

RADIAČNÍ ENTERITIDA – I. část

¹Daniel DRIÁK, ²Jan ÖSTERREICHER

¹Gynekologicko-porodnická klinika 1. lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice Na Bulovce, Praha

²Univerzita obrany, katedra radiobiologie Fakulty vojenského zdravotnictví v Hradci Králové

Souhrn

Radiační enteritida je formou akutní nemoci z ozáření rozvíjející se po absorpci dávky 8 Gy a vyšší. Jde o zcela letální klinicko-patologickou jednotku, nekrohemoragickou enteritidu, jejíž kauzální léčba je neznámá. Článek zahrnuje definici nemoci a patogenetické mechanismy na všech úrovních rozvoje.

Klíčová slova: Radiační enteritis; Ionizující záření; Patogeneze.

Radiation-Induced Enteritis – Part I

Summary

Radiation-induced enteritis is a form of acute radiation disease which develops after the absorption of a dose of 8 Gy or higher. It is an absolutely lethal clinical-pathological unit, enteritis necro-hemorrhagica, whose causal therapy is unknown. This article contains the definition of this disease and its pathogenetic mechanisms at all the levels of development.

Key words: Radiation-induced enteritis; Ionizing radiation; Pathogenesis.

1. Úvod

Atomová energie, tj. energie uvolněná rozpadem jader radionuklidů, přináší lidstvu významné dobrodiní ve formě zdrojů elektřiny, diagnostických a léčebných postupů aj. Současně však znamená podstatné nebezpečí. Jaderné zbraně jsou realitou a celosvětovou hrozbou. Radiologický terorismus se stal aktuální hrozbou 21. století (55). V mírových podmínkách představují hlavní rizika pro člověka havárie jaderných reaktorů, události a nehody v laboratorích pracujících s radionuklidy a při zpracování jaderného odpadu (17, 46, 85, 86, 98, 99) a vedlejší nežádoucí účinky aktinoterapie zhoubných nádorů (116).

Jednorázovým homogenním celotělovým ozářením zářením X nebo neutrony dávkou vyšší než 0,7 Gy se rozvíjí akutní nemoc z ozáření (ANO). Vedle nespecifické nervové a humorální stresové reakce realizované aktivací osy hypofýza–nadledviny s produkcí kortikoidů, uvolněním biogenních aminů (serotonin, histamin, heparin, prostaglandiny) v ANO převažují poruchy systémů, v nichž jsou nejvíce zastoupeny tzv. radiosenzitivní populace buněk. Systémy, jejichž poškozením vlivem ionizujícího záření může dojít ke smrti organismu, se na-

zývají kritické orgány (101). Obecně platí základní radiobiologický zákon z roku 1906 (Bergonié, Tribondeauová), že málo diferencované a vysoce mitoticky aktivní buňky jsou k záření nejcitlivější, tj. kmenové buňky kostní dřeně, zárodečné buňky střevního a kožního epitelu a semenotvorných kanálků varlete. Buňky diferencované a nedělící se jsou relativně radiorezistentní (neurony, gliové buňky, myocyty, osteocyty, chondrocyty, fibrocyty) (103). Výjimku z tohoto pravidla představují periferní lymfocyty, které, ač diferencované, jsou vysoce radiosenzitivní a po malých dávkách rychle hynou interfázovou (homofázovou) apoptózou (101, 102).

Podle absorbované dávky a převažujícího orgánového poškození se rozlišují 3 základní formy ANO:

1. Dřeňový syndrom, spočívající v útlumu krvetvorby, při ozáření dávkou 0,7 Gy a vyšší.
2. Gastrointestinální, střevní syndrom, představovaný radiační enteritidou, při ozáření dávkou 8 Gy a vyšší. Jde o zcela letální klinicko-patologickou jednotku.
3. Neurovaskulární forma se vyskytuje vzácně při ozáření velmi vysokými dávkami.

K poškození cév dochází při ozáření dávkou 30 Gy a vyšší a k ireverzibilní ztrátě mozkových buněk při ozáření dávkou 100 Gy a vyšší. Prognóza

je rovněž zcela nepříznivá, následkem je vždy smrt během několika dní.

Jedinou léčitelnou formou ANO díky transplantaci kostní dřeně a aplikacím růstových faktorů krvetvorby je v současné době dřeňový syndrom (101).

Z hlediska zdravotního zabezpečení vojsk je detailní poznání patogenetických mechanismů a kauzálních terapeutických možností gastrointestinálního syndromu ANO stěžejní pro snížení zdravotnických ztrát a zvýšení bojeschopnosti. Jelikož požadavky na radioterapii abdomino-pánevních a retroperitoneálních malignit narůstají, toleranční dávky zažívacích orgánů jsou velmi blízké dávkám efektivně tumorocidním a role aktinoterapie střev stoupá s incidencí střevních malignit, je problematika radiální enteritidy vysoce aktuální i za mírových podmínek.

2. Definice

2.1 Definice akutní enteritidy

Střevní syndrom je souhrnem zánětlivě degenerativních procesů postihujících všechny úseky gastrointestinálního traktu (GIT). Rozvíjí se po ozáření dávkou 8 Gy a vyšší. Radiální enteritida je podjednotkou gastrointestinálního syndromu ANO. Patologickoanatomicky jde o enteritis necrohemorrhagica acuta, respektive duodenitis, jejunitis nebo ileitis (4, 5).

Střevní syndrom se manifestuje 5. až 8. den po expozici. Vedoucími příznaky jsou masivní průjmy vedoucí k dehydrataci, oběhovému selhání, intoxikaci a septickému šoku. Prognóza tohoto syndromu je vždy letální.

Poprvé „hluboké tkáňové poškození od expozice rentgenovými paprsky“ postihující GIT popsal Walsh v roce 1897 (106), tj. již 2 roky po objevu X-záření Röntgenem a rok po objevu radioaktivity Becquerelem. Walsh dospěl k závěru, že ionizující záření způsobuje přímý zánět střevní sliznice. O „obavných účincích“ ionizujícího záření na střevo se zmiňoval Claude Regaud v roce 1912 (83). První systematickou studii o vlivu záření na strukturu a funkce střev *in vivo* provedli a publikovali Warren a Whipple v roce 1922 (108, 109, 110).

2.2 Chronická enteritida

Po ozáření podprahovými dávkami se rozvíjí postupně v rozmezí za 6 týdnů až 10 let (s maximem za 6 měsíců až 5 let) (23), resp. za 6 až 24 měsíců (94), subakutní, resp. chronické poškození střeva. Charakteristická je ischemie a fibróza, vznikající

na podkladě cévního poškození. Endoteliální proliferace a okluzivní vaskulitida vedou k ischemii. Deponováním kolagenu v submukóze se rozvíjí progresivní fibróza (84, 92, 94). Následkem jsou hluboké ulcerace penetrující celou stěnu, nekrózy, perforace, abscesy, píštěle. Ulcerace se hojí další fibrózou a jizvením a vznikají stenózy a obturace (94). Klinický obraz a rentgenologické nálezy vedou k diagnóze obstrukce tenkého střeva. Obstrukce bývá často intermitentní (23). Závažné chronické změny tenkého střeva se objevují mnohdy řadu let po expozici, po implantaci radia byly pozdní účinky výjimečně pozorovány s latencí 29 let (23). Akutní zánětlivé změny později přecházející v chronickou fibrózu jsou obecnou reakcí řady orgánů na ozáření (88).

Chronické změny ozářených střev postihující značnou část pacientů po abdomino-pánevní aktinoterapii (15 %) (20), resp. 0,5–16,9 % (92) a vyžadující chirurgickou intervenci (5 %) (20), jsou velmi obtížně řešitelné a často s fatálním průběhem (90).

3. Patogeneze akutní radiální enteritidy

Zásadní a prvořadý význam v patogenezi akutní enteritidy se v současné době přikládá endoteliálnímu poškození. Hypotézy, že veškeré radiální postižení se primárně týká dysfunkce vaskularizace orgánů, se jeví jako perspektivní (1, 48, 77, 93).

Obecně platí názor, že subcelulární a celulární podstata patologie radiální enteritidy není známa.

3.1 Rozvoj postradiační molekulární odpovědi

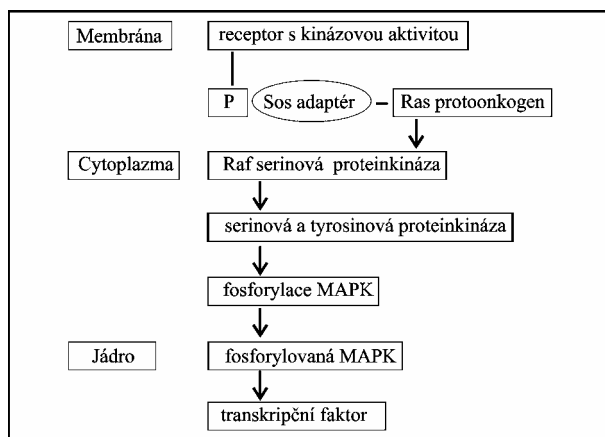
Vzájemná koordinace molekulárních mechanismů zajišťuje buněčnou homeostázu. Vlivem ionizujícího záření se aktivují signální cesty indukované poruchou intracelulární homeostázy na základě poškození DNA (9).

3.1.1 Vliv ionizujícího záření na signální řetězce

Nitrobuněčné signální řetězce se obvykle skládají z pěti hlavních složek:

1. membránových receptorových proteinů,
2. enzymů regulujících fosforylaci proteinů (proteinkinázy proteiny fosforylují a fosfatázy je defosforylují),
3. adaptérů (propojovacích proteinů),
4. buněčných protoonkogenů a
5. transkripčních faktorů (95).

