

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Antonina Bondarenko

Univerzita Pardubice  
Fakulta zdravotnických studií

Akutní nemoc z ozáření – současné terapeutické možnosti

Antonina Bondarenko

2021

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice  
Fakulta zdravotnických studií  
Akademický rok: 2018/2019

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Antonina Bondarenko**  
Osobní číslo: **Z18182**  
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**  
Studijní obor: **Radiologický asistent**  
Téma práce: **Akutní nemoc z ozáření – současné terapeutické možnosti**  
Zadávací 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 výzkumného 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*. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-4098-0
- KIANG, Juliann G. a Ayodele O. OLABISI, 2019. Radiation: a poly-traumatic hit leading to multi-organ injury [online]. *Cell & bioscience*, vol. 9, iss. 25. [cit. 2020-05-17]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0286-y>
- MACIÀ I GARAU, Miquel, Anna L. CALDUCH a Enric 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: <https://doi.org/10.1016/j.rpor.2011.06.001>
- SINGH, Vijay K. a Thomas M. SEED, 2017. A review of radiation countermeasures focusing on injury-specific medicinals and regulatory approval status: part I. Radiation sub-syndromes, animal models and FDA-approved countermeasures. *International Journal of Radiation Biology* [online]. vol. 93, iss. 9, s. 851-869 [cit. 2020-06-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09553002.2017.1332438>
- WILLIAMS, Jacqueline P. a William H. MCBRIDE, 2011. After the bomb drops: A new look at radiation-induced multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *International Journal of Radiation Biology* [online]. vol. 87, iss. 8, s. 851-868 [cit. 2021-02-08]. ISSN 0955-3002. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.560996>

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

Datum zadání bakalářské práce: **2. prosince 2018**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **29. dubna 2021**

L.S.

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

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

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA**

Prohlašuji:

Práci s názvem Akutní nemoc z ozáření – současné terapeutické možnosti, 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 29. 4. 2021

Antonina Bondarenko v. r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych chtěla velice poděkovat Mgr. Anně Lierové, Ph.D. za její odborné vedení, cenné rady, trpělivost a vstřícný přístup v průběhu zpracování této bakalářské práce. Dále mé velké poděkování patří mé rodině a přátelům, kteří mi byli po celou dobu oporou.

## **ANOTACE**

Bakalářská práce je zaměřena na popis akutní nemoci z ozáření. Tato nemoc je způsobená radiačním zářením a spadá do kategorie tkáňových (deterministických) účinku. Teoretická část práce shrnuje dostupné informace, které popisují vznik, průběh a aktuální možnosti léčby této nemoci. Ve výzkumné části je provedena analýza výsledku klinických studií zaměřených na nové možnosti terapie.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Akutní nemoc z ozáření, dřevový syndrom, gastrointestinální syndrom, neurovaskulární syndrom, multiorgánové selhání, terapie, klinické testy

## **ACUTE RADIATION SYNDROME – CURRENT THERAPEUTIC POSSIBILITIES**

### **ANNOTATION**

The bachelor's thesis is focused on description of acute radiation syndrome. This sickness is caused by radiation and is within to category of deterministic effects. The thesis summarized available information about the outset, development and current treatment possibilities of disease. In the research part is performed an analysis of clinical trials result considered on novel therapeutic strategies.

### **KEYWORDS**

Acute radiation syndrome, hematopoietic syndrome, gastrointestinal syndrome, neurovascular syndrome, multi-organ failure, treatment, clinical trials

## **OBSAH**

<b>Úvod .....</b>	<b>11</b>
<b>Cíl práce.....</b>	<b>12</b>
<b>TEORETICKÁ ČÁST.....</b>	<b>13</b>
<b>1 BIOLOGICKÉ ÚČINKY IONIZUJÍCÍHO ZÁŘENÍ .....</b>	<b>13</b>
<b>2 AKUTNÍ NEMOC Z OZÁŘENÍ.....</b>	<b>15</b>
2.1 Historický přehled .....	16
2.2 Dřeňový syndrom .....	19
2.3 Gastrointestinální syndrom.....	22
2.4 Neurovaskulární syndrom.....	23
<b>3 RADIAČNĚ INDUKOVANÝ SYNDROM DYSFUNKCE VÍCERO ORGÁNŮ.....</b>	<b>25</b>
<b>4 TERAPIE AKUTNÍ NEMOC Z OZÁŘENÍ.....</b>	<b>27</b>
4.1 Amifostin (Gamafos, Ethyol, WR-2721) .....	29
4.2 Terapie růstovými faktory – Filgrastim (Neupogen), PEG-Filgrastim (Neulasta) a Sargramostim (Leukine) .....	31
4.3 Transplantace.....	33
<b>5 PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>35</b>
5.1 Metodika.....	35
5.2 VÝSLEDKY – SOUČASNÉ TERAPEUTICKÉ MOŽNOSTI.....	38
5.2.1 HemaMax (rHuIL-12).....	38
5.2.2 RadProtect®.....	41
5.2.3 BIO 300.....	44
5.2.4 Eltrombopag.....	49
5.2.5 KMRC011.....	52
5.2.6 PLX-R18.....	55
<b>6 DISKUZE .....</b>	<b>58</b>
<b>7 Závěr .....</b>	<b>63</b>
<b>8 Použitá literatura .....</b>	<b>64</b>



## SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

<b>Obrázek č. 1</b> – Zjednodušené schéma poškození DNA. ....	<b>13</b>
<b>Obrázek č. 2</b> – Buňky hematopoetického systému.....	<b>19</b>
<b>Obrázek č. 3</b> – Senzitivita jednotlivých leukocytárních populací v periferní krvi po celotělovém ozáření. ....	<b>20</b>
<b>Obrázek č. 4</b> – Lumen tenkého střeva. ....	<b>22</b>
<b>Obrázek č. 5</b> – Schematické znázornění signálních drah zapojených v RI-MOF.....	<b>26</b>
<b>Obrázek č. 6</b> – Mechanismus účinku amifostinu.....	<b>29</b>
<b>Obrázek č. 7</b> – Mechanismus G-CSF v živočišné buňce.....	<b>31</b>
<b>Obrázek č. 8</b> – Flowchart vyhledávání v databázi 1. ....	<b>36</b>
<b>Obrázek č. 9</b> – Flowchart vyhledávání v databázi 2. ....	<b>37</b>
<b>Tabulka č. 1</b> – Seznam zahrnutých studií z databáze ClinicalTrials. ....	<b>36</b>
<b>Tabulka č. 2</b> – Studie č. 1. ....	<b>40</b>
<b>Tabulka č. 3</b> – Studie č. 3. ....	<b>42</b>
<b>Tabulka č. 4</b> – Studie č. 4. ....	<b>45</b>
<b>Tabulka č. 5</b> – Studie č. 5. ....	<b>47</b>
<b>Tabulka č. 6</b> – Studie č. 6. ....	<b>50</b>
<b>Tabulka č. 7</b> – Studie č. 7. ....	<b>53</b>
<b>Tabulka č. 8</b> – Studie č. 8. ....	<b>56</b>

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AFRRI	Radiobiologický výzkumný ústav ozbrojených sil [Armed Forces Radiobiology Research Institute]
ANO	Akutní nemoc z ozáření
BMI	Index tělesné hmotnosti [Body mass index]
Ca-DTPA	Pentetát vápenato-trojsodný
CNS-ANO	Neurovaskulární syndrom akutní nemoci z ozáření
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DRF	Faktor snížení dávky [Dose reduction factor]
EDTA	Kyselina etyléndiamíntetraoctová
EKG	Elektrokardiogram
ER	Estrogenový receptor
FDA	Ústav pro kontrolu potravin a léčiv [Food and Drug Administration]
G-CSF	Faktor stimulující kolonie granulocytů [Granulocyte colony stimulating factor]
GIT-ANO	Gastrointestinální syndrom akutní nemoci z ozáření
GM-CSF	Faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů [Granulocyte and macrophage colony stimulating factor]
GP1B	Estrogenový receptor spojený s G-proteinem
HP-ANO	Hematopoetický syndrom akutní nemoci z ozáření
HSC	Hematopoetické kmenové buňky [Hematopoietic stem cells]
i. m.	intramuskulárně
i. v.	intravaskulárně
IFN- $\gamma$	Interferon gama

IL-12	Interleukin-12
IZ	Ionizující záření
JAK 2	Janus kináza 2
LD	Letální dávka
LET	Lineární přenos energie [Linear energy transfer]
MSC	Mesenchymální kmenové buňky [Mesenchymal stem cells]
PEG	Polyethylenglykol
rHuIL-12	Rekombinantní lidský interleukin-12 [Recombinant human interleukin-12]
RI-MODS	Syndrom dysfunkce více orgánů vyvolané ozářením [Radiation-induced multiorgan dysfunction syndrome]
RI-MOF	Selhání vícero orgánů vyvolané ozářením [Radiation-induced multiorgan failure]
ROS	Reaktivní forma kyslíku [Reactive oxygen species]
RTOG	Radiační terapeutická onkologická skupina [Radiation Therapy Oncology Group]
TBI	Celotělové ozáření [Total body irradiation]
TLR	Toll like receptor
TPO	Trombopoetin
Zn-DTPA	Pentetát zinočnato-trojsodný

# ÚVOD

Ionizující záření (IZ) bylo objeveno před více než sto lety. Tento objev měl zásadní vliv na přírodovědné aspekty v oblasti fyziky, biologie či medicíny, a proto v průběhu minulého století bylo možné provádět různé výzkumy a pokusy. Tyto studia přinesly důležité poznatky o využití IZ v různých oborech průmyslu a zdravotnictví, ale také přinesly informace o její škodlivosti na živý organismus. K detailnějšímu bádání nepříznivých účinků ionizujícího záření na organismus přispěly jaderné výbuchy a havárie. Sběrem těchto dat bylo možné zjistit souvislosti mezi dávkou, časem, vzdáleností působení od zdroje a jejich následným vlivem na organismus a rozdělit způsobené poškození na stochastické a tkáňové účinky záření. Studia, obou typu účinků, probíhají i v současnosti, díky čemuž došlo k výraznému pokroku při zohledňování bezpečnosti a ochrany pracujících s ionizujícím zářením a zavedení legislativních rámců k nakládání se zdroji záření.

Největší hrozbou pro jedince je rozsáhlejší celotělová expozice IZ a rozvoj akutní nemoci z ozáření (ANO). ANO je soubor příznaků popsaných na živých organismech, které se řadí mezi deterministické účinky. V současnosti je tato problematika stále předmětem výzkumu, neboť s každým desetiletím dochází k novým vědeckým objevům a tím i důkladnějším interpretacím mechanismu a průběhu onemocnění. Vzhledem k lepšímu poznání poškození orgánů na molekulární úrovni byl ustanoven u celotělově ozářených organismů koncept radiačně indukovaného syndromu orgánové dysfunkce progredující až k selhání vícero orgánů. Od této skutečnosti se dále odvíjí i terapie ANO a zaměření farmaceutických společností na výzkumy účinných léků. Důležitost výzkumu léčebných látek k terapii ANO je zásadní jak z hlediska možného plošného ohrožení obyvatelstva při teroristických útocích za použití účinných nukleárních zbraní, tak i jako účinná protekce při ozařování vůči nádorovému bujení.

Bakalářská práce se zabývá popisem průběhu klinických příznaků ANO a jejich molekulárními mechanismy, vysvětluje současné pojetí této nemoci, s níž jsou spjaty dostupné terapeutické metody. Dále jsou přehledně popsány nové léčebné možnosti, které jsou relevantní vzhledem k úplnému či částečnému zotavení organismu a ke vzniku vedlejších účinků.

## **CÍL PRÁCE**

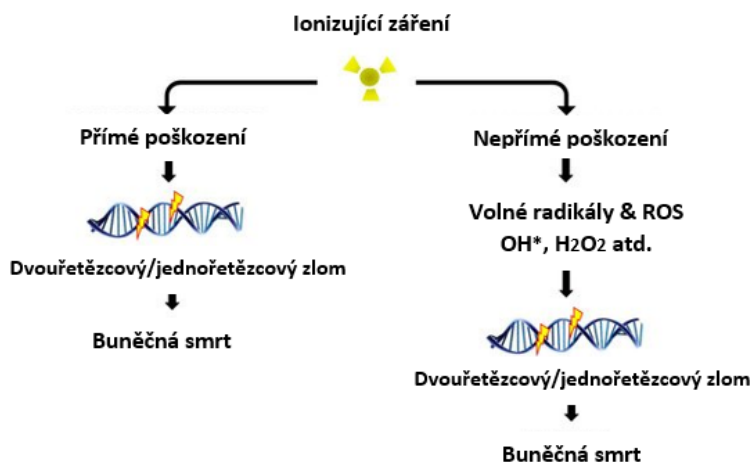
Cílem této práce je popsat akutní nemoc z ozáření a vydefinovat ji z historického hlediska až po současnou koncepci. Dále se práce soustředí na přehled terapií s povolenými léčebnými látkami a na terapie s přípravky, které jsou ve fázi klinických testování. V praktické části budou tyto klinické výzkumy shrnuty.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 1 BIOLOGICKÉ ÚČINKY IONIZUJÍCÍHO ZÁŘENÍ

Ionizující záření (IZ) je definováno jako druh elektromagnetického nebo částicového záření, které má dostatečnou energii ionizovat atomy nebo molekuly. Důležitou veličinou, která u IZ popisuje hustotu přenosu energie do prostředí, je lineární přenos energie (LET). Na základě toho můžeme IZ rozdělit na dva typy: záření s nízkým lineárním přenosem energie a vysoký lineárním přenosem energie. Mezi záření s nízkým LET se řadí gama záření, rentgenové (RTG) záření a beta částice. Do skupiny IZ s vysokým LET patří alfa částice, protony a neutrony. Účinky záření na biologický systém závisí na mnoha faktorech, jako jsou energie a fyzikální parametry záření, vlastní expozice (dávka, dávkový příkon, frakcionace), hypoxie atd. (Kiang et al., 2019).

Oba typy záření energií produkují rozdílné poškození DNA. Vysoké LET (těžké částice) způsobuje nejčastěji přímé poškození deoxyribonukleové kyseliny (DNA), které je více komplexní a hůř se opravuje, než při ozáření nízkými energiemi (gama a RTG paprsky). Nízké LET působí nepřímě, a proto k poškození dochází v důsledku vytvoření volných radikálů. Náhle vystavení ionizujícímu záření poškozuje makromolekuly, zvyšuje reaktivní formy kyslíku (ROS) a také reaktivní formy dusíku. Kvůli tomuto procesu se následně zvýší kontrola počátečních bodů buněčného cyklu a navodí se apoptóza či autofagie. Obecně řečeno ionizující záření může způsobovat poškození přímého nebo nepřímého účinku a zapříčinit narušení bází, jednořetězové či dvouřetězové zlomy nebo síťování molekul DNA. (Lopéz a Martín., 2011; Kiang a Olabisi, 2019). Na obrázku č. 1 jsou znázorněny možné mechanismy obou účinků.



Obrázek č. 1 – Zjednodušené schéma poškození DNA (Hur a Yoon, 2017).

Dále dle závislosti na výši energie (dávce) se rozlišují dva druhy biologických účinků: tkáňové (deterministické) a stochastické. Závažnost tkáňových, účinků je určena překročením prahové dávky a zvyšuje se stoupající dávkou záření. Pro stochastické účinky je charakteristický vznik mutací, rozvoj nádorového bujení a vývojových vad u potomstva. Jejich pravděpodobnost se také zvyšuje se stoupající radiační dávkou záření, ale bez prahové hodnoty (Dörr a Meineke, 2011).

