vstřebávání a retence TTC v ložisku rozvíjející se klostridiové myonekrózy. Rozhodli jsme se proto experimentálně studovat tuto otázku fluorescenční metodou, umožňující sledování fixace TTC ve tkáních.

II

Pokusy byly prováděny na morčatech stejného pohlaví, o váze v rozmezí 330—450 gr. Zvířata

byla vybírána do jednotlivých pokusných skupin tak, aby i podle váhy byly skupiny stejnorodé. Pokusná zvířata byla ozářena celotělovou dávkou 300 R. K ozáření pokusných zvířat bylo použito zářiče Chisotronu (aktivita efektivního záření 1605,3—1570,5 g ekv. RA, intenzita záření 100 R za 4,08 minut). Pokusná zvířata byla ozářována ze vzdálenosti 1 m ve skupinách po 6. Do 1 hodiny po ozáření byla u zvířat vyvolána modelová klostridiová myonekróza tímto způsobem: Kůže pravé gluteální krajiny byla zbavena srsti. Injekční jehlou bylo hluboko do gluteálního svalstva podáno 0,5 ml 10% calcium chloratum a toutéž jehlou do stejného místa bylo vzápětí injikováno 0,5 ml roztoku spór *Cl. oedematiens*, typ A 54/62. Spóry byly propřány ve fyziologickém roztoku, 1 ml roztoku obsahoval $4,5 \times 10^4$ klostridiových spór. Po injikování zmíněných roztoků bylo na kořen infikované končetiny přiloženo škrtidlo na dobu 2 hodin. Po sejmutí škrtidla byl do druhostranné gluteální krajiny jednorázově podán TTC intramuskulárně v množství 20 mg/1 kg váhy. V průběhu dalších hodin po infikování morčat docházelo k postupnému rozvoji místních změn, charakterizovaných postupně se šířícím otokem infikované končetiny. Infekce probíhala protrahovaně, žádné z pokusných zvířat do 24 hodin neuhynulo. Skupiny zvířat (6 morčat pro každý časový interval) byly usmrceny po 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, a 24 hodinách od doby podání TTC. Ihned po usmrcení zvířat byla provedena pitva, při které bylo excidováno svalstvo infikované gluteální krajiny tak, aby vedle ložiska rozvíjející se modelové klostridiové myonekrózy byla odebrána i část svalstva nepostiženého. Odebraný preparát byl okamžitě zmrazen suchým ledem. Takto zmrazená tkáň byla krájena v kryostatu na řezy silné přibližně 20 m, které pak byly prohlíženy ve fluorescenčním mikroskopu ML 2. Tkáňové řezy byly fixovány a barveny hematoxilin-eozinem a prohlíženy v optickém mikroskopu. Hodnocení nálezů v optickém mikroskopu bylo ztíženo velkou tloušťkou řezu a obraz změn nebyl výrazný.

Obdobným způsobem byl pokus metodicky uspořádán i ve skupinách kontrolních neozářených zvířat.

III

Obraz fluorescence tetracyklinů v rozvíjejícím se ložisku modelové klostridiové myonekrózy u neozářených zvířat

Za 2 hodiny po podání TTC — v celém řezu je patrna difúzní fluorescence TTC, nelze prokázat žádné ohraničení a nahromadění TTC.

Za 4 hodiny po podání TTC — obraz fluorescence TTC ve tkáních se mění. Nacházíme dvojí druh fluorescence. Jednak zjišťujeme proužkovou fluorescenci svalové tkáně, která není patologicky změněná. Dále nacházíme zrnitou fluorescenci ve svalové tkáni, kde mezi svalovými snopci jsou patrné volné prostory (vzduchové bubliny). Zrnitá fluorescence je intenzivní, jde zřejmě o místa s nahromaděním TTC (obr. 1).