Výsledkem přenosu signálu od membránového receptoru do jádra je exprese řady genů, které kontrolují průběh buněčné stresové reakce na působící noxu (ionizující záření) (16). Nejlépe prozkoumanou signální cestou je přenos prostřednictvím proteinkinázy aktivované mitogeny (MAPK – mitogen activated proteinkinase) (95). Schematické znázornění této signální cesty je na obr. 1.



Obr. 1: Schéma klasické signální cesty

3.1.1.1 Alterace klasické signální cesty

Alterace klasické signální dráhy může nastat na několika úrovních:

1. Aktivace membránového receptoru bez přítomnosti specifické ligandy (inhibice defosforylace receptoru) (44).
2. Zvýšená produkce (H)-Ras protoonkogeny (Harvey retrovirus associated sequence). Ionizující záření stimuluje produkci Ras protoonkogeny, což je spojeno se zvýšením radiorezistence buněk (8, 62, 95, 107). Inhibicí prenylace Ras prenyltransferáza-inhibitor se snižuje posttranslační modifikace Ras, čímž se snižuje jeho aktivita. Tím se zvýší radiosenzitivita nádorových buněčných linií (8). Inaktivace Ras, ev. komponent DNA-dependentní proteinkinázy nebo jiných molekul účastnících se rozpoznání nebo reparace poškozené DNA stejně jako deblokace zástavy buněčného cyklu v G₂-fázi způsobí zvýšení radiosenzitivity (63).
3. Aktivace proteinkinázy C. Proteinkináza C je rychle aktivována ionizujícím zářením (32).
4. Aktivace transkripčních faktorů. Pro indukci buněčné odpovědi na ionizující záření je stěžejní aktivace nukleárního faktoru κ B (NF- κ B) (89, 95). NF- κ B je významný článek signální cesty, který se účastní regulace mnohých genů

umístěných na eukaryontní jaderné DNA. Jedná se o indukovatelné geny zodpovídající za zánětlivé a imunitní reakce v různých typech buněk – endoteliích, enterocytech, T-lymfocytech a buňkách infikovaných HIV (6, 10, 25, 40, 96).

NF- κ B je heterodimerní komplex složený z bílkovinné podjednotky p50 (NF- κ B1) o hmotnosti 50 kD odvozené od prekursoru p105 a p65 (Rel-A) o hmotnosti 65 kD. Tyto podjednotky patří do rodiny tzv. Rel-proteinů, zahrnující další onkogeny a protoonkogeny (76, 82). V klidových buňkách jsou proteinové podjednotky NF- κ B v neaktivní cytosolové formě v cytoplazmě vázané na inhibiční proteiny označované I κ B (I κ B- $\alpha\alpha$, I κ B- $\beta\beta$, I κ B- $\gamma\gamma$ aj.) (96). Jeden z inhibitorů, I κ B- $\alpha\alpha$, váže přednostně podjednotku p65 (82, 96). Pro aktivaci NF- κ B je nezbytná disociace podjednotky od I κ B- α , což fyziologicky nastává po předchozí fosforylaci tohoto inhibičního proteinu. Po jeho degradaci fosforylaci je z interakce na p65 uvolněn, čímž dojde k aktivaci NF- κ B (7, 76, 82). Po aktivaci je NF- κ B rychle translokován z cytoplazmy do jádra, kde reaguje s vazebnými místy na promotorských oblastech příslušných genů DNA, aktivuje transkripci mRNA a následně proteosyntézu (51). Hlavní transkripční aktivační doména je lokalizována na p65 na COOH-konci, zatímco DNA vazebná doména leží na NH₂-koncové sekvenci (96).

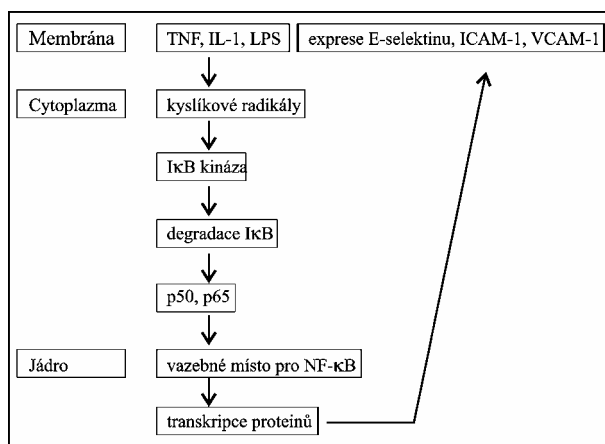
Ionizující záření aktivuje NF- κ B pravděpodobně působením reaktivních kyslíkových metabolitů, event. připadá v úvahu aktivace prostřednictvím ceramidu uvolněného enzymatickou hydrolýzou sfingomyelinu (82, 95). Aktivaci NF- κ B může vyvolat řada dalších stimulů, jako jsou cytokiny IL-1, IL-2 a TNF- α , bakteriální lipopolysacharidy, virové produkty, mitogeny (forbol 12-myristát 13-acetát) (76, 82, 96).

Vedle proinflamatorního účinku však NF- κ B aktivuje protektivní a antiapoptotické faktory (proteiny inhibující apoptózu – IAPs), protekci mitochondrií, event. další, dosud nepoznané mechanismy, čímž tkáňové poškození snižuje (49, 79, 80).

Aktivace NF- κ B je přechodná a regulovaná zpětnou vazbou. Současně s aktivací NF- κ B je aktivován gen pro I κ B- $\alpha\alpha$ (podjednotkou p65). Spojením mezi nově syntetizovaným I κ B a podjednotkou p65 se obnoví inhibice vazebné aktivity NF- κ B k DNA (82, 96). Přítomností cytoplazmatického poolu inaktivních podjednotek p50 a p65 je dána připravenost endotelií k aktivaci (82). Zásoba podjednotek

NF- κ B je udržovaná inhibičním proteinem I κ B- α , který je mimo vazbu na ně velmi labilní a vykazuje biologický poločas 40 minut, kdežto v přítomnosti p65 se jeho poločas prodlužuje na více než 4 hodiny (96). Jelikož aktivací NF- κ B se zároveň aktivuje syntéza I κ B de novo, jsou jeho cytoplasmatické zásoby kompletně doplněny. Je prokázáno, že vazba NF- κ B na DNA se zvyšuje již za 40 minut po expozici, I κ B z cytoplazmy prakticky vymizí a objevuje se až za 2 hodiny syntézou de novo (96).

Schematické znázornění úlohy NF- κ B je na obr. 2 (76).



Obr. 2: Schéma působení NF- κ B

Kyslíkové radikály působí fosforylaci inhibitorů transkripce I κ B, čímž dojde k jejich degradaci na jednotlivé proteiny. Z dimerů proteinů vzniká transkripční aktivátor NF- κ B, který migruje z cytoplazmy do jádra, naváže se na DNA a indukuje genovou expresi. Proběhne proteosyntéza a na povrchu ozářených endotelií se exprimují adhezivní molekuly (především E-selektin a ICAM-1) (31, 69, 82) a jejich ligandy, resp. receptory na povrchu neutrofilů (zejména β 2-integriny) (70, 76). Indukovatelná genová exprese je klíčový regulační mechanismus buněčné odpovědi na okolní změny a v expresi endoteliálních adhezivních molekul NF- κ B hraje ústřední roli (76).

3.1.1.2 Postradiační reakce buňky

Další signální cesty jsou aktivovány neopravenými nebo nereplikovanými úseky DNA.

DNA je klíčovou makromolekulou, jejíž poškození ionizujícím zářením může mít za následek smrt buňky. Pokles replikační a transkripční aktivity DNA je dávkově závislý, přičemž radiosenzitivita

vita replikace je řádově (cca 40krát) vyšší než radiosenzitivita transkripce – Harringtonův pokus (103). Výsledkem je stresová reakce vedoucí k inhibici buněčného cyklu ve fázi G₁/S a G₂/M. Inhibici buněčného dělení je získán čas pro reparaci poškozených úseků DNA. Není-li reparace možná, je aktivován proces apoptózy (101).

1. Aktivace tumor supresorového proteinu TP53

U mnohobuněčných organismů existuje protein, který je schopný DNA poškození převést na apoptotický program. Po poškození DNA je u savců rychle aktivován antionkogen, tumor supresorový protein TP53 fungující jako posel ke spuštění apoptózy a klíčový faktor pro zastavení buněčného cyklu v G₁-fázi (64, 91, 101, 102).

Léze DNA (především dvojité zlomy) vedou ke vzniku řady proteinů aktivujících enzymaticky fosforylaci TP53. Výsledkem aktivace této dráhy je inhibice buněčného cyklu v G₁-fázi a reparace poškození nebo indukce apoptózy v případě, že je poškození ireparabilní (101). ATM-kináza se jeví pro fosforylaci TP53 v odpovědi na ionizující záření jako rozhodující (37, 101). Dalším substrátem pro ATM-kinázu je protoonkoprotein cABL. Po poškození DNA ionizujícím zářením může být cABL tyro-sinkináza aktivována fosforylací přes ATM-dependenční mechanismy a zvyšuje se její aktivita. V případě, že buňky mají nedostatek cABL nebo je-li tato kináza mutovaná po ozáření, nedochází k bloku v G₁- ani G₂-fázi a není iniciována apoptóza (41).