Vysoká dávka ionizujícího záření získaná za krátký čas spouští řadu komplikovaných fyziologických vzorců, které se souhrnně označují tkáňové účinky a v případě expozice IZ se projeví u každého jedince. Mezi nejzávažnější poškození patří akutní nemoc z ozáření, radiační poškození kůže (dermatitida), radiační poškození čočky (katarakta) atd. Z hlediska zdravotních problémů je akutní nemoc z ozáření nejzávažnější, protože způsobuje systémové poškození organismu. (Kiang a Olabisi, 2011).

## 2 AKUTNÍ NEMOC Z OZÁŘENÍ

Radiační poškození organismu je způsobeno v důsledku smrti velké části buněk ve tkáni, kde kvůli expozici ionizujícího záření o vysoké dávce, reparační mechanismy nejsou schopné poškození správně vykompenzovat. Poškození může nastat v důsledku vnějšího působení IZ a radionuklidů po celotělovém ozáření (TBI) nebo vnitřní kontaminací, např. vdechnutím, požitím nebo absorpcí přes kůži, kde dojde k začlenění radioaktivní látky do buněk a tkání (Lopéz a Martín, 2011).

Akutní nemoc z ozáření (ANO) popisuje souhrn příznaků, které nastávají po celotělovém ozáření nebo po ozáření významné části těla vysokou dávkou záření (> 0,7 Gy). Časový průběh a závažnost klinických příznaků jsou závislé na celkové ozářené ploše těla (na nerovnoměrnosti ozáření), absorbované dávce, výši dávky a druhu záření – RTG, gama či neutronové. Základní klinické formy ANO se dělí dle poškození „kritických“ orgánu a orgánových soustav na dřeňový, střevní a neurovaskulární syndrom (Maciá i Garau et al., 2011; Havránková, 2020). Syndromy jsou pojmenovány podle orgánů nebo tkání s nejvýznamnějšími znaky a příznaky nemoci a jsou založeny na relativní citlivosti zasažených buněčných populací na záření (Williams a McBride, 2011).

Každá z těchto forem ANO, zahrnuje dle časové závažnosti a primární obdržené dávky 3 klíčové fáze onemocnění: prodromální, latentní a manifestní, po které následuje buď rekonvalescence, nebo smrt. Podrobnější popisy fází u všech 3 forem ANO jsou vysvětleny v následujících podkapitolách (Maciá i Garau et al., 2011; Havránková, 2020).

Klasická radiobiologie vysvětluje ANO selháním citlivých orgánových systémů, které nastává v důsledku ne nereparativního ozáření velkého počtu parenchymatických buněk – teorie cíleného poškození buněk („cell target theory“). Dnes je známo, že ozáření nemá pouze letální efekt, ale také navozuje funkční a vedlejší účinky na mnoho dalších buněk organismu – teorie necílového poškození („non-target theory“), a proto v současnosti se mluví o novém konceptu ANO: o radiačně indukovaném syndromu dysfunkce vícero orgánů progredujícího do selhání vícero orgánů (Maciá i Garau et al., 2011)

V současné době, díky množství vědeckých výzkumů zabývajících se o tuto problematiku v souvislosti s jadernými haváriemi v minulosti, máme možnost sledovat vývoj různých léků, které mohou toto onemocnění do určité míry zmírnit anebo preventivně ochránit (Singh a Seed, 2017a).



## 2.1 Historický přehled

Lidské ponětí o ionizujícím záření započalo před začátkem 20. století díky průkopnickým pracím jednotlivců, jako jsou Wilhelm Conrad Röntgen, Henri Becquerel, Marie a Pierre Curieovi. V roce 1895 Röntgen učinil zásadní objev – zjistil, že elektrická výbojka pokrytá černým papírem vyvolává vnější účinky, které způsobují fluorescenci mimo trubici. Tyto elektromagnetické paprsky pojmenoval jako záření X, ale ve mnohých zemích se užívají i pod termínem rentgenové záření. O rok později Becquerel objevil radioaktivitu, poté co fotografická deska, která byla chráněna před viditelným světlem, byla vystavena uranové soli. V roce 1898 Marie a Pierre Curieovi publikovali své poznatky ohledně izolace nové sloučeniny, kterou pojmenovali polonium, a v téže roce pojem radioaktivita zavedli k popisu vlastností nově objeveného prvku. O pár měsíců později publikovali list o dalším novém objevu radioaktivního elementu, který pojmenovali radium. Tyto rané objevy podpořily další možné výzkumy ohledně využití IZ a radionuklidů (Ray a Stick, 2015).

V letech 1898 – 1928 nastal prvopočáteční rozmach využívání RTG záření. V raných dobách uživatelé rentgenového záření nevěděli, že velké dávky záření mohou způsobit závažné biologické změny. Počáteční nevědomost o rizicích IZ vedla k množství nepředvídaných zranění pacientů, lékařů a vědců a v důsledku těchto incidentů někteří vědci začali propagovat zavedení limitů expozice k eliminaci vznikajících biologických poškození. Pouhý měsíc po objevení rentgenového záření vyšla publikace popisující případ radiačně indukované dermatitidy, ale až v roce 1902 byl stanoven první limit tohoto záření na 10 rad za den (0,1 Gy). Tento limit nebyl stanoven na základě biologicky podložených dat, ale na základě nejmenší hodnoty, kterou v té době byli schopni detekovat. V roce 1903 studie na zvířatech ukázaly, že RTG záření může způsobit rakovinu a usmrtit živou tkáň. Dále tato studie poskytla údaje o nejcitlivějších orgánech vůči poškození radiací, kterými jsou kůže, orgány tvořící krev a reprodukční orgány. V září 1924 na zasedání americké společnosti Roentgen Ray Society, Arthur Mutscheller jako první doporučil „toleranční“ dávku pro pracovníky se zářením. Nezávisle na Mutschellerovi k přibližně k obdobným limitům dospěl i Rolf. M. Sievert. V roce 1928 byl založen na druhém Mezinárodním radiologickém kongresu Mezinárodní výbor pro rentgenovou a radiační ochranu – ICRP v reakci na rostoucí obavy z účinků ionizujícího záření pozorovaných v lékařské komunitě (Schillaci, 1995). V roce 1950 se ICRP přejmenoval na Mezinárodní komisi o radiologické ochraně – ICRP a tento název nese dodnes (Clarke a Valentin, 2009).

V období 1928 – 1950 díky organizacím zabývajících se ochranou před radiačním zářením, docházelo k postupné standardizaci prahové dávky. Během druhé světové války a bezprostředně po ní bylo provedeno velké množství výzkumů, zejména studií na zvířatech, týkající se biologických účinků záření (Schillaci, 1995). Za důležitou zmínkou z hlediska ANO jsou v tomto období považovány atomové výbuchy v japonských městech Hirošima a Nagasaki, které se uskutečnily na konci druhé světové války v roce 1945.

První popis akutního radiačního syndromu učinil De-Coursey (1948) na obětech atomových výbuchů. Výzkum byl prováděn z pitevních nálezů 260 ozářených obyvatelů Japonska. Klinicky a patologicky byli pacienti rozděleni do čtyř kategorií onemocnění (kritické, těžké, střední, mírné) s úzkým vztahem mezi závažností, časem a výskytem úmrtnosti. Mezi první příznaky onemocnění patřili nevolnost a zvracení v den bombardování, následná horečka, leukopenie či průjem. Po dvou týdnech nastávala alopecie, purpura a orofaryngeální léze. Při klinické prohlídce pacientů, kteří umřeli během prvních dvou týdnů, nebyly obvykle žádné známky radiačně indukovaných poškození, ačkoliv po mikroskopické analýze byly pozorovány změny na bílých krvinkách, v lymfoidní tkáni, kostní dřeni, pohlavních žlázách a gastrointestinálním traktu; tyto dva týdny byly označeny jako rané období. Ve skupině umírající během třetího až šestého týdne převládaly změny v kostní dřeni, které vedly k působivým hemoragickým a ulcerativním symptomům a lézím; celková výživa poklesla; patologické změny byly na vrcholu; tyto týdny byly označeny jako meziobdobí. Oběti atomových výbuchů, které umírali po šestém týdnu a do čtvrtého měsíce po události, vykazovali počátky zotavení v lymfoidních tkáních, kostní dřeni a ve vlasových folikulech, ale přetrvávala atrofie varlat, plic, zánět v zažívacím traktu a zvýšená emaciace; tento interval byl označen jako pozdní období (DeCoursey, 1948).

V průběhu 50. až 70. let minulého století probíhalo mnoho studií, které se zabývaly rizikem genetických účinků přeživších obětí atomových výbuchů, ale také výskytem a úmrtností na rakovinu – leukémii a později i dalších solidních nádorů. Signifikantní výskyt zvýšené míry rakoviny mezi těmi, kdo přežili atomové bomby, měl hluboký dopad na komunitu zabývajících se radiační ochranou – ti se zaměřili na možnost, že i nízká úroveň expozice může vyvolat rakovinu. Data týkající se malignit byla získána z populací, které obdrželi vysoké dávky. Vzhledem k těmto skutečnostem byly opět přijaty nové limity pro radiační pracovníky a k ochraně populace (Schillaci, 1995).

V polovině 80. let došlo k jedné z největší radiační události – havárie Černobylské atomové elektrárny. Nejznámější radiační havárie se stala v Sovětském svazu v 26. 4. 1986, kdy došlo k výbuchu jednoho z reaktorů v jaderné elektrárně. Tento případ poskytl množství informací o klinických příznacích způsobených radiačním zářením, jak vnějším, tak i vnitřním (Macia i Garau et al., 2011). Černobylská havárie vyvolala velké množství případů akutní nemoci z ozáření. Případy tohoto onemocnění se vyskytly především mezi zaměstnanci elektrárny, kteří se nacházeli na místě události, a u záchranných složek, nikoliv mezi evakuovanými osobami či obyvatelstvem. Diagnóza ANO byla zpočátku zvažována u 273 osob, nakonec se potvrdila u 134. Krátce po havárii bylo zaznamenáno 28 úmrtí po celotělovém ozáření dávkou vyšší než 6,5 Gy (Mettler et al., 2007).

Diagnostika onemocnění přijatá v SSSR zahrnovala čas a expresi primární celkové a lokální reakce, expresi lymfopenie a neutrofilní leukocytózy v průběhu prvních 36 hodin. Čas a závažnost primárních celkových a lokálních reakcí se projeví během prvních hodin až prvních tří dnů. Exprese lymfopenie byla hodnocena kvantitativně podle dnů pozorování a na základě toho byla předběžně odhadnuta průměrná dávka celkového rovnoměrného záření. Možná dávka záření kostní dřeně byla stanovena přímou metodou počítání aberací v buňkách kostní dřeně. Na základě těchto kritérií byly osoby, u kterých se předpokládal rozvoj ANO, urgentně hospitalizovány v klinických zařízeních v Kyjevě a ve specializovaných nemocnicích v Moskvě. Během dalších 10 – 14 dnů byly stanoveny doby manifestace a stupeň trombocytopenie, dny zjevení a exprese leukopenie a granulocytopenie. Byly provedeny kvantitativní posouzení dávky v kostní dřeni s ohledem na množství přítomných dicentrických chromozómů v kulturách periferních lymfocytů (INSAG, 1986).

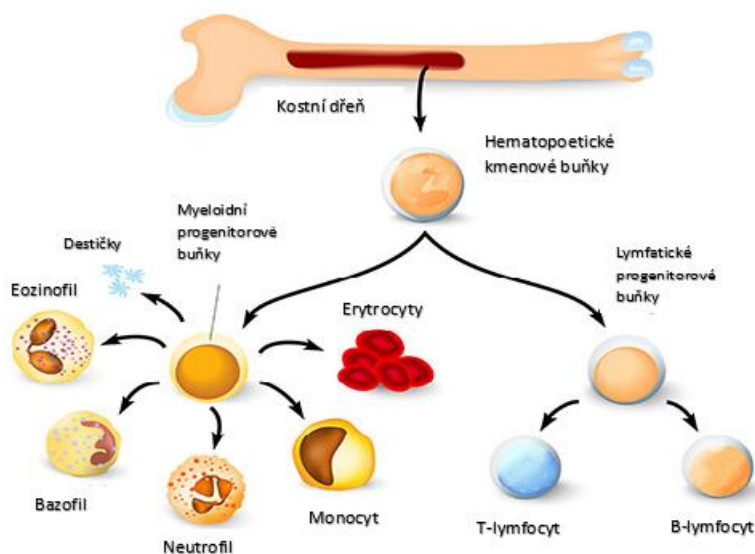
Souhrn těchto kritérií vyvinutých sovětskými vědci umožnil vyhodnotit prognózu: obecný klinický průběh onemocnění, dynamika krevního diagramu a možný stupeň poškození izolované části kůže a sliznice (INSAG, 1986). Dále bylo možné dle závažnosti ANO kostní dřeně a dalších příznaků, rozdělit pacienty do 4 kategorií – mírně (1 – 2 Gy), středně pokročilé (2 – 4 Gy), závažné (4 – 6 Gy) a extrémně závažné (6 Gy a více). Také bylo možné určit i oběti, které dostali dávky nižší 1 Gy (Gus'kova et al., 1987).

Na konci 90. let byla evidována další radiační událost zejména důležitá pro popis ANO. Radiační havárie se stala v továrně na obohacování uranu v městě Tokai-mura v roce 1999. Tři pracovníci byly vystaveny smíšenému toku neutronů a gama paprsků a u všech se následně rozvinula ANO. Pacienti A a B byli velmi blízko ke zdroji záření, zatímco pacient C byl několik

metrů od něj. Všichni tři byli přijati do Národní instituce radiobiologické vědy – NIRS, kde byly pečlivě sledovány jejich symptomy a klinické příznaky k vyhodnocení závažnosti poškození způsobeným ozářením. Současně byly použity fyzikální a biologické metody k odhadu ozářené dávky pro pacienty. Například na základě množství  $^{24}\text{Na}$  v krvi a předpokládaného poměru neutronů / gama paprsků, odhadované dávky byly 5,4 Gy neutronového záření a 8,5 Gy gama záření u pacienta A; 2,9 Gy neutronového záření a 8,45 Gy gama záření u pacienta B; 0,81 Gy neutronového záření a 1,3 Gy gama záření u pacienta C. Pacient A, který měl nejzávažnější průběh onemocnění, obdržel transplantaci kmenových buněk periferní krve a přežil 82 dní. Podobně i pacient B postoupil transplantaci kmenových buněk pupečnickové krve a přežil 210 dní. Přežití pacientů i po období útlumu kostní dřeně prokázalo, že selhání kostní dřeně samo o sobě již nebylo příčinou úmrtí ANO, ale poprvé bylo pozorováno spektrum postižení více orgánů a jejich následného selhání. Pacienta C, který byl nejméně ozářen a který následně nehodu přežil, neobdržel transplantaci hematopoetických kmenových buněk. Jeho léčba byla zaměřena na prevenci před infekcemi a k podpoře celkového zdravotního stavu (Hirama a Akashi, 2005).

## 2.2 Dřeňový syndrom

Dřeňový neboli hematopoetický syndrom (HP-ANO) je první ze tří základních forem ANO, který nastane po celotělovém ozáření při prahové dávce  $> 0,7$  Gy. Nastává v důsledku relativně vysoké radiosenzitivity krvetvorných kmenových buněk a také progenitorových buněk ve specifických kmenech lymfocytů, neutrofilů a trombocytů. Obrázek č. 2 znázorňuje mechanismus vzniku těchto buněk.