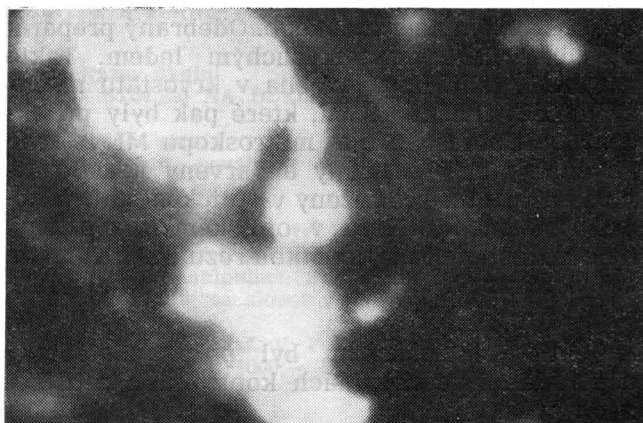
Obr. 1

Obraz fluorescence TTC v ložisku klostridiové myonekrózy u neozářeného morčete za 4 hodiny po podání TTC

Za 6 hodin po podání TTC — nacházíme obraz pruhové a zrnité fluorescence TTC, zrnitá fluorescence ve tkáních s rozvíjejícími se patologickými změnami je intenzivní (obr. 2).

Obr. 2

Obraz fluorescence TTC v ložisku klostridiové myonekrózy u neozářeného morčete za 6 hodin po podání TTC



Za 8 hodin po podání TTC — fluorescence se prakticky neliší od nálezu v předchozím časovém intervalu. V nepoškozené svalové tkáni nacházíme pruhovou fluorescenci, v patologicky změněné tkáni fluorescenci zrnitou.

Za 10 hodin po podání TTC — na ploše celého řezu nacházíme smíšenou fluorescenci TTC, a to jak ve formě pruhů, tak ve formě zrn. Fluorescence je poměrně intenzivní.

Za 12 hodin po podání TTC — v tomto časovém intervalu dochází ke změně obrazu fluorescence TTC ve tkáních. Ve svalové tkáni nenacházíme již jen svalovinu s pruhovou a zrnitou fluorescencí, ale dochází k určité diferenciaci tím, že mezi nimi nacházíme pruhy svaloviny bez fluorescence. Zrnitá fluorescence je intenzivní a zrna jsou větší než v předchozích intervalech.

Za 18 hodin po podání TTC — na řezech nacházíme difúzní fluorescenci, která není nikterak ohraničená a je přítomna v celém řezu.

Za 24 hodiny po podání TTC — struktura svalové tkáně je smazána, na celém řezu nacházíme svalové snopce bez fluorescence. Ve zbývajícím tkáni je fluorescence TTC patrna v celém řezu a je poměrně intenzivní a místy má formu zrn.

IV

Obraz fluorescence tetracyklinů v rozvíjejícím se ložisku modelové klostridiové myonekrózy u ozářených zvířat

Za 2 hodiny po podání TTC — nacházíme difúzní fluorescenci TTC podél snopců svalové tkáně. Obraz je na celé ploše řezu stejný, není patrný jiný typ fluorescence.

Za 4 hodiny po podání TTC — na řezech je patrna difúzní pruhová fluorescence TTC, ojediněle se objevuje drobně zrnitá fluorescence (obr. 3).



Obr. 3

Obraz fluorescence TTC v ložisku klostridiové myonekrózy u ozářeného morčete za 4 hodiny po podání TTC

Za 6 hodin po podání TTC — obraz fluorescence je obdobný jako u předchozí skupiny, ale zrnitá fluorescence je přítomna ve všech řezech. Zrnitá fluorescence je soustředěna do míst rozpadu svalové tkáně (obr. 4).



Obr. 4

Obraz fluorescence TTC v ložisku klostridiové myonekrózy u ozářeného morčete za 6 hodin po podání TTC

Za 8 hodin po podání TTC — tkáň je na řezu prakticky bez fluorescence, jen místy, hlavně ve středu preparátů nacházíme velká fluoreskující zrna.

Za 10 hodin po podání TTC — nacházíme velmi slabou fluorescenci a jen zcela ojediněle velká fluoreskující zrna. Fluorescence je často přítomna ve formě lemu kolem zrn.

Za 12 hodin po podání TTC — v preparátech je patrna slabá zrnitá fluorescence. Kromě žluté fluorescence TTC možno pozorovat zelenou pruhovitou fluorescenci poškozené tkáně.