TP53 funguje jako transkripční faktor, který vazbou na DNA aktivuje transkripci genů, jež zprostředkovávají inhibici buněčného cyklu, event. aktivaci procesu apoptózy. Za efektorovou molekulu inhibice buněčného cyklu je považován protein p21^{Cip1} (označovaný též WAF 1 nebo CDKN 1A). Tento protein je inhibitorem cyklin-dependenčních kináz, které fosforylací inaktivují RB-protein (retinoblastoma protein). Inhibitor cyklin-dependenčních kináz do jisté míry uchovává RB-protein v aktivní formě. RB-protein negativně ovlivňuje expresi transkripčního faktoru E2F, který je nezbytný pro aktivaci transkripce genů specifických pro S-fázi. Nefosforylovaný (aktivní) RB-protein váže E2F-faktor a tím brání jeho vazbě na DNA. Cyklin-dependenční kinázy fosforylují RB-protein, E2F-faktor se uvolní z vazby na RB-protein a spouští proces transkripce genů specifických pro S-fázi (95, 101). Exprese E2F-1

může iniciovat proces apoptózy také u buněk bez TP53 (54).

Vedle toho CDKN 1A spouští cestou aktivace proteinu RAD 51 opravu poškozené DNA. Vlivem RAD 51 jsou zejména reparovány dvojité zlomy DNA, které prezentují nejvíce letální formu poškození (101).

Protein TP53 kromě výše uvedeného aktivuje další geny a molekuly účinkující jako transkripční faktory. Jsou jimi:

1. **Gadd45** (Growth arrest and DNA damage inducible gene – gen indukovaný bloádou buněčného cyklu a poškozením DNA), který se uplatňuje při reparačních pochodech DNA a při blokádě G₁/S přechodu. V experimentu *in vivo* se Gadd45, p21 a TP53 ozářením zvyšuje (111).
2. **Mdm2** (mouse double minute oncoprotein 2) – negativní regulátor TP53.
3. **Cyklin G** – cílová molekula indukovaného TP53 se jeví jako klíčový faktor regulace řetězce TP53-Mdm2. Cyclin G vytváří komplex s fosfatázou 2A (PP2A), váže se na Mdm2 a výrazně stimuluje schopnost PP2A defosforylovat Mdm2, čímž jej aktivuje (36, 67).
4. Skupina enzymů z rodiny cysteinových proteáz ICE/Ced-3 třídy nazývaná **kaspázy**. Spuštění kaskády reakcí, v níž kaspáza 9 aktivuje efektorovou kaspázu 3, vyúsťuje nezvratně v apoptózu buňky (28, 52, 79, 80).
5. Rodina **proteinů Bcl** zahrnující jednak agonisty apoptózy – BAX protein (Bcl-2 associated X-protein) (30, 35, 39, 81, 91, 97), BAD, BAK, BID, a za druhé antagonisty apoptózy – Bcl₂ (Oncogene B cell lymphoma 2 – onkogen lymfomu), Bcl_{XL} [49, 68, 102]. Transkripce těchto antiapoptotických faktorů je realizována cestou NF-κB (79, 80).
6. **Fas receptor**, který po navázání Fas ligandy cestou kaspáz vede k iniciaci procesu apoptózy (34, 101).

2. Blok nezávislý na TP 53

Indukce tohoto bloku je nezávislá na aktivaci TP53, ale vyžaduje přítomnost dalších dvou cholinových kináz označovaných CHK1 a CHK2, jež regulují přechod z G₂/M-fáze. Tyto kinázy fosforylují fosfatázy Cdc25a a Cdc25c odpovědné za průchod přes G₁/S a G₂/M klíčové body a za pokračování buněčného dělení. Fosfatázy Cdc25a a Cdc25c jsou inhibovány a indukuje se ustavení bloku G₂-fáze. Aktivní fosfatáza Cdc25c totiž odštěpuje fosfát vá-

zaný na tyrosin číslo 14 komplexu cyklin-dependenční kinázy Cdc2/cyclin B. Tento heterodimerní kinázový komplex (nazývaný také mitózu podporující faktor, protože řídí přechod z G₂-fáze do vlastní mitózy) je po odštěpení inhibičního fosfátu aktivován, což je nezbytné pro zahájení mitózy (95).

3.1.1.3 Aktivace transkripce tzv. rychle reagujících genů

Poslední výzkumy ukazují, že buněčná odpověď na ionizující záření je mnohem komplikovanější a mimo indukce inhibice buněčného cyklu a reparace DNA dochází také k aktivaci tzv. rychle reagujících genů.

Rychle reagující geny kódují různé transkripční faktory typu c-jun, c-fos a Egr-1. Tyto faktory za normálních okolností zprostředkovávají obecné buněčné pochody, jako je proliferace nebo diferenciacce. V případě ozáření přenášejí časné signály spouštějící dlouhodobé změny genové exprese, které umožňují savcím buňkám adaptovat se na radiační stres. Produkty těchto tzv. genů sekundární odpovědi jsou důležité proteiny fungující jako efektorové molekuly v biologických následcích ionizujícího záření, např. tumor nekrotizující faktor alfa (TNF-α) (114), transformující růstový faktor β (TGF-β) (12), bázičský fibroblastový faktor β (bFGF) (95).

Proteinkináza C indukuje expresi c-fos. Inhibitor proteinkinázy C (PKCI) snižuje transkripci c-fos, a tak zvyšuje radiosenzitivitu (37).

3.1.2 Leukocyt-endoteliální buněčné interakce po ozáření

Většina imunitních, zánětlivých, diferenciacních, regeneračních a kancerogenetických procesů závisí na mezibuněčných kontaktech, tzv. intercelulární komunikaci (34). Ta je založena na interakcích mezi mnoha páry adhezivních molekul exprimovaných na povrchu buněk. Jedna je receptorem a druhá ligandem. Jejich interakcí se do nitra buňky přenášejí signály z okolí, na něž buňka reaguje. Do adhezivních molekul patří skupiny selektinů (E-, P-, L-), integrinů (1–8), mucinů a adhezivní molekuly imunoglobulinové skupiny (ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1, PECAM-1, MAdCAM-1) (26, 29, 34, 74, 76). Jejich exprese na povrchu buněk je mimo jiné indukovaná ionizujícím zářením (31, 69, 70, 74). Vzájemnou intercelulární interakcí endotelie–leukocyty v postkapilárních venulách mezenterických cév a účinkem proinflatorních cytokinů dochází k diapedezi (extravazaci) leukocytů z řečiště, jejich aku-

mulaci v intersticiu a zvýšení vaskulární permeability endotelu.

3.1.2.1 *Expresie adhezivních molekul po ozáření GIT*

Samotný proces aktivace endotelií a extravazace neutrofilních leukocytů je vysoce koordinovaný a dobře regulovaný expresí adhezivních molekul na povrchu endotelií a neutrofilů (14, 26, 38, 74, 76). Probíhá ve 3 fázích:

1. Iniciačním krokem je slabá, reverzibilní adhezivní interakce, která volně plovoucí (flowing) leukocyt zpomalí a změní na valící se (rolling) podél endoteliální buňky. Tato interakce je způsobena indukovatelnou translokací P-selektinu (CD62P) ze zásobáren ve Weibel-Paladeho tělíčkách na plazmatickou membránu a povrchovou expresí E-selektinu (CD62E). Translokace P-selektinu je aktivována mimo jiné kyslíkovými radikály a je možná také jeho transkripční indukce endotoxinem, IL-1 β , IL-4 a TNF- α . E-selektin se na nestimulovaných endoteliích nevyskytuje, jeho syntéza je transkripčně indukována přes NF- κ B vlivem působení cytokinů IL-1 β , IL-4, TNF- α a bakteriálních lipopolysacharidů (76). *In vitro* v endoteliích lidské umbilikální vény ionizující záření od dávky 0,5 Gy indukuje genovou indukci E-selektinu nezávisle na indukci cytokiny (31). Odpovídajícím ligandem na neutrofilech jsou tetrasacharidy sialyl Lewis X a sialyl Lewis A (26, 76). Zvýšená interakce mezi leukocyty a endoteliemi v postkapilárních mezenterických venulách krys byla zjištěna za 2 hodiny po ozáření. Po expozici ionizujícím zářením se přechodně leukocytární rolling a počet kutálejících se leukocytů zvyšuje a zároveň se rychlost kutálení snižuje (74).
2. Zesílením adhezivních sil dojde k adherenci, tj. valící se leukocyt pevně přilne k endotelii a zůstane stacionární. Adherenci realizují adhezivní molekuly a sice na povrchu endotelie exprimovaná mezibuněčná adhezivní molekula ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1, CD54) a na povrchu neutrofilů druhý leukocytární β 2integrin označovaný Mac-1 (CD11b/CD18) (69, 70, 76). ICAM-1 bazálně na nízkých hladinách exprimují kromě endotelií leukocyty, fibroblasty a epiteliální buňky. Je úzce spjatá s rozvojem zánětlivé reakce a její produkci stimuluje IL-1 β , IL-4, TNF- α a lipopolysacharid (69). V orgánech GIT výrazně stoupá exprese endoteliální ICAM-1 po stimulaci TNF- α nebo lipopolysacharidem s maximem za 5 hodin a přetrváváním