Obrázek č. 2 – Buňky hematopoetického systému (BioDefense, ©2017).

Vysoké dávky záření vedou k výraznému snížení počtu leukocytů a k imunosupresi, které u vystavených obětí přispívá k náchylnosti k infekcím. Nástupy příznaků dřeňového syndromu se objeví v závislosti na míře fyziologické ztráty buněk oběhové soustavy a na sníženém přísunu zralých buněk z proliferujících oddílů. Nerovnováha mezi těmito jevy vyústí v různé stupně pancytopenie s predispozicí k infekcím, kvůli leukopenii, a krvácení vlivem trombocytopenie. Závažnost těchto symptomů a pravděpodobnost zotavení bude záležet na absorbované dávce, dávkovém příkonu a celkovému ozářenému objemu kostní dřeně. Pokud nedojde k regeneraci těchto buněk, tak bez podpůrné léčby nastane smrt během 2 – 4 týdnů po expozici již při dávce v rozmezí 4,5 – 6 Gy. (Maciá i Garau et al., 2011; Singh a Seed, 2017a)



Obrázek č. 3 – Senzitivita jednotlivých leukocytárních populací v periferní krvi po celotělovém ozáření (Pejchal et. al., 2013).

Na obrázku č. 3 jsou souhrnně rozepsány maximální poklesy krevních buněk v periferní krvi po celotělovém ozáření. Jako první ze všech cytopenií nastává lymfopenie, která se objeví za 6 – 24 hodin po ozáření střední nebo vysokou dávkou. Pokud není známa dávka záření, tak díky kinetice úbytku lymfocytů ji lze předpovědět (Maciá i Garau et al.).

Při dávce okolo 5 Gy může nastat přechodné zvýšení počtu granulocytů v důsledku doplnění neozářených zralých buněk do krve z rezerv kostní dřeně. Toto přechodné zvýšení se nazývá abortivní vzestup nebo stresová reakce a nastává před neutropenií. Životnost těchto granulocytů se pohybuje kolo 7 – 24 hodin, poté granulocyty zmizí z periferního oběhu a jsou nahrazovány v různých stupních, v závislosti na absorbované dávce a počtu několika poškozených nebo neporušených kmenových buněk. Čím vyšší dávka IZ, tím rychleji granulocyty zmizí (Maciá i Garau et al.).

Krevní destičky, které mají životnost v periferní krvi okolo 10 dní, během této doby postupně mizí a také jsou nahrazovány v různé míře nebo v závislosti na úrovni poškozených kmenových buněk. Anémie, která není způsobena akutním krvácením, je neobvyklým nálezem, protože zralé červené krvinky mají delší životnost asi čtyři měsíce (Macia i Garau et al., 2011; Heslet et al., 2012).

### **Prodromální fáze**

Prodromální fáze onemocnění se objevuje mezi několika minutami až 6 hodinami po ozáření a netrvá déle než 24 – 48 hodin. Zahrnuje nespecifické příznaky dyspeptické (nechutenství, zvracení průjem), neuromotorické (únava, malátnost, apatie), neurovaskulární (závratě, bolesti hlavy, hypertermie, hypotenze) a také projevy lokální (kožní – hyperemie, pálení). Takové množství příznaků lze pozorovat u dávky 8 Gy, která je smrtelná. Při prahových dávkách 0,7 – 1 Gy se vyskytuje především anorexie, nauzea a zvracení. Se zvyšující se dávkou záření symptomy nastávají dříve, jsou intenzivnější a trvají déle. Při této fázi nejsou patrné změny v kostní dřeni, díky kompenzaci ze zachovalých rezerv (Havránková, 2020).

### **Latentní fáze**

V latentní fázi se příznaky utlumí nebo zcela vymizí, ale mohou přetrvávat tyto potíže: únava, periodické bolesti hlavy, porucha spánku. I když na první pohled se nic neděje, tak laboratorní výsledky ukazují útlum krvetvorby, zvýšenou neutropenii, trombocytopenii a pokles v počtu lymfocytů a granulocytů. Délka latentní fáze je závislá na dávce záření a pohybuje se mezi 2 až 4 týdny. Pokud byl pacient vystaven velmi vysoké dávce, tak tato fáze nemusí vůbec nastat a je ihned následovaná fází manifestní (Dörr a Meineke, 2011; Havránková, 2020).

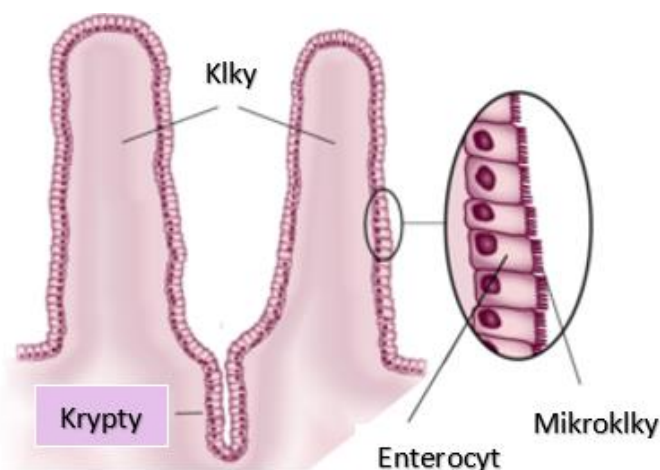
### **Manifestní fáze a rekonvalescence**

Manifestní fáze může nastat hned po prodromální a trvá přibližně 4 týdny. Je charakterizovaná především hemoragickým syndromem a infekčními onemocněními způsobenými převážně granulocytopenií a trombocytopenií. V tomto období se v periferní krvi nachází kritické množství krevních elementů. Kromě hemoragického syndromu a infekcí se projevuje celková intoxikace organismu, neboli radiační endotoxikóza, s astenií, kachexií, radiační alopecii, encefalopatií atd. Nicméně hlavní příčinou smrti je krvácení do vnitřních orgánů nebo závažná infekce. Pokud pacient nepodlehne smrti, tak v hematopoetickém systému začnou probíhat regenerační procesy, který zabezpečí zvýšení počtu zralých buněk a tím i ústup manifestních příznaků (Havránková, 2020).

Během rekonvalescence, která trvá v průměru 3 – 6 měsíců, dochází k částečné či úplné normalizace funkcí kritických systému organismu. Celkový zdravotní stav se zlepšuje, ale mohou přetrvávat ireverzibilní změny (např. leukopenie, anemie) a také mohou vzniknout pozdní změny po ozáření, které se neprojevily během ANO – šedý zákal, sklerotické změny, onkologická onemocnění atd. (Havránková, 2020).

### 2.3 Gastrointestinální syndrom

Poškození gastrointestinální soustavy (GIT-ANO) z důsledku expozice IZ nastává při dávkách v rozmezí 10 – 20 Gy. Epiteliální střevní buňky, lemující gastrointestinální trakt, jsou vysoce citlivé na poškození vyvolané zářením. Při jednorázovém ozáření dochází k poklesu počtu enterocytů, ke zmenšení tloušťky sliznice a postupnému obnažení střevní sliznice. Výsledkem tohoto patologického procesu je propustnost střevní bariéry pro mikroby a ztráta vody a elektrolytů (Macia i Garau et al., 2011, Havránková, 2020). Pro lepší pochopení střevní struktury je na obrázku č. 4 vykreslena jednoduchá anatomie a uložení střevních buněk.



Obrázek č. 4 – Lumen tenkého střeva (Turiicki, 2021.).

#### Prodromální fáze

V prodromální fázi jsou pozorovatelné symptomy s větší závažností a delší dobou trvání v porovnání s HP-ANO. Patří mezi ně především nauzea, zvracení, anorexie a sílí celková slabost organismu (letargie). Kromě toho se začínají objevovat příznaky poškození střev, jako jsou silné bolesti břicha, průjem, tenezmy, občasné parézy žaludku či střev. Délka této fáze se pohybuje okolo 2 – 3 dnů a více a následně může i nastat tzv. ekvivalent latentní fáze, kdy dojde k zlepšení zdravotní stavu bez úplného vymizení příznaků (Havránková, 2020).

## **Manifestní fáze**

Manifestní fáze onemocnění se vyznačuje náhlým zhoršením zdravotního stavu. Mezi 7 až 10 dnem po ozáření je intestinální sliznice zcela obnažená a vytváří vodnatý průjem, způsobuje dehydrataci, ztrátu elektrolytů, perforace a krvácení. Selháním slizniční bariéry dochází k průniku bakterií do krevního řečiště. V důsledku poklesu leukocytů v periferní krvi nastává imunoprese (HP-ANO) a dochází k infekcím a krvácivosti. Smrt nastává v důsledku sepse, krvácení, dehydratace a celkového selhání organismu (Maciá i Garau et al., 2011).

## **Experimentální studie na zvířatech**

V současnosti se pro popis a studium GIT-ANO využívají především experimenty na zvířatech. Úmrtnost zvířat většinou nastává během 10 dnů po ozáření vysokou dávkou. Obvyklý histologický nález u myši je množství regenerujících krypt počítaných v příčném řezu jejunu. Přežití jejunálních kryptových buněk nemusí vždy souviset s přežitím zvířete, v důsledku současného poškození imuno-hematopoetického systému. Funkční analýzy poškození gastrointestinálního traktu zahrnují bakteriální translokace do periferního krevního oběhu, střevní pohyblivost a propustnost a hladiny citrulinu v krevní plazmě. Zvracení vyvolané zářením byla intenzivně studovaná u psovitých šelem, nicméně mechanismy skryté pod tímto symptomem nejsou zcela objasněné, protože vyvolané reakce přesně nekorelují mezi lidmi, primáty a psovitými šelmami. Při ozáření břicha byl prokázán trojnásobný výskyt přesunu bakteriálních kolonií z tlustého střeva, přičemž více než polovina kolonií byla translokovaná v tenkém střevě. Výsledkem této patologie byl průjem (Singh a Seed, 2017a).

## **2.4 Neurovaskulární syndrom**

Neurovaskulární syndrom (CNS-ANO) se skládá z toxemického (cévního) a cerebrálního syndromu. Přesná patologie neurovaskulárního syndromu není příliš jasná. Toxemická forma onemocnění je patrná při dávce 20 – 50 Gy. Předpokládá se, že škodlivé účinky IZ působící na endotelové buňky a cévy, vedou k otokům a následkem toho dochází k zvýšení intrakraniálního tlaku. Mezi toxemickými příznaky se vyskytují poruchy krevního oběhu v mozku a otok mozku. Cerebrální radiační syndrom nastává při celotělové dávce vyšší 50 Gy. Dochází k přímému poškození nervových buněk s poruchami hemo- a likvordynamiky v mozku. Neurologickými příznaky jsou bolest hlavy, neurologické problémy, somnolence, ztráta vědomí. Tento syndrom charakterizován velmi krátkou prodromální fází s následnou smrtí během 24 – 48 hodin po ozáření. (Maciá i Garau et al., 2011; Havránková, 2020).



## **Experimentální studie na zvířatech**

Tak jako u GIT-ANO, tak i u neurovaskulární formy ANO se většina popisů prováděla z experimentů na zvířatech. Jedna ze zajímavých studií zabývající se morfologií centrální nervové soustavy po ozáření vysokými dávkami, probíhala na Lékařské fakultě v Olomouci pod vedením doc. Kamaráda (1989). Experiment se prováděl především na potkanech, kteří byli vystaveni dávkám gama záření  $^{60}\text{Co}$  v rozmezí 15 až 960 Gy. V menším měřítku a při nižších dávkách se prováděly pokusy na myších, králících a psech. Materiál pro studium byl vzorkován v intervalech od 15 minut do 6 dnů po ukončení ozařování. Tkáňové vzorky byly ošetřeny metodami pro účely světelné mikroskopie, elektronové mikroskopie a histochemie. Ve světelném mikroskopu byly pozorovány morfologické změny během prvních hodin a dominovaly známky mozkového edému. Nervové buňky vykazovaly příznaky akutního otoku a u některých kapilár byla pozorována malá krvácení. V pozdějších obdobích u nervových buněk byla předpokládána povaha pyknomorfních (zhuštěných a dehydratovaných) neuronů. Dále také byly nalezeny dystrofické změny u gliových buněk, malá krvácení rozptýlena po všech oblastech mozku. V pozdním období i nadále přetrvával edém mozku s rozšířenými perivaskulárními a pericelulárními prostory (Kamarád, 1989).

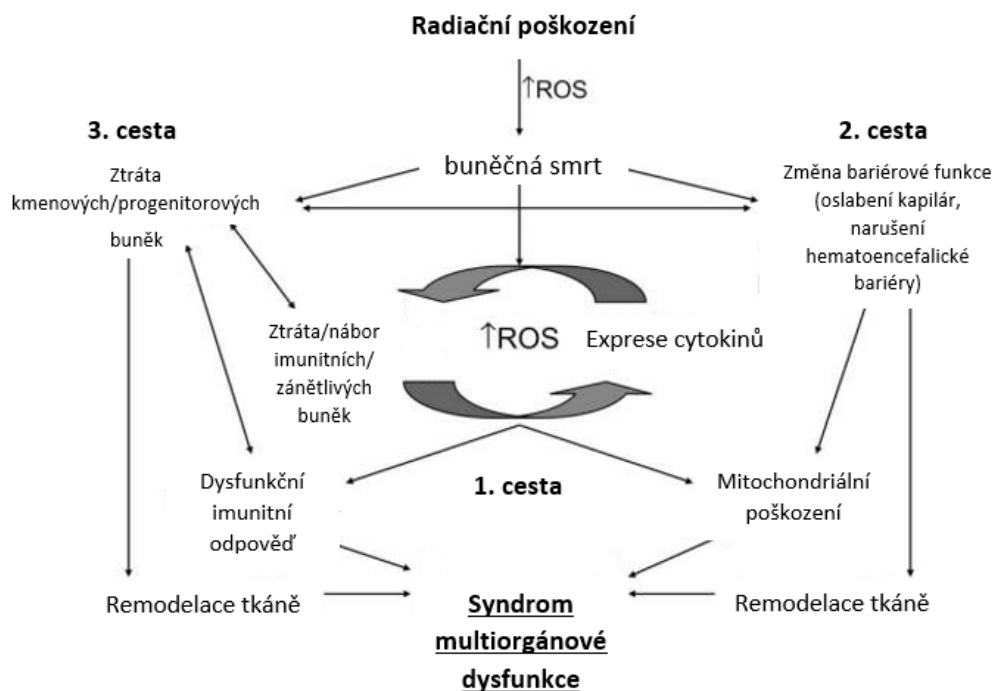
### 3 RADIAČNĚ INDUKOVANÝ SYNDROM DYSFUNKCE VÍCERO ORGÁNŮ

Dogma selhání jednoho kritického orgánu, které vysvětluje patofyziologii akutního syndromu záření, je dnes zastaralé. Nedávné pokroky ve studiích klinických anamnéz pacientů postižených různými radiačními nehodami, ke kterým došlo mezi lety 1945 až 2000, ukázaly, že součástí klasických syndromů nejsou pouze „kritické“ orgány (Maciá i Garau et al., 2011).

Radiačně indukované multiorgánové selhání (RI-MOF) je systémová zánětlivá odpověď organismu, jejímž důsledkem je ztráta velkého množství různých typů buněk (Dörr a Meinke, 2011). Tento stav byl pozorován u pacientů po zdánlivém zotavení z ANO, přesto že jim byla poskytnuta účinná terapie. Před tím než se u pacientů vyskytne samotné selhávání, tak nejdříve může nastat syndrom multiorgánové dysfunkce (RI-MODS), které bylo např. dokumentováno u osob zasahujících při černobylské havárii. Případy multiorgánového selhání byly pozorovány u obětí z Tokaimury, kde 2 pacienti zemřeli na pozdní komplikaci v důsledku selhání vícero orgánových soustav (Williams a McBride, 2011; Dörr a Meinke, 2011).