Za 18 hodin po podání TTC — na řezech nacházíme slabou pruhovou fluorescenci. Zrnitou fluorescenci jsme v preparátech nenašli.

Za 24 hodiny po podání TTC — žádný z řezů této skupiny nejvíce výraznější fluorescenci, jen zcela ojediněle bylo nalezeno několik drobně fluoreskujících zrn.

V

Diskuse

Intramuskulárně podané TTC pronikají po vstřebání jak do nezměněné svalové tkáně, tak do ložiska infikovaného svalstva v období počátečního rozvoje klostridiové myonekrózy, kdy struktura svalové tkáně je zatím bez výraznějších změn. V tomto období se projevuje přítomnost TTC ve zmíněných tkáních formou pruhové fluorescence podél svalových snopců. S rozvojem patologického procesu v ložisku infekce, při kterém dochází k postupnému rozpadu svalových vláken, shlukuje se TTC do zrn s intenzivní fluorescencí. Počáteční mnohozrná fluorescence se mění v intervalu 4 hodin po podání TTC ve velkozrnitou fluorescenci, jejíž maximum jsme u neozařených zvířat nacházeli v intervalu 12 hodin po podání TTC. V pozdějších sledovaných časových intervalech se forma fluorescence již neměnila, ale docházelo ke změnám intenzity fluorescence. Za 24 hodiny po podání TTC byla po-

zorována pouze slabá velkozrná fluorescence. Obdobný nález, pokud jde o formu fluorescence, byl pozorován i u ozářených zvířat. Rozdíl nálezu mezi skupinami ozářených a neozařených zvířat se projevoval pouze v intenzitě fluorescence ve tkáních a v době jejího postupného poklesu až vymizení. V tkáních ložiska rozvíjející se klostridiové myonekrózy u ozářených zvířat docházelo ke snížení fluorescence jednorázově podaného TTC a snížení jeho retence ve tkáních ložiska.

Pozorovaný rozdíl intenzity fluorescence TTC ve tkáních ložiska rozvíjející se klostridiové myonekrózy u ozářených zvířat je pravděpodobně důsledkem řady změn kinetiky antibiotik, podaných ozářeným zvířatům. Petýrek a Mráz pozorovali snížené vstřebávání TTC, podaného ozářeným zvířatům v průběhu prvního dne po ozáření. Tento nález vysvětlují jako důsledek stressové reakce organismu, vyvolané ozářením. V nepoškozeném svalstvu však pozorovali u ozářených zvířat delší trvání fluorescence, než tomu bylo u zvířat kontrolních. Náš nález sníženého vychytávání TTC v ložisku rozvíjející se klostridiové myonekrózy u ozářených zvířat a snížení až vymizení fluorescence tkáně v pozdějších časových intervalech po podání TTC je ve shodě s pozorovanou změnou kinetiky jiných antibiotik, např. penicilínových preparátů, pozorovanou Výmolou a Hradilem. Tito autoři prokázali, že hladina zmíněných antibiotik v séru dosahuje u ozářených zvířat nižší úrovně než u zvířat neozařených a antibiotika z oběhu mizí rychleji, zejména v prvních 24 hodinách po ozáření. Dá se předpokládat, že na změnách námi pozorovaných se podílejí i změny místní, vyvolané poškozením tkáně a rozvojem klostridiové infekce, včetně působení nekrotizujících toxinů, produkovaných klostridii.

VI

Závěr

V sérii pokusů na skupině neozařených morčat a morčat celotělově ozářených dávkou 300 R bylo provedeno fluorescenční metodou srovnání vychytávání jednorázově intramuskulárně podaného TTC v ložisku klostridiové myonekrózy v různé fázi jejího rozvoje. Bylo prokázáno snížení intenzity fluorescence TTC, vychytaného tkáněmi ložiska klostridiové myonekrózy u ozářených zvířat oproti nálezu u zvířat neozařených. Ve sníženém průniku a fixaci TTC v ložisku modelové klostridiové myonekrózy možno tedy vidět jednu z příčin (i když jistě ne jedinou) snížení efektivity podání TTC v profylaxi klostridiové myonekrózy u ozářeného organismu.