zvýšených hladin po dobu 24 hodin (76). Proteosyntéza stimulovaná proinflatorními cytokiny je regulovaná transkripčními faktory homodimerním p65 NF- κ B a AP-1 (51). Submilmolární koncentrace H₂O₂ vedou ke zvýšené expresi β 2integrinu na leukocytech a ICAM-1 na endoteliích. Expresie ICAMové mRNA je závislá na čase a dávce, po expozici dávkami 10–40 Gy se ICAM-1 v lidských buňkách indukuje za 3–6 hodin (75). Neaktivované neutrofile a monocyty obsahují integrin Mac-1 v granulích, po aktivaci jsou granule mobilizována k povrchu buňky, kde membrána granulí fuzuje s buněčnou membránou. Zánětlivé mediátory (leukotrien B₄, PAF, IL-1 β , TNF- α aj.) aktivují leukocyty a povrchová exprese leukocytárních integrinů 3–10krát narůstá (76). Počet adhezujících leukocytů v mezenterických venulách krys se zvyšuje během 2–4–6 hodin po ozáření dávkami 20 Gy. Úměrně tomu klesá počet leukocytů a neutrofilů v periferní krvi. Adherence a emigrace není způsobena hemodynamickými změnami, neboť krevní tlak ani rychlost erytrocytů nejsou alterovány (74, 75). Vaskulární buněčná adhezivní molekula (vascular cell adhesion molecule – VCAM-1, CD106) endotelií interaguje s β 1integrinem (VLA-4, very late activation) lymfocytů, monocytů, eozinofilů a bazofilů a umožňuje jejich adherenci k cévní stěně. VCAM-1 není na nestimulovaných endoteliích přítomna, exprese se indukuje transkripční působením cytokinů a lipopolysacharidů (76).

3. Prostorem mezi dvěma naléhajícími endoteliemi dojde k transendoteliální migraci leukocytu do intersticia. Děj je opět výsledkem interakce adhezivních molekul. Vedle výše uvedených ICAM-1 a β 2integrinu se pro extravazaci neutrofilů rozhodující jeví PECAM-1 (platelet-endothelial cell adhesion molecule, CD31) (66). PECAM-1 je konstitutivně exprimovaná na povrchu destiček, leukocytů a endotelií a vlivem IL-1 nebo TNF- α se její počet nemění. Avšak působením cytokinů se přemísťuje k okrajům endoteliálních buněk, účastní se mezibuněčných interakcí endotelie–endotelie a ovlivňuje transmigraci leukocytů a intestinální mikrovaskulární permeabilitu (76). PECAM-1 hraje aktivní roli v přechodu leukocytů bazální membránou mezenterického endotelu (105). Počet emigro-

vaných leukocytů endotelem mezenterických venul krys je signifikantně zvýšen za 6 hodin po ozáření dávkou 20 Gy. Rovněž se ve stejném čase zvýšila mikrovaskulární permeabilita a únik albuminu (74). Akutní influx neutrofilů do střevní sliznice byl patrný u krys po lokálním ozáření břicha dávkami 10–50 Gy (13, 87).

3.1.2.2 Chemotaxe

Vedle exprese adhezivních molekul aktivované endotelie a leukocyty produkují cytokiny, resp. chemokiny (IL-8, MGSA, MIP-1, MCP-1) působící chemotakticky na další leukocyty (34).

3.1.2.3 Úloha neutrofilů v reakci na ozáření

Neutrofilů aktivované interakcemi s endotelem a účinkem cytokinů poškozuji tkáň 3 mechanismy:

1. Generují další volné kyslíkové radikály. Na jejich produkci se podílejí 2 enzymatické zdroje: xantinoxidáza a NADPH-oxidáza (75). Membránový enzym NADPH-oxidáza katalyzuje reakci, při níž NADPH reaguje s kyslíkem za vzniku NADP^+ a O_2^- (superoxidový radikál, tj. molekula kyslíku s připojeným jedním elektronem), z něhož dalšími reakcemi vzniká singletový kyslík, H_2O_2 a $\text{OH}^\cdot$. H_2O_2 reaguje účinkem myeloperoxidázy s Cl^- (chloridovým aniontem) a vznikají ClO^- (chlornanové anionty) (34). Děje spojené s aktivací NADPH-oxidázy se obecně nazývají respirační (oxidační) vzplanutí, neboť jsou provázeny vysokou spotřebou kyslíku.

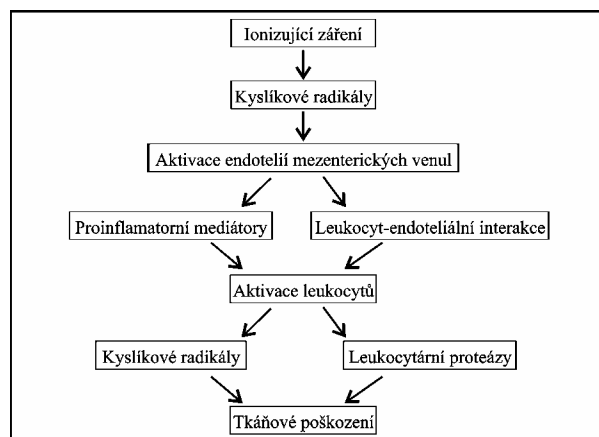
Produkce kyslíkových radikálů v kompartmentu mezenterických venul krys je signifikantně zvýšena za 2 a zejména za 6 hodin po ozáření dávkou 20 Gy, zatímco v perivenulárním intersticiu až za 6 hodin po expozici. Rovněž korelace mezi počtem adhezujících leukocytů a produkcí kyslíkových radikálů ve venulách a korelace množství emigrovaných leukocytů s produkcí kyslíkových radikálů v perivenulárním intersticiu byla významná (18, 75).

Aktivované leukocyty představují sekundární, nicméně velmi podstatný zdroj kyslíkových radikálů, které prohlubují poškození iniciované kyslíkovými radikály uvolněnými účinkem ionizujícího záření (75).

NO (oxid dusnatý) produkuje enzym NO-syntáza. NO-syntáza je aktivována v makrofázích vlivem cytokinů, např. TNF. Expresi a aktivitu inducibilní formy NO-syntázy stimuluje ionizu-

jící záření (18, 21, 45, 56, 57, 60).

2. Secernují soubor proteáz do extravaskulárního prostoru. Jedná se o elastázu, kolagenázu a želatinázu. Poslední dvě jsou též nazývány metaloproteinázy a jsou secernovány v inaktivní formě, která vyžaduje další proces aktivace (75). Sloučeniny chlóru, které jsou dalšími radikálovými produkty neutrofilů, oxidací aktivují metaloproteinázy. Volné radikály tak poškozuji tkáň přímo i nepřímo aktivací neutrofilních proteáz.
3. Produkují řadu proinflatorních cytokinů a chemokinů, leukocytární emigraci se zvyšuje dále cévní permeabilita a vytvořené volné radikály aktivují další neutrofilů a endotelie k procesu adherence a emigrace. Tím se uzavírá a prohlubuje „circulus vitiosus“ – viz obr. 3 (74, 76).



Obr. 3: Schéma rozvoje radiační enteritidy (76)

3.2 Rozvoj radiační odpovědi na celulární úrovni

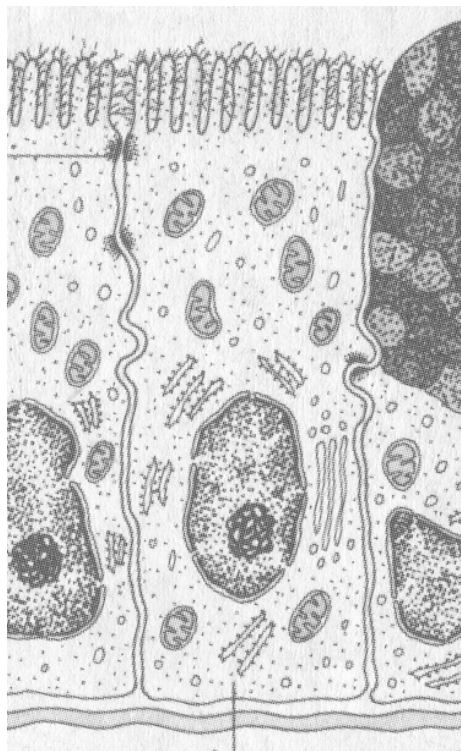
Na subcelulární úrovni dochází přímým nebo nepřímým účinkem záření k narušení membránových struktur, mitochondrií, cytoskeletu a poškození makromolekul nukleových kyselin v jádře enterocyty.

3.2.1 Cytologie střevní sliznice

Střevní epitelové buňky se vyskytují ve čtyřech druzích. Všechny čtyři typy mají původ v hypotetické primitivní kmenové buňce v bázi krypt. Sliznici tenkého střeva pokrývá jedna vrstva cylindrických resorpčních buněk (enterocyty). Enterocyty vystylají i Lieberkühnovy krypty s výjimkou jejich báze, která je vystlaná Panethovými buňkami. Mezi enterocyty jsou roztroušené pohárkové buňky, v malém počtu se vyskytují endokrinní buňky a mezi epitelové buňky mohou emigrovat leukocyty a lymfocyty (43).

3.2.1.1 Enterocyty

Enterocyty jsou cylindrické buňky s oválným jádrem umístěným v dolní třetině buňky. Cytoplazma enterocytu je velmi bohatá na mitochondrie a hladké endoplazmatické retikulum, orgány jsou umístěny v dolní části buňky – viz obr. 4 (43).



Obr. 3: Enterocyt

Buněčná membrána pokrývající povrch buňky se mikromorfologicky odlišuje podle toho, proti jakému okolí je obrácená.