Původní radiobiologický koncept předpokládal, že pozdní radiační účinky byly důsledkem přímého usmrcení kritických buněčných populací v poraněném parenchymu, což vedlo k repopulaci buněk ve formě remodelace tkáně. Vědci se domnívali, že doba potřebná k objevení symptomů, byla výsledkem pomalého buněčného obratu kritických buněk v pozdě reagujících tkáních v kombinaci s větší kapacitou pro opravu DNA. Nicméně, v průběhu posledních 2–3 desetiletí byla tato myšlenka pozměněná. Předpokládá se, že mechanismy, které jsou základem progresu pozdních účinků, zahrnují kontinuu jemnějších a komplexnějších reakcí, které zahrnují indukci a modifikaci normálních reparativních a regeneračních procesů, změny mikroprostředí tkáně, zejména v prostředí cytokinů, a nával zánětlivých buněk před rozvojem chronického poškození tkáně.

Předpokládaná hypotéza je, že začátek a rozvoj RI-MODS a RI-MOF zahrnuje 3 vzájemně propojené signální dráhy (obrázek č. 5), které mají kořeny v základních radiobiologických principech. První signální dráha určuje vzájemný vztah mezi změnami vyvolanými zářením v lokalizovaném a systémovém zánětlivém a imunitním stavu a produkcí chronických ROS. Druhá dráha naznačuje, že větší a více integrační roli může hrát ve vývoji opožděných radiačních účinků narušení integrity bariéry, zejména na vaskulární úrovni, včetně hematoencefalické bariéry. Třetí signální dráha zdůrazňuje nedostatek kmenových / progenitorových buněk, který může nastat v důsledku ztráty kmenových / progenitorových buněk.



**Obrázek č. 5 – Schematické znázornění signálních drah zapojených v RI-MOF (Williams a McBride, 2011).**

Současné léčebné strategie jsou zaměřené pouze na známé pozdní účinky u normálních tkání jednotlivých orgánových struktur, ale tyto výše zmíněné zjištění a mnoho dalších potvrzují, že je nutné vyvíjet mitigátory, protektiva nebo terapeutika v kontextu systémového radiačního poškození. Pro správné navržení této strategie je potřeba pochopit mechanismy, z nichž vycházejí RI-MOF nebo RI-MODS (Williams a McBride, 2011).

## 4 TERAPIE AKUTNÍ NEMOC Z OZÁŘENÍ

Rostoucí globální riziko jaderných havárií, nehod a teroristických útoku vedlo k obnovení výzkumného zájmu o vývoj léčebných látek, které by se využily k terapii u obětí vystavených akutnímu ozáření (Singh a Seed, 2017a). Vývoj a dostupnost vhodných radiačních protiopatření, potřebných k ochraně jednotlivců a široké veřejnosti, zůstávají stále podstatnou lékařskou potřebou, která není doposud naplněná (Singh et al., 2017b). Díky neustálým vědeckým bádáním je k dispozici určité množství diagnostických a terapeutických opatření vůči IZ, které jsou z hlediska citlivosti hematopoetické tkáně zaměřeny na HP-ANO, jež je zásadní pro zdraví a možné uzdravení jedince. Dále se v dnešní době stále více studií zaměřuje na výzkumy vhodných medicínských protiopatření pro GIT-ANO. Za neléčitelný je v současné době obecně považován CNS-ANO. Tento syndrom nastává při extrémně vysokých dávkách radiační expozice a i při plné podpůrné péči k úmrtí dochází během několika hodin (Singh a Seed, 2017a).

Z dostupných vědeckých studií zabývajících se léčbou ANO je patrné, že první pozorování této problematiky probíhaly počátkem 50. let 20. století. Základní znalosti o ANO, byly především z lidských obětí atomových výbuchů v Hirošimě a Nagasaki a ze zvířecích pokusů. V tomto období neexistovala specifická léčba přímo vůči základnímu poškození, a proto se kladl velký důraz na zajištění přiměřené ochrany vůči záření. Mezi léčebné možnosti patřily především podpůrné a symptomatické terapie infekcí po zranění. Další zajímavé způsoby k prevenci nebo léčbě ANO byly specifické preventivní strategie podávané před expozicí a specifické léčby po expozici. Specifická preventivní léčba podávané před expozicí využívala sloučeniny obsahující funkční skupiny se sírou jako glutathion a cystein. Ze zvířecích studií se vědělo o vzniku volných radikálů vlivem ionizace a o reakci těchto radikálů s thioley. Předpokládalo se, že thiolové funkční skupiny by se měli tlumit ROS a tím by biologické účinky IZ mohly být sníženy. Tyto substance byly podány před ozářením a zvýšily dobu a míru přežití. Specifická léčba po expozici byla vytvořena na základě zjištění, že po ozáření dochází k reakci obdobné jako reakci na histamin. Tento fakt potvrdilo i zjištění vysokých hladin histaminu v krvi vyšetřovaných zvířat po ozáření. Prováděla se léčbou antihistaminiky, díky které bylo dosaženo určité míry zlepšení úmrtnosti zvířat. Další příkladem specifické postradiační terapie bylo využití anti-heparinových látek vzhledem k teorii, že krvácení při projevu HP-ANO jsou způsobeny produkcí nadměrného množství heparinu. Podpůrná léčba zahrnovala především odpočinek a ošetrovatelskou péči, udržování rovnováhy tekutin a elektrolytů – využíván antiemetikum Gravol (dimenhydrinát) a k doplnění elektrolytů solný roztok

hydrogenuhličitanu sodného, vhodná výživa, tlumení infekcí (penicilin v oleji, sulfonamidová antibiotika) a krvácení (krevní transfúze) a léčba anemie. Při vnitřních kontaminacích (např. plutoniem, uraniem atd.) se experimentovalo s octanem zirkoničitým a komplexní látkou jako např. kyselina etyléndiamíntetraoctová (EDTA). U zvířat bylo pozorováno zrychlení vylučování plutonia a rychlost absorpce v kosti se snížila (Pace, 1952).

I když uplynulo sedm desetiletí od prvních výzkumu léčebných přípravku, tak i v dnešní době existuje omezená řada léčiv, která jsou užitečná buď k prevenci, zmírnění nebo léčbě zranění způsobených expozicí ionizujícímu záření. Existuje několik slibných radiačních protiopatření, která mohou v blízké budoucnosti získat souhlas regulačních orgánů pro použití v klinickém prostředí a po mimořádných událostech v oblasti jaderné nebo radiologické expozice (Singh et al., 2015a).

Radiační protiopatření se klasifikují do tří skupin: radioprotektiva, radiomitigátory a látky využívané k radiační terapii. Radioprotektory slouží k profylaxi a podávají se před radiační expozicí, aby se zabránilo radiačnímu poškození tkáně během rané fáze radiochemických změn. Radiomitigátory se podávají brzy po ozáření před objevením zjevných příznaků, aby stimulovaly zotavení poškozených tkání. V sekci léčebné terapie jsou látky, které se distribuují v případě projevení příznaků k urychlení regenerace tkání a orgánů (Singh a Seed, 2020a).

Americký Ústav pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) do dnešní doby schválil pouze 7 látek k radiační ochraně. Mezi ně patří amifostin, jodid draselný, pentetát vápenato-trojsodný (Ca-DTPA), pentetát zinočnato-trojsodný (Zn-DTPA) a pruská modř (hexakynoželeznan železitý). Poslední tři zmíněné jsou chelatační činidla s využitím především při vnitřní kontaminaci radionuklidy a slouží k vyvazování a k následnému vylučování těchto látek z organismu. Zn-DTPA a Ca-DTPA jsou založené na obdobném principu jako EDTA, ale s efektivnější účinností při vyvazování plutonia, americia a curia. Další tři látky, které jsou nově schváleny, jsou z řad růstových faktorů – faktory stimulující kolonie a jejich funkčně modifikované glykolové formy – navázan polyethylenglykol (PEG) (Singh a Seed, 2017a).

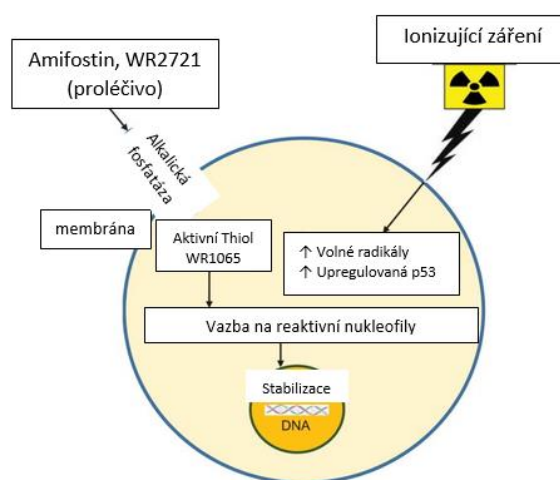
Pro léčení ANO, především její dřevné formy, jsou FDA schváleny tři radiomitigátory z řad růstových faktorů: Pro léčbu gastrointestinálního syndromu se stále hledají specifické biologické, chemické a farmakologické látky, které by zvládly regulovat poškození vyvolané ozářením, ale doposud nejsou dispozici žádná jasně prokázaná, bezpečná a účinná činidla. Ve vývoji je však velké množství substancí, které by v budoucnu tento problém mohli lépe řešit (Singh a Seed, 2019).

## 4.1 Amifostin (Gamafos, Ethyol, WR-2721)

Amifostin je farmakologická látka (S-2-(3-aminopropylamino)etyléster kyseliny tiofosforečné), která má radioprotektivní účinky pro zdravé tkáně. Také byl pozorován jeho radioprotektivní potenciál u pacientů s karcinomem a jako možná ochrana před poškozením krve tvorby (Kuna, 2006; Petýrek a Vávrová, 1999). Od roku 1999 je schválená FDA pro minimalizování toxicity zdravé tkáně při indikaci spojené s radioterapií a chemoterapií (Singh a Seed, 2019; King et al., 2020).

Tato látka byla vyvinutá v rámci výzkumného programu vedeným Armádním výzkumným ústavem Waltera Reeda ve Washingtonu, který probíhal mezi lety 1959 – 1965 (Kuna, 2006; King et al., 2020). Z více než 4 400 testovaných sloučenin byl nově identifikován syntetický aminothioliol, který prokázal nejlepší radiační ochrannou kapacitu a nejnižší toxicitu. Této nové látce bylo přiděleno identifikační číslo WR-2721, v Rusku a na evropském kontinentu byl pojmenován jako gamafos (King et al., 2020)

Sám o sobě amifostin je neaktivní fosforylované aminothioliolové proléčivo, které nemá ochranný účinek. Mechanismus radioprotekce amifostinu spočívá v tom, že je hydrolyzován alkalickými fosfatázami, které jsou bohatě obsaženy v normálních zdravých tkáních, na aktivní cytoprotektivní volný thioliolový metabolit neboli je defosforylován na WR-1065, který se následně váže na proteiny plazmy (Molkentine et. al., 2019). Aktivní forma této látky následně zachycuje volné radikály. Na obrázku č. 6 je jednoduše vyobrazen mechanismus této radioprotekce. WR-1065 má rychlou facilitovanou difúzi do normálních tkání jako jsou kostní dřev, ledviny, nervová tkáň, srdce, buňky střevních krypt, plicní tkáň a slinných žláz, významně nižší vstup je do mozku a kosterního svalstva. (Petýrek a Vávrová, 1999).



Obrázek č. 6 – Mechanismus účinku amifostinu (Singh a Seed, 2019).

Byla provedena řada studií na zvířatech, aby bylo možné pochopit účinek amifostinu a objasnit jeho mechanismus účinku. Tyto studie potvrdily relativní radioprotekci pro normální tkáň a žádnou nebo jen malou radioprotektivitou maligních nádoru. První testování této látky probíhaly na myších. V předklinické studii se podávalo 500 mg / kg amifostinu intraperitoneálně před ozařováním, kde faktor snížení dávky (DRF) IZ byl 2,7 pro HP-ANO a 1,8 pro GIT-ANO, ale nebyl pozorován žádný účinek pro CNS-ANO. Použitá dávka léčiva byla relativně vysoká, vzhledem k nepříznivým vedlejším účinkům. LD<sub>50</sub> samotného léčiva byla stanovena na 704 mg / kg. Když byl amifostin podáván myším intramuskulárně (i.m) v dávce 300 mg / kg 15 minut před nebo 2 hodiny před TBI, jeho DRF byl 2,7 (Singh a Seed, 2019). V dnešní době probíhají pokusy i na dalších zvířatech (králíci, psovitě šelmy, primáti), a to v různých formách podání –i.m., intravenózně (i.v.) či per os. Zjistilo se, že způsob podání léčiva ovlivňuje i jeho účinnost. Při podání amifostinu orálně nebyla pozorována účinnost tohoto léku jak u hlodavců, tak i u primátu (Singh a Seed, 2019). Neefektivita perorálního podání je pravděpodobně způsobena špatnou permeabilitou a metabolizováním střevního traktu a jater (Petýrek a Vávrová, 1999).

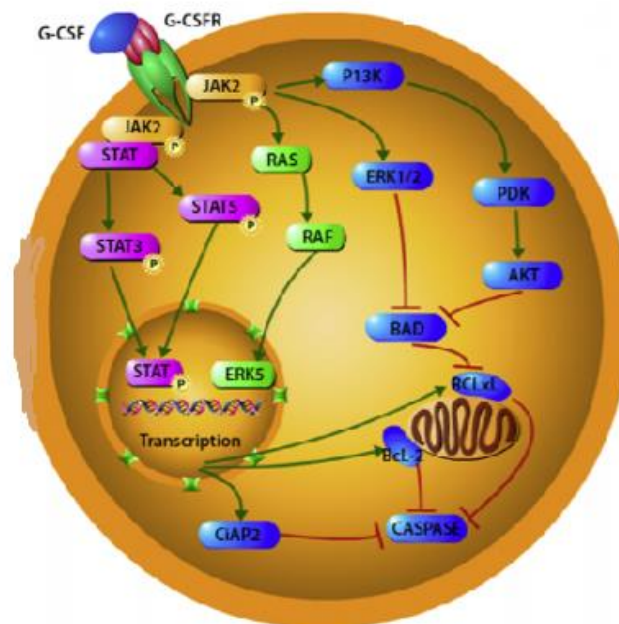
V roce 1979 byla první fáze studií na člověku zahájena Radiační terapeutickou onkologickou skupinou (RTOG). Studie RTOG 79–22 byla navržena ke stanovení maximální tolerované dávky amifostinu, při podávání jedné i.v. infuze. Současně byl zahájen RTOG 80–02 pro stanovení maximálně tolerované dávky amifostinu, při podávání několika denních i.v. infuzí po dobu několika týdnů. Tyto testy prokázaly, že dávka je limitovaná toxicitou, kterými jsou zvracení a hypotenze, a že rychlost infúze určuje nástup rychlosti toxicity. První dvojité zaslepené, placebem kontrolované, studie byly provedeny v Japonsku a jejich data naznačují klinický přínos a sníženou toxicitu normální tkáň bez ochrany nádorů v hlavě a krku, stejně jako v břišních a pánevních nádorech (King et. al., 2020).