Na apikálním (do lumina směřujícím) povrchu enterocytů je buněčná membrána specificky diferencovaná a tvoří pravidelné prstovité výběžky (mikroklky). Mikroklky jsou 0,1 μm silné a 0,5 μm dlouhé. Mikroklky podstatně zvětšují povrch buňky a 20krát povrch tenkého střeva. Skelet mikro-klků tvoří svazky tonofilament, které vybíhají z apikální vrstvy cytoplazmy. Jinak je apikální vrstva cytoplazmy bez organel. Na zevní proteinovou vrstvu membrány mikroklků v pravidelných intervalech nasedají elementární paličkovité částice představující mikromorfologický substrát enzymů leucinamino-peptidázy a invertázy. Na vnitřní ploše jsou lokalizovány alkalická fosfatáza a ATP-áza. Apikální buněčná membrána je tak specificky diferencovaná pro resorpční funkci – příjem tekutin a rozpustných látek difúzí, aktivním transportem a pinocytózou (43).

Kolem mikroklků je mukopolysacharidová PAS-pozitivní substance (glykokalyx). Glykokalyx plní ochrannou a imunitní roli před mikrobiálními patogeny a cizorodým i antigeny ve střevním lumen (27).

Boční povrch enterocytu je obrácený k povrchu sousední buňky. Buněčné hranice nejsou rovné, ale mezi sebou interdigitované a utěsněné spojovacím komplexem (v horní části pomocí zonula occludens, resp. tight junction, níže pomocí zonula adhaerens a nejdále od apikálního povrchu pomocí desmozómu, resp. macula adhaerens) (43). Spodní plocha enterocytu nasedá na bazální membránu a buněčná membrána je zde bez větších nerovností.

Hlavní nutriční složkou enterocytů je glutamin. Zajišťuje dusíkaté prekurzory pro syntézu purinů a pyrimidinů, které jsou nezbytné pro mitózu. Je důležitý pro udržování integrity střevní bariéry, stimuluje střevní disacharidázy a posiluje imunitní funkce. Jeho spotřeba významně narůstá při stresových situacích (sepse, trauma, hladovění) (43, 52).

3.2.1.2 Pohárkové buňky

Pohárková buňka je jednobuněčná mucinózní žláza. Má pohárkový tvar s rozšířenou horní částí, kde jsou nahromaděné kapky hlenu, a se zúženou bází, při níž je uloženo jádro. Secernovaný hlen pokrývá tenkou vrstvou sliznici tenkého střeva (43).

3.2.1.3 Panethovy buňky

Panethovy buňky vystylají dna Lieberkühnových krypt. Mají pyramidový tvar a v bazální části obsahují četné cisterny granulárního endoplazmatického retikula. V apikální části jsou eozinofilní lysozomální granula (43).

3.2.1.4 Endokrinní buňky

Endokrinní buňky jsou nejpočetnější v duodenu a mají význam pro regulaci činnosti GIT. Patří k nim enterochromafinní (argenta-finní) buňky produkující serotonin, G-buňky produkující gastrin, EG-buňky secernující glukagon, D-buňky produkující somatostatin, K-buňky vylučující polypeptid inhibující účinek gastrinu a S-buňky vylučující sekretin.

3.2.2 Změny enterocytů po ozáření

Radiosenzitivita hypotetické kmenové střevní buňky lokalizované zřejmě v bázi Lieberkühnových krypt je přibližně stejná jako radiosenzitivita kme-

nové buňky krvetvorby v kostní dřeni ($D_0=1$ Gy), avšak lepší schopnost reparovat subletální poškození vede k tomu, že střevo vykazuje větší radio-rezistenci než kostní dřev (101).

D_0 enterocyty je kolem 4 Gy, prahová dávka gastrointestinálního syndromu po ozáření je 8 Gy, účinek na střevní sliznice je deterministický.

Nejčasnější změny lze pozorovat v epitelu krypt. Již během prvních hodin po ozáření nadprahovými dávkami je patrná rychle progredující pyknóza, karyolýza, karyorexe a extruze buněčných reziduí do lumina. Mitotická aktivita v kryptách, která je za normálních podmínek vysoká s ohledem na velmi rychlý buněčný cyklus, ustává promptně po ozáření. Cylindrické buňky se progresivně snižují. Buněčná nekróza dosahuje maxima za 6–8 hodin. Eventuální zbylé buňky vykazují přechodné zvýšení proliferativní aktivity se známkami buněčných atypií (velká hyperchromatická jádra, ztráta polarity, atypické mitotické obrazce). Některé buňky obsahují velké vakuoly lokalizované bazálně nebo luminálně. Proliferace není patrná u těžce ozářených pacientů, neboť nárůst mitóz je nepřímě úměrný dávce. Po 24 hodinách sekundární mitotická aktivita ustává úplně. Proliferace buněk se zastavuje, zatímco deplece pokračuje (23). Se stoupající dávkou se prohlubuje nerovnováha mezi genezí epitelálních buněk v kryptách a jejich zánikem na vrcholech klků. Nerovnováha mezi extruzí odumřelých zralých enterocytů z vrcholku klků a replikací kmenových buněk v bázi krypt se týká podstatné části buněčné populace a projeví se morfologickými změnami střevní sliznice – viz kapitola 3.3.3 (15, 42).

3.3 Morfologické a funkční změny střevní sliznice po ozáření

3.3.1 Cytokinetika střevního epitelu

Základní morfologické elementy tenkého střeva jsou Lieberkühnovy krypty a klky jako funkční jednotky. Předpokládá se, že primitivní klonogenní kmenová střevní buňka je lokalizovaná na dně krypt (12). Zrání kmenové buňky, z níž regeneruje epitelová střevní výstelka, trvá 4 dny. Ascenzi z krypty kmenová buňka ztrácí svůj klonogenní potenciál a mění se ve zralou, diferencovanou, efektorovou buňku, která pokrývá povrch klku. Epiteliální buňka postupuje při plnění svých bariérových a transportních funkcí na vrcholk klku, podléhá programo-

vané buněčné smrti (apoptóze) a je eliminována do střevního lumina (3, 15). K apoptóze jsou nejnáchylnější zralé, diferencované enterocyty na vrcholku klku, ev. buňky defektní po působení noxy (2).

Doba přechodu z krypty na vrcholk klku činí v průměru 4–5 dnů (42). Epitel klků tenkého střeva je obnovován mitotickou aktivitou buněk střevních krypt každých 3–5 dní (15). Hlenotvorné buňky procházejí stejným cyklem jako enterocyty. Endokrinní buňky se nedělí, ale migrují, Panethovy buňky se ani nedělí, ani nemigrují (23).

3.3.2 Fyziologie tenkého střeva

Nepoškozená střevní sliznice plní funkci resorpční, sekreční, bariérovou a imunitní. Sekreční funkce hraje důležitou roli v obraně před průnikem střevních patogenů, toxinů a antigenů do lamina propria. Obranu proti cizorodým noxám zajišťuje neporušená epiteliální bariéra, nízká epiteliální permeabilita, sekrece chloridových iontů a vody a zvýšená motilita střev. Kombinací těchto mechanismů je zajištěno odstranění agens ze sliznice a jejich rychlý odsun z GIT. Kontaktem s antigenem současně tenké střevo plní významnou funkci imunitní (23, 27, 65, 78, 100, 104, 115). Koordinace je zajištěna mezibuněčnou komunikací epitelii, senzoričnými aferentními nervy v mukóze a submukózními a myenterickými střevními plexy (61, 112, 113). Absorpční činnost střeva zajišťuje recyklaci žlučových kyselin, zpětnou resorpci vody a minerálů a konzistenci střevního obsahu (15).

3.3.3 Morfologické změny střevní sliznice po ozáření

Za 24 hodin po ozáření se začínají rozvíjet charakteristické změny způsobené narušenou rovnováhou mezi proliferací a deplecí enterocytů. Úbytek efektorových buněk vede během 3–4 dnů k denudaci bazální membrány krypt a klků, na mnoha místech se vytvářejí mikroulcerace. Mnohočetná ložiska mikrohemoragií způsobují, že střevní lumen obsahuje krvavou tekutinu. Větší ulcerace mohou vyústit až v perforaci stěny. Strukturálně se mění architektura klků a krypt. Kompenzatorními mechanismy dochází ke zkracování krypt a klků, až jejich atrofizaci. Reziduální buňky se oplošťují a rozšiřují po větší ploše bazální membrány, eliminace buněk probíhá pomaleji. Pokud není depopulace kmenových buněk kompletní, zbytkové kmenové buňky jsou aktivované k restituci epitelu a mají zkrácený generační čas (23).

Záření neinhibuje migraci buněk z krypt na vrchol klku. Někteří autoři popisují separaci vilózního epitelu od lamina basalis a intraepiteliální edém (21). Oblasti mezi epitelem a lamina basalis se nazývají Grünhagenovy prostory (5). Morfologické změny epitelu doprovází precipitace proteinů a fibrinu subepiteliálně, leukocytární infiltrace a edém střevní stěny (15). Histologicky diagnostikovatelná leukocytární akumulace (neutrofily, lymfocyty, makrofágy) v tkáni je podstatou zánětu. Leukocytární aktivace a infiltrace v tkáni s následným uvolněním proteáz a sekundárních kyslíkových radikálů, které společně realizují zářením vyvolané a neutrofily zprostředkované tkáňové poškození (75, 76).

Pátý až sedmý den po ozáření jsou přítomny klky značně atrofické, jen částečně kryté malým množstvím reziduálních epitelů nebo zcela denudované, „holé“ (11, 19, 23, 33). Progresivní ztráta epitelu rezultuje ve funkční změny popsané níže.