Přestože byl amifostin schválen FDA téměř před 20 lety, kvůli své toxicitě dosud nedosáhl širokého klinického použití (King et. al., 2020). V důsledku všudypřítomné alkalické fosfatázy v endotelu normálních tkání byly pozorovány nežádoucí vedlejší účinků v autonomním nervovém systému (Molkentine et al., 2019). Předklinické studie na různých zvířecích modelech potvrdily, že amifostin může chránit téměř všechny normální tkáň před IZ nebo z konkrétních typů chemoterapeutik, avšak je limitován toxicitou. Tyto vlastnosti vedou k nepříznivým reakcím na chování a ke snížení výkonu (Singh a Seed, 2019). Výsledkem je, že tento slibný prostředek nebyl považován za vhodný jako radioprotektor pro speciální operační síly, vysoce rizikové osoby nebo pro běžné civilní obyvatelstvo (Petýrek a Vávrová, 1999).

## 4.2 Terapie růstovými faktory – Filgrastim (Neupogen), PEG-Filgrastim (Neulasta) a Sargramostim (Leukine)

Faktory stimulující kolonie granulocytů (G-CSF) jsou růstové faktory z řady cytokinů, které mají protektivní efekt. Podporují diferenciaci a proliferaci myeloidních progenitorových buněk a mají imunomodulační účinky (Zhao et al., 2013). Od roku 2015 do roku 2018 byly FDA postupně schváleny tři skupiny G-CSF k léčbě HP-ANO, které byly definovány jako radiomitigátory: filgrastim (Neupogen), PEG-filgrastim (Neulasta) a faktor stimulující granulocyty a makrofágy (GM-CSF) – sargramostim (Leukin). Všechny tyto látky mohou být využity k terapii u lidských jedinců (Singh et al., 2017a; 2019).

Biologický mechanismus G-CSF / PEG G-CSF / GM-CSF je založen na stimulaci progenitorových myeloidních buněk hematopoetického systému, kde dochází k produkci zralých neutrofilů. Při tomto procesu také dochází k urychlené regeneraci neutrofilů a tím i snížení závažnosti a trvání febrilní neutropenie a infekce (Singh et al., 2015b).



Obrázek č. 7 – Mechanismus G-CSF v živočišné buňce (Singh et al., 2015b).

Na obrázku č. 7 je vyznačen mechanismus G-CSF v buňce. G-CSF se musí nejdříve navázat na transmembránový receptor G-CSFR. Pomocí fosforylace zde dochází k vyvolání signální kaskády a aktivace Janus kinázy 2 (JAK 2). JAK 2 dokáže iniciovat mnoho signálních drah – tři z nich jsou označeny na obrázku fialově, zeleně a modře. Tyto dráhy se podílí na stimulaci



(zelené šipky) buněčné proliferace, buněčné diferenciaci nebo inhibici (červené šipky) apoptózy (Singh et al., 2015b).

Jako první z látek G-CSF byl schválen filgrastim na základě radiomitigativní účinnosti u primátu (Singh a Seed, 2019). Ve studii, kterou prováděli Farese et al. (2013), byl primátům podáván filgrastim (10 µg / kg / den) počínaje 1 dnem po TBI a pokračoval každý den, dokud absolutní počet neutrofilů nebyl > 1 000 / µL po dobu 3 po sobě následujících dnů. Všichni nehumánní primáti dostali lékařskou péči podle protokolu. Primárním cílem této studie bylo prokázat, zda Neupogen podaný do 24 hodin po smrtelném TBI (letální dávka (LD)<sub>50 / 60</sub> = 7,50 Gy) významně zvýší přežití laboratorního modelu. Neupogen signifikantně snížil celkovou úmrtnost o 38,3 %. Sekundární cílové ukazatele zahrnovaly průměrnou dobu přežití a všechny hematologické parametry. Filgrastim významně snížil dobu trvání neutropenie, ale neovlivnil absolutní nejnižší počet neutrofilů. Febrilní neutropenii byla zaznamenána u 79,2 % zvířat léčených filgrastimem, na rozdíl od léčených placebem 90,9 % (Farese et al., 2013).

Analogová, glykovaná forma filgrastimu PEG G-CSF je Neulasta. Změna její struktury a modifikace pomocí PEG má za důsledek zvýšení biologického poločasu v organismu s prodlouženým účinkem trvání. Aktivita a mechanismus účinku PEGylovaných a nePEGylovaných forem G-CSF jsou podobné (Singh et al., 2015b).

GM-CSF stejně jako G-CSF je hematopoetický růstový faktor ke stimulaci hematopoetických progenitorových buněk. GM-CSF může aktivovat zralé granulocyty i makrofágy, zatímco G-CSF reguluje produkci pouze neutrofilů v kostní dřeni a ovlivňuje proliferaci, diferenciaci a aktivaci těchto buněk (Singh et al. 2015b). Samograstim patří do skupiny GM-CSF. Tato látka byla podrobena podobnému výzkumu na laboratorním modelu nehumánních primátů, kteří byli vystaveni celotělovému ozáření v letální dávce 50 – 60 %. Primárním koncovým bodem bylo přežití k 60. dni. Po 48 hodinách od expozice IZ dostávali primáti denně subkutánní sargramostim (7 µg / kg / den) nebo placebo. Sargramostim významně zvýšil přežití 60. dne na 78 % vs. 42% u kontrolní skupiny s placebem. Míra regenerace neutrofilů, krevních destiček a lymfocytů byla zrychlena a míra infekce snížena (Clayton et al, 2021).

Tyto látky prokázaly množství kladných vlastností u ozářených zvířat, ale přesto vykazovaly určitou toxicitu pro organismus. Negativní účinky zahrnovaly horečku, hypoxii, spasmus svalů, splenomegalii, dýchací obtíže či Sweetův syndrom. (Singh a Seed, 2017a)

### 4.3 Transplantace

Transplantace lidských kmenových buněk se provádí již více jak 50 let. Kmenové buňky získaly velkou pozornost díky možnosti jejich použití za různých klinických podmínek a při onemocnění na zvířecích modelech, včetně ANO, což vedlo k neustálým výzkumům zaměřených na jejich široké použití v regenerativní medicíně (Fukumoto, 2016). Transplantace kmenových buněk se můžou provádět dvěma způsoby – alogenně, kdy se transplantují buňky získané od jiného dárce, nebo autologně, kdy se podávají buňky samotného pacienta. Zásadní rozdíly mezi těmito oběma způsoby se projevují v účinku transplantátu na původní nemoc a v působení na imunitní systém příjemce (Hořejší et al., 2017).

Z přehledu radiačních incidentů vyplývá, že do roku 2005 podstoupilo 31 pacientů transplantaci kmenovými buňkami z kostní dřeně, periferní krve, pupečnickové krve nebo jater plodu. Mezi těmito případy došlo u 27 pacientů k úmrtí, další 4 pacienti přežili díky odmítnutí aloštěpu. Snížená úspěšnost transplantace byla ovlivněná souběžným poraněním nehematopoetických orgánů a imunologickými komplikacemi transplantace (Weisdorf et al., 2006; Dainiak a Ricks, 2005).

Nejnámějším případem, kde se k terapii ANO u pacientů využila metoda transplantace, byla černobylské havárie. Celkem bylo k transplantaci indikováno 19 pacientu na základě vhodných klinických a laboratorních údajů. U 13 pacientů byla provedena alogenní transplantace kostní dřeně a u dalších 6 pacientů se implantovaly lidské fetální játrové buňky kvůli absenci vhodných dárců kostní dřeně. I přes včasnou a úspěšnou transplantaci pacienti postupně zemřeli. Přežil pouze jeden pacient, u kterého se později zjistilo opětovné obnovení vlastní dřeně a rejekce transplantátu. Základní selhání kostní dřeně bylo hlavním přispěvatelem všech úmrtí během prvních 2 měsíců po havárii (Gus'kova et al., 1987; Mettler et al., 2007).

Dnes jsou transplantace hematopoetických kmenových buněk (HSC) účinným způsobem léčby jedinců s hematologickým, onkologickým a nezhoubným onemocněním. Rozvoj znalostí biologie transplantací a pokrok v podpůrné péči vedly k dramaticky snížené morbiditě a mortalitě transplantací. (Dainiak a Ricks, 2005). Terapie kmenovými buňkami byla zavedena v oblasti regenerativní medicíny jako vysoce adaptabilní transplantační metoda. Mezi uváděné výhody používání kmenových buněk patří schopnost samoobnovy s diferenciacním potenciálem určeným okolním mikroprostředím; nízká pravděpodobnost odmítnutí transplantátu, proveditelnost i.v. infuze a rychlá distribuce do míst poranění díky vlastnostem navádění buněk a možnost *ex vivo* kultivace, diferenciacce a expanze (Fukumoto, 2016).

Kromě vysoce využívaných HSC se do středu zájmu dostalo využití mesenchymálních kmenových buněk (MSC). Mesenchymální kmenové buňky jsou prospěšné pro léčbu zdravotních stavů vyžadujících regeneraci tkání. Ačkoli se současné klinické použití MSC omezuje na pokusy s jinými chorobami než s ANO, jejich jedinečné biologické vlastnosti, jako je migrace, „homing“, vyšší účinnost a minimální odmítnutí hostitele, umožňují jejich širší uplatnění v medicíně. Identifikace jejich základních mechanismů může výrazně zlepšit vyhlídky na použití terapií založených na MSC pro nesplněné lékařské potřeby, včetně léčby ANO (Fukumoto, 2016).

Množství výše zmíněných transplantačních metod jsou zejména zaměřeny na terapii hematopoetického syndromu. Pokud se jedná o gastrointestinální syndrom, je důležité zmínit, že stále spadá pod složku medicínské problematiky, která i nadále vyžaduje účinnou léčbu. Nedávné studie zaměřené na střevní mikroflóru přináší rostoucí důkazy o klíčové roli střevních mikrobů jako zásadních regulačních prvků ve fyziologickém a patologickém stavu hostitele. Gastrointestinální trakt má jedinečnou vlastnost přechovávat četné mikroby v lumenu, z nichž většina jsou bakterie, které se společně vyvinuly s hostitelem ve vzájemném vztahu. Střevní mikroby neustále indukují imunitní systém svého hostitele a přímo modulují vrozené a adaptivní imunitní reakce. Proto bylo testováno, zda by transplantace střevních mikrobů mohla zmírnit toxicitu vyvolanou po záření. Studie Cui et al. (2017) hodnotila terapeutický potenciál a molekulární mechanismy transplantace fekální mikrobioty na modelech letálně ozářovaných hlodavců a prokázala, že tento typ transplantace od zdravých myší pozoruhodně zmírnil průběh GIT-ANO v závislosti na pohlaví. Fekální transplantace střevní mikroflóry snížila toxicitu u ozářených myší zlepšením funkce gastrointestinálního traktu a integrity epitelu, zachováním složení bakterií ve střevě a udržováním transkriptomu tenkého střeva (Cui et al., 2017).

V současnosti již existují i experimentální studie, které se zabývají transplantací neuronových prekurzorových buněk a jejich využití v medicíně neurodegenerativních chorob, ale žádná dostupná studie se nezaobírá touto možností v souvislosti s CNS-ANO (Filippova et al., 2021). Terapie tohoto syndromu je stále jen podpůrná a zahrnuje tlumení bolesti a podávání antiemetik (Dainiak et al., 2011).

## 5 PRAKTICKÁ ČÁST

### 5.1 Metodika

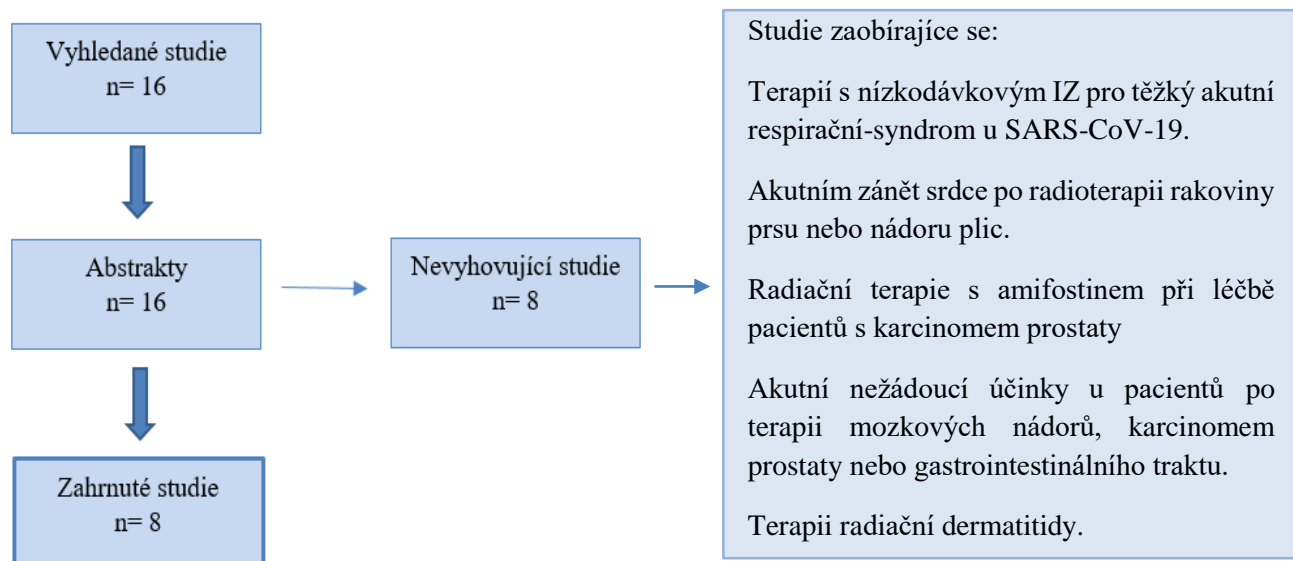
Praktické část bakalářské práce si kladla za cíl vyhledat a shrnout aktuální klinické studie, které jsou zaměřené na léčbu ANO, a popsat nové terapeutické možnosti, které by v blízké budoucnosti mohli být využité jako bezpečné farmakologické přípravky. K vyhledání těchto informací byly využity dvě databáze. První databáze [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) (databáze1) posloužila k vyhledávání klinických studií, které byly prováděny na lidských dobrovolnících. Výhodou této databáze je její volná přístupnost pro širokou veřejnost a v některých případech i poskytnutí odkazů na publikace podobných studií. Správa náleží Národní lékařské knihovně (National Library of Medicine – NLM) v Národních ústavech zdraví (National Institutes of Health – NIH). Před vyhledáváním v databázi 1, bylo důležité si uvědomit a následně stanovit správné rešeršní otázky, na které vyhledané studie by měly zodpovědět.

#### Rešeršní otázky:

Jaké jsou současné testované léčebné látky k terapii ANO?

Jakou mají efektivitu, hodnocení a bezpečnost?

K vyhledávání byla stanovena tato klíčová slova: acute radiation syndorme, acute radiation sickness, acute radiation disease. Dle klíčových slov bylo nalezeno 16 dostupných studií, z nichž 8, po přečtení záměru studie, bylo vyhovujících a zahrnuto k dalšímu zpracování. Zbylé studie povětšinou nesplňovaly podmínku léčebných látek a spíše se zaměřovaly na problematiku v souvislosti s radiačním poškozením při onkologické léčbě zářením. Obrázek č. 8 popisuje tento výběr studií ve formě flowchart grafu.

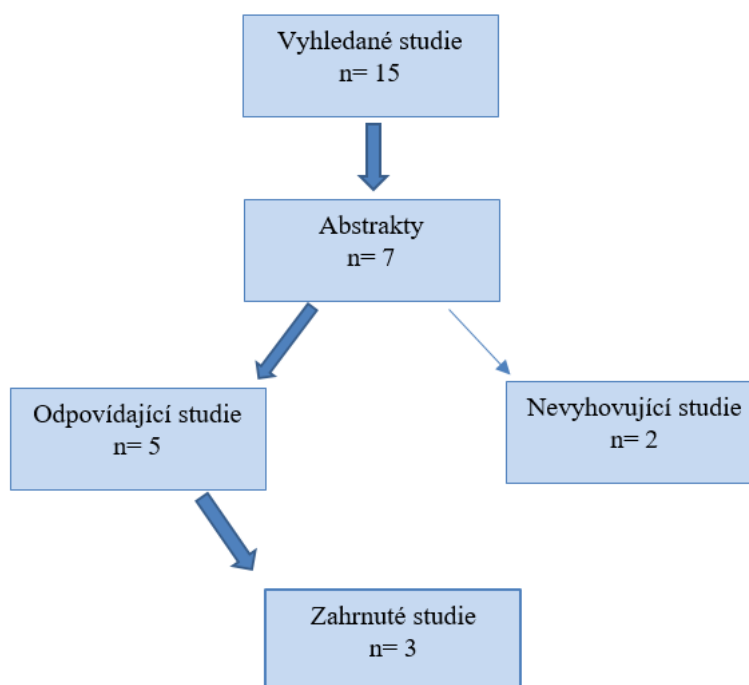


Obrázek č. 8 – Flowchart vyhledávání v databázi 1.

Tabulka č. 1 – Seznam zahrnutých studií z databáze ClinicalTrials.

Číslo	Stav	Název studie	Podmínka	Intervence	Lokace
1.	Dokončený	Safety and Tolerability of HemaMax (rHuIL-12) as Radiation Countermeasure	Dřeňová forma ANO	HemaMax, Placebo	USA
2.	Dokončený	Safety Study of HemaMax (rHuIL-12) to Treat Acute Radiation Syndrome	Dřeňová forma ANO	HemaMax, Placebo	USA
3.	Neznámý	A Study to Evaluate the Safety and Pharmacokinetics of RadProtect® in Healthy Volunteers	Akutní nemoc z ozáření	RadProtect	USA
4.	Dokončený	Safety and Pharmacokinetic Study of BIO 300 Capsules	Akutní nemoc z ozáření	BIO 300 kapsle	USA
5.	Nábor	BIO 300 Oral Powder Safety and Pharmacokinetics	Akutní nemoc z ozáření	BIO 300 orální prášek	USA
6.	Dokončený	Phase I Study of Eltrombopag for Promoting Thrombopoiesis After Total Body Irradiation	Trombocytopenie Akutní nemoc z ozáření	Eltrombopag	USA
7.	Dokončený	A Clinical Trial to Evaluate Safety, Tolerability and Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Characteristics of KMRC011	Akutní nemoc z ozáření	KMRC011, Placebo	Jižní Korea
8.	Dosud nábor	Open-label Phase I Study for PEP or Treatment of HS-ARS PLX-R18 for the Post-Exposure Prevention (PEP) or Treatment of Hematopoietic Syndrome of Acute Radiation Syndrome (HS-ARS)	Dřeňová forma ANO	PLX-R18	Izrael

Jako druhá databáze byl vybrán PubMed <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> (databáze 2), který posloužil k dodatečnému dohledání údajů k vybraným studiím. Pubmed je databáze, ve které jsou k nalezení citace a abstrakty k biomedicínským článkům většinou v anglickém jazyce. Její správa také náleží NLM a NIH. V této databázi byly vyhledány především doplňující odborné články, které popisovaly složení léčebné látky a dále např. efektivitu, kterou prokázaly v experimentálních zvířecích studiích. Použitá klíčová slova byly následující: acute radiation syndrome + vybraná léčebná látka – HemaMax, rHuIL-12, RadProtect, CCM-Ami, BIO 300, Eltrombopag, KMRC011 a PLX-R18. Výsledky pokročilého vyhledávání jsou popsány na obrázku č. 9.



**Obrázek č. 9 – Flowchart vyhledávání v databáze 2.**

Celkově bylo vyhledáno 15 studií, z nichž 1 byla odpovídající klinické studii HemaMaxu, dalších 7 bylo ve formátu přiložených publikací ke klinickým studiím, proto opětovně nebyly zahrnuty. Mezi nevyhovující studie se zařadily články, jejichž primární téma nebylo spjato se studii z tabulky č. 1 a již dříve byly vyhledány k zpracování teoretické části práce. Výběr dalších publikací je dále popsán na obrázku č. 8.

## 5.2 VÝSLEDKY – SOUČASNÉ TERAPEUTICKÉ MOŽNOSTI

### 5.2.1 HemaMax (rHuIL-12)

HemaMax je léčivý přípravek rekombinantního lidského interleukinu-12 (rHuIL-12), který reguluje hematopoézu a buněčnou imunitu. Interleukin-12 (IL-12) je heterodimerní cytokin s podjednotkami p40 a p35, který má nezaměnitelnou úlohu v imunitním systému (Gokhale et al., 2014). Charakteristickým znakem IL-12 v imunitě je jeho schopnost stimulovat produkci interferonu gama (IFN- $\gamma$ ) z přirozeně zabíječských buněk, makrofágů a T buněk. Několik *in vitro* studií prováděných v polovině devadesátých let dále uvádí, že IL-12 společně s jinými cytokiny je schopen stimulovat krvetvorbu.

Dřívějším prototypem HemaMaxu, u kterého se zkoumaly radioprotektivní vlastnosti po i.v. podání, byl rekombinantní myší interleukin-12, zvaný m-HemaMax. Studie s tímto prototypem přinesly pozitivní výsledky v podobě obnovení počtu buněk periferní krve a zvýšení přežití u ozářených myší, a to při podání jedné nízké dávky této látky, buď 24 hodin před, nebo do 1 hodiny po ozáření. Celkově tato data naznačila, že aktivita m-HemaMaxu u těchto zvířecích modelu byla zahájena na úrovni prvotních buněk, pravděpodobně hematopoetických a nehematopoetických kmenových buněk, které se nacházejí v kompartmentu kostní dřeně. Aktivace těchto buněk vedla k regeneraci kompartmentu kostní dřeně po radioablacii nebo radiosupresi (Basile et al., 2012).

V současné době se rHuIL-12 vyvíjí jako radioprotektivum vůči HP-ANO a také k adjuvantní léčbě onkologických pacientů podstupujících chemoterapií, u nichž by mohl poskytnout hematopoetické a imunoterapeutické benefity (Gokhale et al., 2014). K tomuto přípravku jsou aktuálně k dispozici 2 klinické studie, které jsou popsány v následujícím textu.

#### 1. Safety and tolerability of HemaMax as radiation countermeasure

První klinická studie HemaMaxu probíhala od srpna do listopadu roku 2012 a prováděla ji americká společnost Neumedicines Inc. ve státě Wisconsin, USA. V klinické databázi je pod označením jako NCT02343133. Snahou této studie bylo u zdravých jedinců demonstrovat bezpečnost rHuIL-12 podávané v nízkých jednorázových dávkách. Tato dávka by následně mohla být vhodná k použití jako lékařské protipatření u osob vystavených letálnímu záření a jako imunomodulační činidlo. Studie je navržena tak, aby bylo možné vyhodnotit bezpečnost, farmakokinetiku a farmakodynamiku přípravku HemaMax u zdravých mužů a žen. Podrobnější popis výběru dobrovolníků je uveden v tabulce č. 1.

**Metody:** Studie č. 1 zahrnovala jednu fázi, která se skládala ze dvou placebem kontrolovaných, dvojitě zaslepených studií. Počáteční fáze studie byla zaměřena na eskalaci dávky u člověka a randomizovala subjekty, buď k podání jedné subkutánní injekce placebo nebo rHuIL-12 v dávkách 2, 5, 10 a 20 µg. Do této eskalační fáze bylo zařazeno třicet dva subjektů: Prvních 21 subjektů bylo randomizováno na rHuIL-12 (4 dávky po 2, 5, 10, 12 a 15 µg; 1 dávka po 20 µg), dalších 11 subjektů bylo randomizováno na placebo (2 dávky po 2, 5, 10, 12 a 15 µg; 1 dávka po 20 µg). Při dávce 20 µg byla zjištěna toxicita rHuIL-12, a proto byla dávka snížena na 15 µg a poté na 12 µg. Tuto část studie dokončilo všech 32 subjektů. Navazující fáze Ib randomizovala subjekty na nejvyšší bezpečnou a dobře tolerovanou dávku 12 µg. Do expanzní studie bylo zařazeno šedesát subjektů: 48 „aktivních“ a 12 placebo.

**Výsledek:** V obou fázích byly nejčastějšími nežádoucími účinky souvisejícími s rHuIL-12 bolesti hlavy, závratě a zimnice. Nebyla pozorována žádná imunitní odpověď. Eliminace rHuIL-12 byla dvoufázová, což naznačuje významnou distribuci do extravaskulárních prostorů. rHuIL-12 spustil přechodné změny neutrofilů, krevních destiček, retikulocytů, lymfocytů, přirozeně zabíječských buněk a CD34<sup>+</sup> hematopoetických progenitorových buněk a vyvolal zvýšení chemokinů CXCL10 a IFN- $\gamma$ .

**Závěr:** Klinický výzkum na dobrovolnicích potvrdil, že jedna nízká dávka rHuIL-12 podaná subkutánně, může vyvolat hematologické a imunitně zprostředkované účinky bez zbytečné toxicity. Bezpečné a účinné hematopoetické / imunologické účinky vyvolané nízkou dávkou rHuIL-12 podpořily vývoj této látky jako radiačního lékařského protipatření i jako adjuvantní imunoterapie rakoviny (Gokhale et al., 2014)

## **2. Safety study of HemaMax (rHuIL-12) to treat acute radiation syndrome**

Tato studie č. 2 je druhou fází studie č. 1, kterou opět prováděla americká společnost Neumedicines Inc. V databázi 1 je pod označením jako NCT01742221. Výzkum byl zahájen v lednu roku 2015 a skončil v dubnu následujícího roku. Na rozdíl od fáze I, tato studie probíhala na více institucích nacházejících se v USA, včetně výše zmíněného Winsconsinu. Cílem této klinické studie bylo opět potvrdit účinnost, bezpečnost a efektivitu HemaMaxu pro léčbu akutního syndromu z ozáření při podávání jedné 12 µg subkutánní dávky. V studii bylo zahrnuto 200 zdravých dobrovolníků. Kritéria pro zařazení do výzkumů byly, s výjimkou BMI indexu a maximálního možného věku, zcela totožné jako v první studii (tabulka č. 2) (Siebers, 2015). Výsledky, této rozsáhle studie, doposud nebyly publikovány.



Tabulka č. 2 – Studie č. 1.

<b>Nemoc</b>	Dřeňový syndrom ANO
<b>Počet účastníků</b>	60
<b>Věk</b>	18 až 45 let
<b>Pohlaví</b>	Muži i ženy
<b>Primární účel</b>	Léčebný
<b>Léčebná látka</b>	HemaMax / placebo
<b>Kritéria pro zařazení</b>	<p>BMI Index <math>\geq 19</math> a <math>\leq 35</math> kg / m<sup>2</sup></p> <p>Normální elektrokardiogram (EKG), vitální funkce a výsledky laboratorních testů</p> <p>Používání účinné kontracepce a abstinence pohlavního styku</p> <p>Negativní těhotenský test a drogový screening</p>
<b>Kritéria pro vyřazení</b>	<p>Klinicky významné renální, jaterní, plicní, kardiovaskulární, cerebrovaskulárních, gastro-intestinální, metabolické, hematologické, endokrinní, urologické, imunologické, neurologické nebo psychiatrické poruchy nebo onemocnění pojivové tkáně</p> <p>Pozitivní HIV test, hepatitida B, hepatitida C, tuberkulóza</p> <p>Závislost na drogách nebo alkoholu</p> <p>Klinicky významné alergie jakéhokoliv druhu</p> <p>Předchozí užívání IL-12 nebo HemaMax</p> <p>Použití jakýchkoliv schválených nebo zkoumaných biologických látek, očkování jakéhokoliv druhu za poslední 3 měsíce</p>

### 5.2.2 RadProtect®

RadProtect (CCM-Ami) je látka složená z nekompletních micel PEG a polyglutamové kyseliny, a prostřednictvím železnatých iontů je do této struktury vázán amifostin. Micelové nanočástice mohou zajistit radiační ochranu tím, že uvolní cytoprotektivní léčivo amifostin (Anselmo a Mitragotri, 2016). Uvolnění amifostinu do krevního oběhu dojde při chelataci transferinu a dalších příbuzných proteinů s železnatým iontem (Original BioMedicals Co. Ltd., 2015). Následný radioprotekční mechanismus CCM-Ami je založen na působení aktivní složky amifostinu, která chrání zralé a primární krevetvorné buňky před radiační toxicitou vzniknutou působením volných kyslíkových radikálů. Další výhodou této látky je, že reaguje na místní biologické podněty a až v nich uvolňuje své terapeutické účinky (Chen et al.; 2015).

Preklinická studie této látky byla prováděna na samcích myši, kterým bylo i.v. injikováno 45 mg / kg CCM-Ami nebo stejného množství amifostinu, a to 90 minut před TBI dávkou 7,2 – 8,5 Gy ze <sup>60</sup>Co zdroje. Výsledky ukázaly, že léčba CCM-Ami zlepšila míru přežití a střední dobu přežití v porovnání se stejnou dávkou amifostinu. Skupina, které byla podávána CCM-Ami, vykázala významně zvýšené přežití ve srovnání se skupinou léčenou samostatným amifostinem při dávce záření 7,2 Gy (86 % s CCM-Ami vs. 0 % s amifostinem), a ve srovnání s ozářenou myši bez podání léčebné látky při dávce záření 8,5 Gy (80 % s CCM-Ami vs. 0 % s kontrolou) (Chen et al.; 2015).

### 3. A Study to Evaluate the Safety and Pharmacokinetics of RadProtect® in Healthy Volunteers

Za tuto klinickou studii byla zodpovědná společnost Original BioMedicals Co. Ltd. a byla provedena v USA ve státě Maryland. Tato studie je v databázi 1 označená identifikátorem NCT02587442. Studie byla zahájena v říjnu 2015 a ukončena v březnu v roce 2016. Tato studie měla za cíl vyhodnotit RadProtect® při postupných, stupňujících se úrovních dávky. Po podání léku byly subjekty studie sledovány v průběhu 24 hodin – hospitalizace byla načasovaná dle poslední injekce léčebné látky. Následně se všichni jedinci museli vrátit do nemocnice ke sledování na 7 + 2 dny po aplikaci. Dále bylo nutné provést telefonické visity ve 3. den, 14. den + 2. den a 28. den + 2 dny poté.

**Metody:** Jednalo se o otevřenou studii, která sestávala z I. fáze. Tato studie nebyla randomizována a měla postupnou kohortu. Zvyšování dávek bylo navrženo tak, aby dostatečně posloužily k vyhodnocení bezpečnosti a snášenlivosti přípravku RadProtect® u zdravých dobrovolníků.

**Výsledky:** Primární výsledky klinické studie měly vytvořit profil bezpečnosti a snášenlivosti včetně limitní dávky toxicity po i.v. aplikaci RadProtect® v časovém rámci do 28 dnů. Sekundární výsledky měly za cíl určit farmakokinetické parametry této látky, pomocí analýzy séra u testovaných osob, kde bylo důležité zjistit volný WR-1065 v různých časových bodech 24 hodin po podání dávky.