Determinující pro postižení střeva je jeho anatomická fixace. Celé duodenum a horní partii jejunu fixuje Treitzovo ligamentum, terminální ileum je fixováno obvykle imobilním cékem. Duodenum, kraniální jejunum a terminální ileum jsou při aktinoterapii zasaženy vyššími dávkami (23). Zánětlivé změny po ozáření jsou nespecifické a histologicky těžko odlišitelné od zánětu jiného původu (např. m. Crohn). Akutní zánětlivé změny se rozvíjejí až u 50–75 % pacientů po radioterapii (21, 117).

3.3.4 Funkční změny tenkého střeva po ozáření

Po ozáření střeva nastávají funkční změny již za několik hodin a nemohou být vysvětleny progresivní deepitelizací sliznice. Časný nástup zažívacích obtíží nekoreluje ani se strukturálními změnami hladkého svalstva nebo myenterického plexu, není závislý na morfologickém poškození. Změny se týkají střevní motility a hrají významnou roli v časně reakci a symptomech prodromální fáze. Fyziologický charakter peristaltiky je hrubě narušen. Již krátce po ozáření se kontraktilní vlny stávají značně nepravidelné, dramaticky se zvyšují obrovské „posouvací“ kontrakce a aktivita aberantních pacemakerů v distálních partiích střeva iniciuje retrogradní propagace vyvolávající nauzeu, zvracení atd. (15, 22, 47, 50, 58, 71, 72, 73).

Deepitelizace střevní sliznice vrcholící za 5 až 7 dní po ozáření vede k funkčnímu selhání střeva. Je narušena sekreční, absorpční i imunitní funkce střev. Velké plochy povrchových ulcerací jsou místem,

kde unikají elektrolyty, proteiny, voda (15, 23, 59).

Několik dní až týdnů po expozici ionizujícím zářením se snižuje $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP-ázová}$ aktivita ve sliznici tenkého střeva, absorpční kapacita je snížena a rezultuje v malabsorpční průjem (56).

Na vzniku průjmu se podílí rovněž malabsorpce žlučových kyselin. Za fyziologických podmínek jsou žlučové kyseliny téměř kompletně reabsorbovány v tenkém střevě. Díky ztrátě epitelu po ozáření klesá reabsorpce konjugovaných žlučových kyselin o 50–85 %, střevními bakteriemi jsou dekonjugovány, váží vodu a vyvolávají průjem. V terminálním ileu je po ozáření malabsorbován vitamín B_{12} , redukce je o 60–100 %. Úbytek epiteliální laktázy vede k poklesu enzymatické degradace laktózy (na 15–44 %), která se hromadí, podléhá bakteriální fermentaci a způsobuje plynatost, distenzi střeva a průjem (15).

Malabsorpce žlučových kyselin, laktózy, dysbalance ve složení lokální slizniční střevní flóry a změny ve struktuře střevní motility vedou k profuzním průjmům.

Zdevastovaný epitel způsobuje, že se ztrácí důležitá ochranná bariéra vůči střevním mikroorganismům, zejména bakteriím (mikrobiální lift) a jejich toxinům. Kolem sedmého dne po ozáření dochází k bakteriální invazi, rozvíjí se infekce, septicémie a toxémie. Bakteriální invaze je kromě poškození slizniční bariéry podmíněna koincidující pancytopenií a ztrátou imunity. Právě leukopénie spojená s maximální denudací epitelu je příčinou fatální sepse (23). Při dávkách 6–10 Gy a vyšších vzniká smíšená forma ANO, tj. kombinace dřeňového útlumu s gastrointestinálním syndromem. Při lokálním ozáření břišní krajiny má střevní dysfunkce obdobný charakter jako při celotělovém ozáření, je však podstatně méně vyjádřeno poškození kostní dřeně.

Narušená integrita epitelu facilituje adherenci a penetraci luminálních bakterií a jejich toxických produktů. Z normální střevní flóry se tak stávají virulentní patogeny. Vedle gramnegativních *Enterobacteriaceae* se uplatňuje např. *Clostridium difficile*.

C. difficile, anaerobní grampozitivní sporulující tyčka, patří k normální střevní flóře, nachází se u 3 % zdravých dospělých, u 15–30 % hospitalizovaných pacientů a až u 50 % novorozenců. Výskyt vysoce koreluje s použitím širokospektrých antibiotik, zejména cefalosporinů 3. generace, a tak incidence průjmů vyvolaných *C. difficile* narůstá. *C. difficile* produkuje řadu enzymů degradujících tká-

ně (proteázy, kolagenázy, hyaluronidázu, heparinázu, chondroitin-4 sulfatázu) a toxiny A a B etiologicky působící průjmy, ev. pseudomembranózní kolitidu. Tyto toxiny narušují integritu střevního epitelu, snižují transepiteliální elektrický odpor, zvyšují adhezenci ostatních střevních bakterií a jejich penetraci střevní stěnou. I v nepřítomnosti zánětlivých buněk a jejich produktů zvyšují permeabilitu střevního epitelu. Defektní bariérou posléze pronikají do těla bakteriální fragmenty a toxiny a vyvolávají zánět (24).

Literatura

1. ALLEN, JB. – SAGERMAN, RH. – STUART, MJ. Irradiation decreases vascular prostacyclin formation with no concomitant effect on platelet thromboxane production. *Lancet*, 1981, vol. 2, p. 1193–1196.
2. BASIVIREDDY, J., et al. Indomethacin-induced mitochondrial dysfunction and oxidative stress in villus enterocytes. *Bioch. Pharmacol.*, 2002, vol. 64, p. 339–349.
3. BASSON, MD., et al. Independent modulation of enterocyte migration and proliferation by growth factors, matrix proteins, and pharmacologic agents in an in vitro model of mucosal healing. *Surgery*, 1992, vol. 112, p. 299–308.
4. BEDNÁŘ, B. aj. *Patologie*. Praha, Avicenum 1982. 684 s.
5. BEDNÁŘ, B. aj. *Patologie. Díl II*. Praha, Avicenum, 1983. 583 s.
6. BEG, AA. – BALTIMORE, D. An essential role for NF- κ B in preventing TNF- α -induced cell death. *Science*, 1996, vol. 274, p. 782–784.
7. BEG, AA., et al. Tumor necrosis factor and interleukin-1 lead to phosphorylation and loss of I κ B α : a mechanism for NF- κ B activation. *Mol. Cel. Biol.*, 1993, vol. 13, p. 3301–3310.
8. BERNHARD, EJ., et al. Inhibiting ras prenylation increases the radiosensitivity of human tumor cell lines with activating mutations of ras oncogene. *Cancer Res.*, 1998, vol. 58, p. 1754–1761.
9. BHATTACHARYA, RK. Signal transduction events in mammalian cells in response to ionizing radiation. *Indian J. Exp. Biol.*, 2001, vol. 39, p. 727–734.
10. BOURS, V., et al. A novel mitogen-inducible gene product related to p50/p105-NF- κ B participates in transactivation through a κ B site. *Mol. Cel. Biol.*, 1992, vol. 12, p. 685–695.
11. BRENNAN, PC., et al. Acute and protracted radiation effects on small intestinal morphological parameters. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1998, vol. 73, p. 691–698.
12. BROIDE, DH., et al. Transforming growth factor- β 1 selectively inhibits IL-3-dependent mast cell proliferation without affecting mast cell function or differentiation. *J. Immunol.*, 1989, vol. 143, p. 1591–1597.
13. BUELL, MG. – HARDING, RK. Proinflammatory effects of local abdominal irradiation on rat gastrointestinal tract. *Dig. Dis. Sci.*, 1989, vol. 34, p. 390–399.
14. BULLARD, DC., et al. Infectious susceptibility and severe deficiency of leukocyte rolling and recruitment in E-selectin and P-selectin double mutant mice. *J. Exp. Med.*, 1996, vol. 183, p. 2329–2336.
15. CLASSEN, J., et al. Radiation-induced gastrointestinal toxicity. *Strahlenther. Onkol.*, 1998, vol. 174, Suppl. III, p. 82–84.
16. COLEMAN, CN. Beneficial liaisons: radiobiology meets cellular and molecular biology. *Radioth. Oncol.*, 1993, vol. 28, p. 1–15.
17. COLLINS, DL. Human responses to the threat of exposure to ionizing radiation at Three Mile Island, Pennsylvania, and Goiania, Brazil. *Mil. Med.*, 2002, vol. 167, no. 2, Suppl., p. 137–138.
18. CONNER, EM., et al. Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in inflammatory bowel disease: toxins, mediators, and modulators of gene expression. *Infl. Bowel Dis.*, 1996, vol. 2, p. 133–147.
19. CUMMINS, AG., et al. Separate effects of irradiation and of graft-versus-host reaction on rat mucosal mast cells. *Gut*, 1989, vol. 30, p. 355–360.
20. DELANEY, JP. – BONSACK, ME. – FELEMOVICIUS, I. Radioprotection of the rat small intestine with topical WR-2721. *Cancer*, 1994, vol. 74, p. 2379–2384.
21. ERBIL, Y., et al. Nitric oxide and radiation enteritis. *Eur. J. Surg.*, 1998, vol. 164, p. 863–868.
22. ERICKSON, BA., et al. Altered motility causes the early gastrointestinal toxicity of irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1994, vol. 28, p. 905–912.
23. FAJARDO, LF. *Pathology of radiation injury*. New York, Masson Publishing, 1982. 286 p.
24. FELTIS, BA., et al. Clostridium difficile toxins may augment bacterial penetration of intestinal epithelium. *Arch. Surg.*, 1999, vol. 134, p. 1235–1241.
25. FINCO, TS. – BALDWIN, AS. κ B site-dependent induction of gene expression by diverse inducers of nuclear factor κ B requires raf-1. *J. Biol. Chem.*, 1993, vol. 268, p. 17676–17679.
26. FOXAL, C., et al. The three members of the selectin receptor family recognize a common carbohydrate epitope, the sialyl LewisX oligosaccharide. *J. Cell. Biol.*, 1992, vol. 117, p. 895–902.
27. FREY, A., et al. Role of the glycocalyx in regulating access of microparticles to apical plasma membranes of intestinal epithelial cells: implications for microbial attachment and oral vaccine targeting. *J. Exp. Med.*, 1996, vol. 184, p. 1045–1059.
28. GODAR, DE. – LUCAS, AD. Spectral dependence of UV-induced immediate and delayed apoptosis: the role of membrane and DNA damage. *Photochem. Photobiol.*, 1995, vol. 62, p. 108–113.
29. GRANGER, DN. Cell adhesion and Migration II. Leukocyte-endothelial cell adhesion in the digestive system. *Am. J. Physiol.*, 1997, vol. 273, p. G982–G986.
30. GREEN, DR. – REED, JC. Mitochondria and apoptosis. *Science*, 1998, vol. 281, p. 1309–1312.
31. HALLAHAN, D., et al. E-selectin gene induction by ionizing radiation is independent of cytokine induction. *Bioch. Biophys. Res. Comm.*, 1995, vol. 217, p. 784–795.
32. HALLAHAN, DE., et al. Tumor necrosis factor gene expression in mediated by protein kinase C following activation by ionizing radiation. *Cancer Res.*, 1991, vol. 51, p. 4565–4569.

33. HARARI, Y., et al. Intestinal anaphylaxis: radiation-induced suppression. *Am. J. Physiol.*, 1994, vol. 267, p. G709–G715.
34. HOŘEJŠÍ, V. – BARTUŇKOVÁ, J. *Základy imunologie*. Praha, Triton, 1998. 222 s.
35. CHEN, CH. – ZHANG, J. – LING, CC. Transfected c-myc and c-Ha-ras modulate radiation-induced apoptosis in rat embryo cells. *Radiat. Res.*, 1994, vol. 139, p. 307–315.
36. CHEN, X. Cyclin G: a regulator of the p53-Mdm2 network. *Dev. Cell*, 2002, vol. 2, p. 518–519.
37. CHOI, EK., et al. Effect of protein kinase C inhibitor (PKCI) on radiation sensitivity and c-fos transcription. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2001, vol. 49, p. 397–405.
38. JONES, SC., et al. Adhesion molecules in inflammatory bowel disease. *Gut*, 1995, vol. 36, p. 724–730.
39. JÜRGENSMEIER, JM., et al. Bax directly induces release of cytochrome c from isolated mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, vol. 95, p. 4997–5002.
40. KASIBHATLA, S., et al. DNA damaging agents induce expression of Fas ligand and subsequent apoptosis in T lymphocytes via the activation of NF- κ B and AP-1. *Mol. Cell.*, 1998, vol. 1, p. 543–551.
41. KHARBANDA, S., et al. Determination of cell fate by c-Abl activation in the response to DNA damage. *Oncogene*, 1998, vol. 17, p. 3309–3318.
42. KLENER, V., aj. *Principy a praxe radiační ochrany*. Praha, Azin CZ, 2000. 624 s.
43. KLIKA, E., aj. *Histológia*. Martin, Osveta, 1988. 496 s.
44. KNEBEL, A., et al. Dephosphorylation of receptor tyrosine kinases as target of regulation by radiation, oxidants or alkylating agents. *EMBO J.*, 1996, vol. 15, p. 5314–5325.
45. KONE, BC. – HIGHAM, S. Nitric oxide inhibits transcription of the Na⁺-K⁺-ATPase α 1-subunit gene in an MTAL cell line. *Am. J. Physiol.*, 1999, vol. 276, p. F614–F621.
46. KOTELES, G. Health risks for the Hungarian population due to the nuclear accident in Chernobyl. *Orv. Hetil.*, 2002, vol. 143, p. 1411–1414.
47. KRANTIS, A. – RANA, K. – HARDING, RK. The effects of gamma-radiation on intestinal motor activity and faecal pellet expulsion in the guinea pig. *Dig. Dis. Sci.*, 1996, vol. 41, p. 2307–2316.
48. KWOCK, L., et al. Endothelial cell damage after γ -irradiation in vitro: impaired uptake of $\alpha\alpha$ -aminoisobutyric acid. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1982, vol. 125, p. 95–99.
49. LaCASSE, EC., et al. The inhibitors of apoptosis (IAPs) and their emerging role in cancer. *Oncogene*, 1998, vol. 17, p. 3247–3259.
50. LEBRUN, F., et al. Ionizing radiation stimulates muscarinic regulation of rat intestinal mucosal function. *Am. J. Physiol.*, 1998, vol. 275, p. G1333–G1340.
51. LEDEBUR, HC. – PARKS, TP. Transcriptional regulation of the intercellular adhesion molecule 1 gene by inflammatory cytokines in human endothelial cells: essential roles of a variant NF- κ B site and p65 homodimers. *J. Biol. Chem.*, 1995, vol. 270, p. 933–943.
52. LI, YS., et al. Glycyl-glutamine-enriched long-term total parenteral nutrition attenuates bacterial translocation following small bowel transplantation in the pig. *J. Surg. Res.*, 1999, vol. 82, p. 106–111.
53. LI, P., et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*, 1997, vol. 91, p. 479–489.
54. LOWE, SW., et al. Abrogation of oncogene-associated apoptosis allows transformation of p-53 deficient cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, vol. 91, p. 2026–2030.
55. LÜBENAU, JO. – STROM, DJ. Safety and security of radiation sources in the aftermath of 11 September 2001. *Health Phys.*, 2002, vol. 83, p. 155–164.
56. MacNAUGHTON, WK. Review article: new insights into the pathogenesis of radiation-induced intestinal dysfunction. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2000, vol. 14, p. 523–528.
57. MacNAUGHTON, WK., et al. Expression, activity and cellular localisation of inducible nitric oxide synthase in rat ileum and colon post-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1998, vol. 74, p. 255–264.
58. MacNAUGHTON, WK., et al. Exposure to ionizing radiation increases responsiveness to neural secretory stimuli in the ferret jejunum in vitro. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1997, vol. 72, p. 219–226.
59. MacNAUGHTON, WK., et al. Ionizing radiation reduces neurally evoked electrolyte transport in rat ileum through a mast cell-dependent mechanism. *Gastroenterology*, 1994, vol. 106, p. 324–335.
60. MacNAUGHTON, WK. – LOWE, SS. – CUSHING, K. Role of nitric oxide in inflammation-induced suppression of secretion in a mouse model of acute colitis. *Am. J. Physiol.*, 1998, vol. 275, p. G1353–G1360.
61. McKAY, DM. – BIENENSTOCK, J. The interaction between mast cells and nerves in the gastrointestinal tract. *Immunol. Today*, 1994, vol. 15, p. 533–538.
62. McKENNA, WG., et al. Regulation of radiation-induced apoptosis in oncogene-transfected fibroblasts: influence of H-ras on the G2 delay. *Oncogene*, 1996, vol. 12, p. 237–245.
63. MAITY, A., et al. Potential molecular targets for manipulating the radiation response. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1997, vol. 37, p. 639–653.
64. MERRIT, AJ., et al. The role of p53 in spontaneous and radiation-induced apoptosis in the gastrointestinal tract of normal and p53-deficient mice. *Cancer Res.*, 1994, vol. 54, p. 614–617.
65. MIURA, S., et al. Endotoxin stimulates lymphocyte-endothelial interactions in rat intestinal Peyer's patches and villus mucosa. *Am. J. Physiol.*, 1996, vol. 271, p. G282–G292.
66. MULLER, WA., et al. PECAM-1 is required for transendothelial migration of leukocytes. *J. Exp. Med.*, 1993, vol. 178, p. 449–460.
67. OKAMOTO, K., et al. Cyclin G recruits PP2A to dephosphorylate Mdm2. *Mol. Cell*, 2002, vol. 9, p. 761–771.
68. ÖSTERREICHER, J. – MEINEKE, V. – MACELA, A. – van BEUNINGEN, D. Mechanismy rozvoje apoptózy a možnosti jejího využití v klinické praxi. *Voj. zdrav. Listy*, 2000, roč. 69, s. 193–198.
69. ÖSTERREICHER, J. – MEINEKE, V. – MACELA, A. – van BEUNINGEN, D. Úloha adhezních molekul v mechanismech rozvoje zánětlivých postradiačních změn. I. Intercelulární adhezni molekula-1 (ICAM-1). *Voj. zdrav. Listy*, 2001, roč. 70, s. 188–191.
70. ÖSTERREICHER, J. – MEINEKE, V. – PETÝREK, P. – MACELA, A. – van BEUNINGEN, D. Úloha adhezních molekul v mechanismech rozvoje zánětlivých postradiačních změn-II: Integriny. *Voj. zdrav. Listy*, 2001, roč. 70, s. 250–253.