**Závěr:** Stav této studie je neznámý. Studie číslo 3 měla za cíl vyhodnotit celkovou bezpečnost přípravku RadProtect® u zdravých osob (Original BioMedicals Co. Ltd., 2015). Výsledky a podrobnosti této studie nejsou k dispozici. Příložená publikace v databázi 1 byla využita k popsání preklinické studie na zvířecích modelech. Při dohledávání v databázi 2, byla nalezená shrnující rešerše o nanočásticích, ze které byl také čerpán úvod k této látce.

**Tabulka č. 3 – Studie č. 3.**

<b>Nemoc</b>	Akutní nemoc z ozáření
<b>Počet účastníků</b>	27
<b>Věk</b>	18 až 64 let
<b>Pohlaví</b>	Muži i ženy
<b>Primární účel</b>	Preventivní
<b>Léčebná látka</b>	RadProtect®
<b>Kritéria pro zařazení</b>	<p>Normální krevní tlak (120 – 140 / 60 – 80 mmHg)</p> <p>Index tělesné hmotnosti (BMI) 18 – 30 kg / m<sup>2</sup></p> <p>Používání vhodné antikoncepci během screeningu, během užívání hodnoceného léčiva a po dobu 60 dnů po ukončení léčby; negativní těhotenský test</p> <p>Fyziologické vyšetření a laboratorní hodnoty v normálních mezích</p> <p>Schopnost porozumět a dokončit telefonické návštěvy, screening a návštěvy na místě a dodržovat plán dávkování a návštěvy</p> <p>Souhlas s neužíváním neautorizovaných léků / doplňků</p> <p>Neúčastnit se v jakékoli jiné klinické studie nebo experimentální léčby v průběhu hodnocení této studie</p>

<p><b>Kritéria pro vyřazení</b></p>	<p>Alergická reakce nebo citlivost na kyselinu glutamátovou, PEG nebo jakoukoli složku produktu zkoušeného výrobku</p> <p>Konzumace více než 5 alkoholických nápojů týdně</p> <p>Těhotenství, kojení</p> <p>Hladinu v krvi / moči mimo normální rozmezí parametrů (jaterní, ledvinové, hematologické, lipidové nebo koagulační)</p> <p>Užívání hormonální substituční terapii za poslední tři měsíce</p> <p>Účast v jakékoli jiné klinické studii nebo experimentální léčbě za poslední tři měsíce</p> <p>Diabetes mellitus (1. a 2. typu) / jiné endokrinní poruchy, hypertenze, hypotenze, systolický krevní tlak pod 80 mmHg, předchozí cerebrovaskulární příhody nebo záchvatové poruchy, kardiovaskulární, jaterní nebo ledvinové onemocnění, rakovina, hematologická porucha, tromboembolická nemoc nebo infekce HIV</p>
-------------------------------------	--

### 5.2.3 BIO 300

BIO 300 je léčivá látka založená na molekule genisteinu – což je přirozený isoflavonoid, izolovaný ze sóji. Molekulární struktura genisteinu je podobná estrogeneru, a proto je také znám jako fytoestrogen. Jelikož má genistein estrogenní aktivitu, tak se dokáže vázat na tři estrogenové receptory (ER): ER  $\alpha$ , ER $\beta$  a ER spojený s G-proteinem (GPER1). ER $\alpha$  a ER $\beta$  jsou antagonistické; ER $\alpha$  je zodpovědný za buněčný růst a diferenciaci, zatímco ER $\beta$  částečně funguje jako represor buněčného růstu. GPER1 zprostředkovává signální transdukci v reakci na estrogenní signál.

Účinnost genisteinu jako radioprotektiva byla objevena vědci v Radiobiologickém výzkumném ústavu ozbrojených sil (AFRRI), v Marylandu USA, kde prováděli studium na hlodavčích modelech s akutní nemocí z ozáření. Prokázalo se, že genistein potlačuje úbytek hematopoetických progenitorových buněk po ozáření tak, že zvýší expresi kontrolních bodů buněčného cyklu a enzymů pro opravu DNA. Molekula genisteinu je náročná na výrobu léčiva, protože je prakticky nerozpustná ve většině pomocných látek používaných k tomuto účelu a má velmi špatnou orální biologickou dostupnost. K překonání těchto omezení vyvinula společnost Humanetics Corporation patentovanou formu, která obsahuje syntetické nanočástice genisteinu. Tato genisteinová nanosuspenze byla pojmenována BIO 300. Genistein v BIO 300 byl za mokra nanomletován na jemnou velikost částic, což významně zvýšilo jeho orální biologickou dostupnost a účinnost jako radioprotektiva. Poslední výzkumy se zabývají vývojem BIO 300 jako radioprotektiva, který by byl podáván před radiační expozicí, aby se zabránilo vzniku HP-ANO (Singh a Seed, 2020b).

Americká společnost Humanetics Corporation provedla dvě klinické studie s použitím různých formulací BIO 300. Obě tyto studie byly vyhledány v databázi 1.

#### 4. Safety and Pharmacokinetic Study of BIO 300 Capsules

Klinická studie kapslí BIO 300 započala v červnu 2007 a skončila v září téhož roku. Identifikátor této studie je NCT00504335. Tato klinická studie měla za cíl posoudit bezpečnost a farmakokinetiku tobolek BIO 300 v dávkách, u nichž se předpokládalo, že by mohly mít pro člověka radioprotektivní nebo terapeutické účinky. Očekávalo se, že pro použití BIO 300 bude bezpečná již dávka od 500 mg. Při náboru bylo zařazeno do této studie 24 dobrovolníků, kteří byly rozřazeny do skupin po 6. Podrobnější popis náboru do této studie je k dispozici v tabulce č. 4.

**Metody:** Humanetics Corporation naplánovala provést tuto studii ve fázi I, při které se zjišťovala bezpečnost, snášenlivost a farmakokinetika BIO 300. Podávaly se jednorázové dávky, které se postupně zvyšovaly (500, 1 000, 1 500 a 2 000 mg). První skupina obdržela jednu 500 mg kapsli BIO 300. Farmakokinetický odběr krve byl proveden během prvních 4 dnů v ambulantním prostředí na klinice. Krevní vzorky byly analyzovány na hladiny BIO 300, hematologicky, chemicky, dále se prováděly lipidové profily, fosforové a také faktory srážlivosti a fibrinogenu, stejně jako na pankreatickou lipázu a amylázu. Analýza moči byla k posouzení funkce ledvin a ke clearance kreatininu a clearance BIO 300. U všech subjektů byly sledovány nežádoucí účinky a dle toho byla hodnocena bezpečnost tobolek BIO 300. Pokud po přezkoumání všech bezpečnostních informací nebyly odhaleny žádné klinicky významné negativní nálezy, byla druhá kohorta léčena 1000 mg BIO 300 (dvě 500 mg tobolek) za použití stejného programu farmakokinetického vzorkování. Takový způsob kontroly probíhal i před požitím zbývajících dávek 1 500 mg a 2 000 mg kapsulí BIO 300 u třetí a čtvrté skupiny.

**Výsledky:** Primární výsledek měl dát odpověď na bezpečnost, která byla hodnocená z laboratorních prací a monitorováním nežádoucích účinků. U žen se stanovila doba na 1 měsíc po podání a u mužů byl časový rámec stanoven na 4 měsíce. Sekundární výsledek měl přinést informace o farmakokinetice léčebné látky, jež byla hodnocená analýzou séra pacienta na volný a celkový obsah BIO 300 ve více časových bodech v průběhu 7 dní (Zenk, 2007).

**Závěr:** I když studie probíhala před více než 10 lety, tak v žádné z databází nebyly nalezeny detaily k výsledkům klinické studie.

**Tabulka č. 4 – Studie č. 4.**

<b>Nemoc</b>	Akutní nemoc z ozáření
<b>Počet účastníků</b>	24
<b>Věk</b>	18 až 64 let
<b>Pohlaví</b>	Muži i ženy
<b>Primární účel</b>	Léčebný
<b>Léčebná látka</b>	Kapsle BIO 300

<p><b>Kritéria pro zařazení</b></p>	<p>BMI 18 – 30 kg / m<sup>2</sup></p> <p>Abstinence pohlavního styku nebo používání vhodné kontracepce (ženy 1 týden, muži 4 měsíce po ukončení studie)</p> <p>Negativním těhotenský test a drogový screening</p> <p>Laboratorními hodnoty v normálních mezích</p> <p>Subjekty, musí strávit 10 – 12 hodinový pobyt na klinice s následným denním hodnocením po dobu 7 dní</p> <p>Subjekty, které jsou k dispozici pro následné 14 denní telefonní hovory (ženy) a následné 4 měsíční telefonní hovory (muži)</p> <p>Během hodnocení této studie neužívat neautorizovaných léků/doplňků a neúčastnit se jiné klinické studie nebo experimentální léčbě</p> <p>Dodržování dietního programu s nízkým obsahem isoflavonu</p>
<p><b>Kritéria pro vyřazení</b></p>	<p>Alergická reakce nebo citlivost na sóju, isoflavony nebo jakoukoli složku produktu zkoušeného výrobku</p> <p>Konzumace více než 5 alkoholických nápojů týdně</p> <p>Těhotenství, kojení</p> <p>Hladina v krvi / moči mimo normální rozmezí parametrů (jaterní, ledvinové, hematologické, lipidové nebo koagulační)</p> <p>Užívání hormonální substituční terapii nebo antikoncepčních pilulek za poslední tři měsíce</p> <p>Účast v jakékoli jiné klinické studii nebo experimentální léčbě za poslední 3 měsíce</p> <p>Diabetes mellitus (1. a 2. typu) / jiné endokrinní poruchy, hypertenze, předchozí cerebrovaskulární příhody nebo záchvatové poruchy, kardiovaskulární, jaterní nebo renální choroby, rakovina, hematologické poruchy, tromboembolické nemoci nebo infekce HIV</p>

## 5. BIO 300 Oral Powder Safety and Pharmacokinetics

Do této studie BIO 300 ve formě orálního prášku (NCT04650555) stále probíhá nábor, který začal 4. prosince 2020. V klinické studii je momentálně zahrnuto 46 dobrovolníků (tabulka č. 5) a předpokládaný konec je naplánován na červenec roku 2021. Tato studie je otevřená. Zdravým dobrovolníkům se bude podávat jednorázová vzestupná dávka a následně bude provedena studie s více jednorázovými dávkami k vyhodnocení bezpečnosti a farmakokinetiky perorálního prášku BIO 300.

**Metoda:** V této experimentální studii se bude 1. kohortě podávat jednorázová dávka 500 mg BIO 300 orálního prášku. Pokud dávka v první kohortě splní požadovaná kritéria a nezpůsobí přílišnou toxicitu organismu, tak u druhé kohorty se podá jednorázová dávka s gramáží 1 000 mg, která bude mít vliv na to, zda dojde ke zvýšení dávky na 2000 mg u třetí kohorty, za splnění stejných podmínek jako u počáteční kohorty. Na základě analýzy bezpečnostních a farmakokinetických profilů z kohort 1 – 3 se stanoví jednotná dávka pro 4. kohortu. Poslední skupině se stanoví nejvyšší nebo maximálně tolerovaná dávka z čtyř předešlých studií a bude jim denně podávána tato stanovená dávka po dobu 6 po sobě následujících dní.

**Výsledky:** Mezi primární body tohoto výzkumu patří zjištění nežádoucích účinků související s perorálním práškem BIO 300, zaznamenání změn na EKG, změny v hodnotách laboratorních analýz a farmakokinetika orálního prášku BIO. Sekundárním výsledkem studie bude farmakodynamika perorálního prášku BIO 300 – jeho genová exprese (Humanetics Corporation, 2020).

**Závěr:** Tato studie stále probíhá a její výsledky by mohly být k dispozici po jejím ukončení v červenci 2021.

Tabulka č. 5 – Studie č. 5.

<b>Nemoc</b>	Akutní nemoc z ozáření
<b>Počet účastníků klinické studie</b>	46
<b>Věk</b>	18 až 64 let
<b>Pohlaví</b>	Muži a ženy
<b>Primární účel</b>	Prevence
<b>Léčebná látka</b>	BIO 300 orální prášek



<p><b>Kritéria pro zařazení</b></p>	<p>Nekuřáctví</p> <p>BMI Index 18 – 32 kg / m<sup>2</sup></p> <p>Žádné užívání léků na předpis nebo volně prodejných léčiv (včetně doplňků stravy a bylinných doplňků) po dobu 7 dnů před první dávkou studovaného léčiva a žádné užívání během účasti na studii</p> <p>Krevní obraz, funkce jater a ledvin v kontrolovaném rozmezí</p> <p>Abstinence pohlavního styku nebo používání vhodné kontracepce po dobu 7 dnů po poslední dávce</p> <p>Schopnost číst a poskytovat písemný informovaný souhlas</p> <p>Žádné klinicky významné abnormality v anamnéze, vitální funkci, EKG, klinických laboratorních testech a při fyzickém vyšetření</p>
<p><b>Kritéria pro vyřazení</b></p>	<p>Významná ztráta hmotnosti za předchozí 4 týdny</p> <p>Osoby trpící srdečními poruchami, periferní neuropatie, poruchy imunodeficience</p> <p>Srdeční příhoda (infarkt) za posledních 6 měsíců, hypertenze, arytmie, nestabilní angina pectoris, porucha srdečních chlopní, fibrilace síní</p> <p>Užívání návykových látek, neschopnost zdržet se konzumace alkoholu po dobu 48 hodin před 1. dnem a po celou dobu studie a pozitivní drogový screening, pozitivní alkoholový test 1. den před podáním testovaného léčiva</p> <p>Pozitivní HIV test, hepatitida B, hepatitida C, tuberkulóza</p> <p>Těhotenství, kojení</p> <p>Vegani a vegetariáni konzumující sóju / sójové výrobky</p> <p>Předchozí bariatrická chirurgie, gastrektomie, intestinální resekce nebo darování krve nebo plazmy</p> <p>Neschopnost polykat práškové léky zapíjené vodou</p> <p>Historie citlivosti na heparin, trombocytopenie vyvolaná heparinem</p>

#### **5.2.4 Eltrombopag**

Eltrombopag je syntetický nepeptidový agonista receptoru trombopoetinu (TPO), který zvyšuje počet krevních destiček. U pacientů podstupujících transplantaci kmenových buněk se ve většině případů vyskytuje významná trombocytopenie. Příkladem jsou onkologičtí pacienti, kteří podstupují chemoterapii o vysokých dávkách nebo kombinaci chemoterapie s TBI. V těchto případech trombocytopenie zvyšuje riziko krvácení, a proto je důležité podávat transfuze krevních destiček. U mnohých pacientů organismus na tento „zásah“ nemusí dobře reagovat. Vzhledem k této komplikaci v posledních letech významně vzrostl vývoj trombopoetických látek pro léčbu trombocytopenie. Zpočátku samostatný rekombinantní lidský trombopoetin a jeho PEG deriváty byly považovány za slibné a klinicky užitečné látky. Později se však ukázalo, že v důsledku vývoje protilátek v organismu docházelo k neutralizaci endogenního TPO a k výskytu přetrvávajících epizodních trombocytopenií. V souvislosti s touto situací se začaly vyvíjet další agonisté TPO druhé generace s jedinečnými farmakologickými vlastnostmi.