71. OTTERSON, MF., et al. Fractionated irradiation alters enteric neuroendocrine products. *Dig. Dis. Sci.*, 1995, vol. 40, p. 1691–1702.
72. OTTERSON, MF. – SARNA, SK. – LEE, MB. Fractionated dosis of ionizing radiation alter postprandial small intestinal motor activity. *Dig. Dis. Sci.*, 1992, vol. 37, p. 709–715.
73. OTTERSON, MF. – SARNA, SK. – MOULDER, JE. Effects of fractionated dosis of ionizing radiation on small intestinal motor activity. *Gastroenterology*, 1988, vol. 95, p. 1249–1257.
74. PANÉS, J., et al. Role of leukocyte-endothelial cell adhesion in radiation-induced microvascular dysfunction in rats. *Gastroenterology*, 1995, vol. 108, p. 1761–1769.
75. PANÉS, J. – GRANGER, DN. Neutrophils generate oxygen free radicals in rat mesenteric microcirculation after abdominal irradiation. *Gastroenterology*, 1996, vol. 111, p. 981–989.
76. PANÉS, J. – GRANGER, DN. Leukocyte-endothelial cell interactions: molecular mechanisms and implications in gastrointestinal disease. *Gastroenterology*, 1998, vol. 114, p. 1066–1090.
77. PARIS, F., et al. Endothelial apoptosis as the primary lesion initiating intestinal radiation damage in mice. *Science*, 2001, vol. 293, p. 293–297.
78. PERDUE, MH. – MCKAY, DM. Integrative immunophysiology in the intestinal mucosa. *Am. J. Physiol.*, 1994, vol. 267, p. G151–G165.
79. POTOKA, DA., et al. Inhibition of NF- κ B by I κ B prevents cytokine-induced NO production and promotes enterocyte apoptosis in vitro. *Shock*, 2000, vol. 14, p. 366–373.
80. POTOKA, DA., et al. NF- κ B inhibition enhances peroxynitrite-induced enterocyte apoptosis. *J. Surg. Res.*, 2002, vol. 106, p. 7–14.
81. POTTEN, CS. – BOOTH, C. The role of radiation-induced and spontaneous apoptosis in the homeostasis of the gastrointestinal epithelium: a brief review. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 1997, vol. 118, p. 473–478.
82. READ, MA., et al. NF- κ B and I κ B α : an inducible regulatory system in endothelial activation. *J. Exp. Med.*, 1994, vol. 179, p. 503–512.
83. REGAUD, C. – NOGIER, T. – LACASSAGNE, A. Sur les effets redoutables des irradiations étendues de l'abdomen et sur les lésions du tube digestif déterminées par les rayons de Röntgen. *Arch. D'Électr. Méd. Exp. Clin.*, 1912, vol. 21, p. 321–334.
84. RODEMANN, HP. – BAMBERG, M. Cellular basis of radiation-induced fibrosis. *Radioth. Oncology*, 1995, vol. 35, p. 83–90.
85. ROOD, AS. – GROGAN, HA. – TILL, JE. A model for a comprehensive assessment of exposure and lifetime cancer incidence risk from plutonium released from the Rocky Flats Plant, 1953–1989. *Health Phys.*, 2002, vol. 82, p. 182–212.
86. ROMANENKO, A., et al. DNA damage repair in bladder urothelium after the Chernobyl accident in Ukraine. *J. Urol.*, 2002, vol. 168, p. 973–977.
87. ROSE, PG. – HALTER, SA. – SU, CHM. The effect of indomethacin on acute radiation induced gastrointestinal injury: a morphologic study. *J. Surg. Oncol.*, 1992, vol. 49, p. 231–238.
88. RUBIN, P., et al. A perpetual cascade of cytokines post-irradiation leads to pulmonary fibrosis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1995, vol. 33, p. 99–109.
89. RYSECK, RP., et al. RelB, a new rel family transkription activator that can interact with p50-NF- κ B. *Mol. Cell. Biol.*, 1992, vol. 12, p. 674–684.
90. SCOLAPIO, JS., et al. Outcome of patients with radiation enteritis treated with home parenteral nutrition. *Am. J. Gastroenterol.*, 2002, vol. 97, p. 662–666.
91. SELVAKUMARAN, M., et al. Immediate early up-regulation of bax expression by p53 but not TGF β 1: a paradigm for distinct apoptosis pathways. *Oncogene*, 1994, vol. 9, p. 1791–1798.
92. SHER, ME. – BAUER, J. Radiation-induced enteropathy. *Am. J. Gastroenterol.*, 1990, vol. 85, p. 121–128.
93. SPORN, LA., et al. Irradiation induces release of von Willebrand protein from endothelial cells in culture. *Blood*, 1984, vol. 64, p. 567–570.
94. STACK, RS., et al. Radiation injuries of the urinary tract: etiology, incidence, and management. *AUA Update Series*, 2000, vol. 19, no 7, p. 49–56.
95. STULÍK, J. – ÖSTERREICHER, J. – KAFFENBERGER, W. – MACELA, A. Radiačně indukované signální mechanismy buněk. *Voj. zdrav. Listy*, 2000, roč. 69, s. 263–266.
96. SUN, SC., et al. NF- κ B controls expression of inhibitor I κ B: evidence for an inducible autoregulatory pathway. *Science*, 1993, vol. 259, p. 1912–1915.
97. SUSIN, SA., et al. Molecular characterisation of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature*, 1999, vol. 397, p. 441–445.
98. TAKADA, J. External doses to 350m zone residents due to anisotropic radiation from the JCO criticality accident in Tokai-mura. *J. Radiat. Res.*, 2001, vol. 42, Suppl., p. S75–S4.
99. TANAKA, SI. Summary of the JCO criticality accident in Tokai-mura and a dose assessment. *J. Radiat. Res.*, 2001, vol. 42, Suppl., p. S1–S9.
100. TSUZUKI, Y., et al. Enhanced lymphocyte intreraction in postcapillary venules of Peyer's patches during fat absorption in rats. *Gastroenterology*, 1997, vol. 112, p. 813–825.
101. VÁVROVÁ, J. – FILIP, S. *Radiosenzitivita hematopoetického systému*. Galén, Praha, 2002. 100 s.
102. VÁVROVÁ, J. – STULÍK, J. – MAREKOVÁ, M. – VOKURKOVÁ, D. *Indukce apoptózy protinádorovými látkami a ionizujícím zářením*. Hradec Králové, VLA JEP, 2002. 44 s.
103. VODÍČKA, I. Biofyzikální základy radioterapie zhoubných nádorů. *Acta Medica*, 1998, vol. 2, Suppl., s. 105–163.
104. WAGNER, N., et al. Critical role for β 7 integrins in formation of the gut-associated lymphoid tissue. *Nature*, 1996, vol. 382, p. 366–370.
105. WAKELIN, MW., et al. An anti-platelets-endothelial cell adhesion molecule-1 antibody inhibits leukocyte extravasation from mesenteric microvessels in vivo by blocking the passage through the basement membrane. *J. Exp. Med.*, 1996, vol. 184, p. 229–239.
106. WALSH, D. Deep tissue traumatism from roentgen ray exposure. *Br. Med. J.*, 1897, vol. 2, p. 272–273.
107. WANG, Y. – ILIAKIS, G. Prolonged inhibition by X-rays of DNA synthesis in cells obtained by transformation of primary rat embryo fibroblasts with oncogenes H-ras and

- v-myc. *Cancer Res.*, 1992, vol. 52, p. 508–514.
108. WARREN, SL. – WHIPPLE, GH. Roentgen ray intoxication. I. Unit dose over thorax negative-over abdomen lethal. Epithelium of small intestine sensitive to X-rays. *J. Exp. Med.*, 1922, vol. 35, p. 187–202.
109. WARREN, SL. – WHIPPLE, GH. Roentgen ray intoxication. II. A study of the sequence of clinical, anatomical and histological changes following a unit dose of X-rays. *J. Exp. Med.*, 1922, vol. 35, p. 203–211.
110. WARREN, SL. – WHIPPLE, GH. Roentgen ray intoxication. *J. Exp. Med.*, 1922, vol. 35, p. 213–224.
111. WEST, A. – PRIANTE, G. – LAHDETIE, J. Stage-specific expression of Gadd45 induced by X-irradiation in rat spermatogenesis. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2002, vol. 78, p. 29–39.
112. WILLIAMSON, RCN. Intestinal adaptation I. Structural, functional and cytokinetic changes. *N. Engl. J. Med.*, 1978, vol. 298, p. 1393–1402.
113. WILLIAMSON, RCN. Intestinal adaptation II. Mechanism of control. *N. Engl. J. Med.*, 1978, vol. 298, p. 1444–1450.
114. WONG, GHW., et al. Manganous superoxide dismutase is essential for cellular resistance to cytotoxicity of tumor necrosis factor. *Cell*, 1989, vol. 58, p. 923–931.
115. YOKOTA, S. – GEPPERT, TD. – LIPSKY, PE. Enhancement of antigen- and mitogen-induced human T-lymphocyte proliferation by tumor necrosis factor- α . *J. Immunol.*, 1988, vol. 140, p. 531–536.
116. YOSHIMURA, K., et al. Radiation enteritis: a rare complication of the transverse colon in uterine cancer. *Inter. Med.*, 2000, vol. 39, p. 1060–1063.
117. ZORC-PLEŠKOVIČ, R., et al. Colon mucosal cells after high-dose fractional irradiation. *Fol. Biol.*, 2000, vol. 46, p. 43–48.

Korespondence: MUDr. Daniel Driák

Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK
a FN Na Bulovce
Budínova 2
180 81 Praha
e-mail: driak@seznam.cz

Do redakce došlo 24. 5. 2004