V roce 2008 byl schválen společností FDA eltrombopag jako perorální prostředek k léčbě chronické idiopatické trombocytopenické purpury a k trombocytopenii u chronické hepatitidy C. V návaznosti na schválení této látky k těmto onemocněním, vznikla otázka, zda by se mohl tento lék využít i pro zmírnění radiačního poškození kostní dřeně. Za tímto účelem byla navrhnutá klinická studie (Liesveld et al. 2013).

#### **6. Phase I Study of Eltrombopag for Promoting Thrombopoiesis After Total Body Irradiation**

Klinická studie agonisty trombopoetického receptoru byla prováděná pod vedením profesorky Jane Liesveld z Rochesterské univerzity v americkém státě New York. V databázi 1 je uveden pod identifikátorem NCT00903929. Testování bylo zahájeno v roce 2009 a pokračovalo až do roku 2015. Tato studie byla zaměřena na pacienty se sníženým počtem krevních destiček, kteří podstoupili TBI s následnou transplantací kmenových buněk. Nízká hladina trombocytů může způsobit krvácení a infekce, ale nebyl potvrzen žádný lék, který by tento problém účinně řešil. Cílem této studie s léčivem eltrombopag bylo zjistit jeho bezpečnost a vedlejší účinky u těchto pacientů a zda urychluje regeneraci krevních destiček.

**Metody:** Tento typ otevřené studie byl prováděn ve fázi I. K zjištění bezpečnosti a farmakokinetiky léku eltrombopag byly stanovené 4 dávky: 75, 150, 225, a 300 mg. Léčivo se začalo podávat denně po dobu 27 dnů, a to 24 – 48 h po transplantaci kmenových buněk.

Nejdříve se první skupině (n = 3) podávala nejnižší stanovená dávka 75 mg. Pokud se u žádného z pacientů neobjevily nežádoucí účinky, mohla se dávka eskalovat, a poté podávat dalším třem lidem zúčastněným ve studii. V případě, že by se vyjevila dávkou limitovaná toxicita u dvou ze šesti lidí, tak poté by tato dávka byla stanovená jako maximální tolerovaná dávka. Tento princip byl ustanoven pro všechny 4 dávky. Eskalace dávky v této studii byla založena na metodě 3 + 3 u všech pasáží (Liesveld, 2009).

**Výsledky:** Primárním výsledkem této klinické studie bylo určení maximální tolerované dávky léku, na který měla studie odpovědět v rozmezí 1,5 let od začátku testování. U žádných dávkovacích hladin nebyla zaznamenaná toxicita limitující dávkou. U většiny pacientů byl eltrombopag dobře tolerován. U některých pacientů se objevily nežádoucí účinky v souvislosti s předešlou transplantací kmenových buněk. V protokolu sekundárních výsledků bylo stanovení mediánu štěpu krevních destiček a mediánu počtu transfúzí trombocytů. Medián štěpu byl 16 dnů a medián počtu transfúzí byl 4 u většiny pacientů, u jednoho pacienta 7 transfúzí.

**Závěr:** V této klinické studii byla prokázána dobrá tolerance léčiva eltrombopag, který byl podáván buď 24, nebo 48 hodin po transplantaci kmenových buněk po dobu 27 dní. I při nejvyšší stanovené hladině dávky (300 mg) nebyla stanovena maximální tolerovaná dávka. Určitá změna saturačních hodnot byla pozorována při denní dávce nad 225 mg, která by mohla být postačující pro podpůrnou léčbu po transplantaci kmenových buněk bez přídavné toxicity. K potvrzení bezpečnosti a k stanovení účinků na štep krevních destiček je žádoucí provést další fázi studie s vyššími hodnotami stanovených dávek (Liesveld et al. 2013).

**Tabulka č. 6 – Studie č. 6.**

<b>Nemoc</b>	Trombocytopenie, Akutní nemoc z ozáření
<b>Počet účastníků</b>	19
<b>Věk</b>	18 let a více
<b>Pohlaví</b>	Muži i ženy
<b>Primární účel</b>	Léčebný
<b>Léčebná látka</b>	Eltrombopag

<p><b>Kritéria pro zařazení</b></p>	<p>Písemný informovaný souhlas s klinickým hodnocením</p> <p>Podstoupení autologní nebo alogenní transplantace kmenových buněk od sourozence, příbuzného dárce nebo nepříbuzného dárce po TBI 4 Gy</p> <p>Transplantace prováděné u těchto zdravotních stavů: akutní myeloidní leukémie, akutní lymfoblastická leukémie, chronická myeloidní leukémie (chronická, zrychlená nebo blastická fáze), myelodysplastický syndrom, myeloproliferativní onemocnění, Hodgkinů / Non-Hodgkinů lymfom, mnohočetný myelom, chronická lymfocytární leukémie</p> <p>Jiné malignity nebo onemocnění kostní dřeně (např. aplastická anémie)</p> <p>Pacienti s leukemickým onemocněním v remisi po dobu nejméně 12 měsíců.</p> <p>Pacienti musí splňovat všechna další předtransplantační kritéria transplantačního centra, včetně přijatelných testů funkce srdce, jater, ledvin a plic</p> <p>Karnofského skóre <math>\geq 70</math> %.</p>
<p><b>Kritéria pro vyřazení</b></p>	<p>Celotělové ozáření dávkou nižší než 4 Gy</p> <p>Transplantace pupečnickové krve</p> <p>HIV infekce</p> <p>Těhotenství, kojení</p> <p>Jaterní testy vyšší než dvojnásobek horní hranice normálu, pokud abnormální bilirubin není způsoben Gilbertovým syndromem</p> <p>Aktivní infekce vyžadující antibiotickou léčbu</p> <p>Souběžné zařazení do jiné terapeutické klinické studie</p> <p>Předchozí obdržení léčiva eltrombopag</p> <p>Pacienti se středně závažným nebo závažným onemocněním jater</p> <p>Pacienti s vysokým rizikem tromboembolie na základě genetických syndromů nebo tromboembolické choroby v minulosti za posledních 6 měsíců</p>

### 5.2.5 KMRC011

KMRC011 je označení pro nově syntetizovaný Toll like receptor (TLR) 5 agonistu (Kim et al., 2019). TLRs – „receptory podobné genu *Toll*“, jsou molekuly neadaptivní části imunitního systému. Tyto receptory byly prvně objeveny u mušek octomilek. V návaznosti na tento objev začali vědci zkoumat, zda tyto receptorové molekuly mají i savci. Po detailních několikaletých výzkumech se zjistilo deset sekvenčně podobných TLRs u myši a člověka, které byly pojmenovány TLR1 až TLR10. Dále se ukázalo, že některé z těchto molekul se společně s některými extracelulárními i cytoplazmatickými proteiny seskupují do složitějších komplexů a slouží jako vlastní receptory vůči řadě mikrobiálních produktů (Hořejší, 2003).

KMRC011 je částečně modifikovaná verze Entolimodu (CBLB502), který je derivován z proteinu bičíku *Salmonella enterica*. Entolimod je léčivo, které se váže na TLR a aktivuje signalizaci nukleárního faktoru- $\kappa$ B (Burdelya et al., 2008). K výrobě KMRC011 se z entolimodu selektivně vyřízne 34 aminokyselinových zbytků pomocí specifické ubikvitinové proteázy, aby tyto zbytky nezpůsobily nežádoucí imunitní odpověď. Účinnost nově syntetizované látky byla zkoumána na myších modelech. Z 30 denní studie vyplynulo, že myši, kterým byla aplikována látka KMRC011, a byli TBI dávkou 11 Gy nebo 12 Gy, měli významně lepší míru přežití ve srovnání s kontrolní skupinou. Radioprotektivita závisela na výši dávky IZ a opakovaném použití této látky. V 5 denní krátkodobé studii se prováděla léčba KMRC011, která stimulovala buněčnou proliferaci a měla antiapoptotický účinek na buňky. Dále KMRC011 zvýšil v tenkém střevě, letálně ozářených myši, expresi genů ve spojení s opravou DNA (Kim et al., 2019).

### 7. A Clinical Trial to Evaluate Safety, Tolerability and Pharmacokinetic / Pharmacodynamic Characteristics of KMRC011

Klinická studie s novou syntetickou látkou KMRC011 (NCT00903929) byla zahájena v červnu roku 2018 a ukončena v únoru 2021. Za studii je zodpovědná jihokorejská společnost Intron Biotechnology, Inc. Do testování bylo zahrnuto 26 účastníků, kteří splnili kritéria zařazení (tabulka č. 6). Těmto zdravým dobrovolníkům se injekčně podávala látka KMRC011, u které se sledovala její bezpečnost, snášenlivost, farmakokinetika a farmakodynamika.

**Metody:** Studie zahrnovala fázi I, která byla slepá, randomizovaná a placebem kontrolovaná. K hodnocení bezpečnosti a dalších vlastností léku se využil princip eskalace dávky, která byla aplikovaná intramuskulárně. Dávky KMRC011 kontrolované placebem byly podávány v pěti kohortách: 5  $\mu$ g, 10  $\mu$ g, 15  $\mu$ g, 20  $\mu$ g a 25  $\mu$ g.

**Výsledky:** Primární výsledky studie sledovaly několik vztyčných bodů. Mezi ně patřily nežádoucí reakce na lék, klinicky významné změny v hematologických testech a chemických testech krve, změny ve výsledku testu moči a koagulace krve, významné změny v EKG a vitálních funkcích, klinicky významnou abnormalitu, maximální koncentraci v séru a čas maximální koncentrace v séru a mnoho dalších údajů o krevních hodnotách. Sekundární výsledek sledoval maximální toleranci podané dávky (Kim, 2018)

**Závěr:** V databázi 1 nebyly publikovány žádné přidružené publikace o této studii, a proto nelze napsat vyslovený závěr. Databáze 2 poskytla 2 studie, z nichž jen jedna byla vyhovující, a posloužila k zpracování a doplnění informací k úvodu této podkapitoly.

Tabulka č. 7 – Studie č. 7.

<b>Nemoc</b>	Akutní nemoc z ozáření
<b>Počet účastníků klinické studie</b>	26
<b>Věk</b>	19 až 55 let
<b>Pohlaví</b>	Muži
<b>Primární účel</b>	Léčebný
<b>Léčebná látka</b>	KMRC011, Placebo
<b>Kritéria pro zařazení</b>	Index BMI 18,5 – 27 kg / m <sup>2</sup> Schopnost a ochota účastnit se klinického hodnocení Dobrovolný souhlas s klinickým hodnocením po vyslechnutí a úplném pochopení podrobného vysvětlení tohoto klinického hodnocení
<b>Kritéria pro vyřazení</b>	Klinicky významné onemocnění nebo anamnéza jater, ledvin, neuropsychiatrie, imunitního systému, dýchacího systému, endokrinního systému, hematologického-onkologického systému, kardiovaskulárního systému atd. Anamnéza hypersenzitivní reakce na složky zkoušeného přípravku nebo jiné klinicky významné hypersenzitivní reakce na léky nebo potraviny, osoby s alergickým onemocněním vyžadující léčbu Infekční onemocnění nebo těžké trauma 21 dnů od data randomizace

Sérové hladiny jaterních testů přesahující při screeningu 1,5 násobku horní hranice referenčního rozmezí

Defekty na EKG, klinicky významný abnormální rytmus při screeningu

Rychlost glomerulární filtrace nižší než 60 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup> vypočtená ze sérového kreatininu při screeningu

Systolický krevní tlak nižší než 100 mmHg nebo vyšší než 150 mmHg, diastolický krevní tlak nižší než 60 mmHg nebo vyšší než 100 mmHg při screeningu

Trombocytopenie nebo koagulopatie, při které se nesmí podávat intramuskulární injekce

Průměrné týdenní pití alkoholu přesahující 140 g týdně

Průměrné denní kouření přesahující 10 ks denně

Požítí léku, který může významně ovlivnit absorpci, distribuci, metabolismus nebo vylučování hodnoceného přípravku do 14 dnů po injekci

V minulosti užívané návykové látky, pozitivní screeningový test moči

Osoba, která obdržela zkoumaný přípravek nebo zkoumaný lék na bioekvivalenci nejméně 90 dní před randomizací

Darování plné krve 60 dnů před randomizací nebo darování krevních složek do 30 dnů

Používání lékařsky neschválené kontracepce

Klinicky významné abnormality z klinických laboratorních testů

### 5.2.6 PLX-R18

PLX-R18 je označení pro přípravek, který je tvořen z velké části placentárními kmenovými buňkami. V studii *in vivo* bylo prokázáno, že tyto buňky dokážou zmírnit letalitu způsobenou zářením, a že při selhávání kostní dřeně jsou schopny zvýšit počet krvetvorných buněk. Zásadní výhodou placentárních buněk je možnost jejich aplikace bez shody s lidským hlavním histokompatibilním komplexem, který by za stejných okolností u jiného typu buněk způsobil imunitní odpověď.

Předklinické studie prováděné na hlodavčích modelech dopomohly k popsání mechanismu účinku placentární buněčné terapie s PLX-R18 a jeho prototypem PLX-RAD. Mechanismus spočívá v tom, že pokud se tyto buňky vyskytnou v nerovnovázném hematopoetickém prostředí, začnou vylučovat více hematopoetických faktorů, např. cytokinů či růstových faktorů, aby zlepšily rekonstrukci tohoto systému.

PLX-R18 je v současné době stále v koncepci preklinického a klinického testování. Studie se zaměřují na terapii, která by mohla řešit potencionální hematologická onemocnění, například aplastickou anémii, myelodysplastický syndrom, reakci štěpu proti hostiteli a v neposlední řadě k léčbě hematopoetického syndromu akutní nemoci z ozáření a mnoho dalších indikací (Sher a Ofir, 2018).

### 8. Open-label Phase I Study for PEP or Treatment of HS-ARS PLX-R18 for the Post-Exposure Prevention (PEP) or Treatment of Hematopoietic Syndrome of Acute Radiation Syndrome (HS-ARS)

Tato klinická studie začala v lednu roku 2021 a předpokládaný konec je určen na prosinec téhož roku. V databázi jedna je tato klinická studie uvedené pod identifikátorem NCT03585803. Studie je v počátečním procesu a momentální počet zařazených účastníků je 27 (tabulka č. 8). Účelem tohoto bádání je vyhodnotit u subjektů vystavených ionizujícímu záření, u kterých by hrozil vznik dřeňové formy ANO, bezpečnost intramuskulárního podání přípravku PLX-R18. Tento typ studie je zaměřen na buněčnou léčbu, která by mohla být využita u pacientů, u nichž vzniklo radiační poškození kostní dřeně.

**Metody:** Jak již z názvu vyplývá, studie je otevřená a zahrnuje I fázi. Každý ze zdravých dobrovolníků obdrží dvě injekční aplikace PLX-R18 mezi nimiž bude 4 denní odstup. Jedna dávka tohoto léčiva bude obsahovat 4 miliony buněk/ kg. Maximální možná stanovená dávka je 400 milionů buněk/kg. První aplikace by měla proběhnout 48 hodin po expozici nebo nejpozději do čtyř dnů po expozici. Druhá dávka by měla být podaná čtyři dny po prvním



podávání. Všichni zúčastnění budou minimálně 24 hodin po aplikaci hospitalizováni a monitorováni po každém podání léčebné látky. K minimalizaci rizik se tyto subjekty rozdělí do tří kohort, dle následujícího designu. V kohortě 1 bude zahrnuto 9 subjektů, kteří budou léčeni co nejdříve po podání. Kohorta 2 pojme 18 subjektů a ti budou léčeni nejdříve 12 hodin po podání dávky předešlým 9 subjektům. Do poslední kohorty číslo 3 bude zařazeno 33 osob, kterým bude podávána léčba na stejném principu jako v kohortě 2, ale až po ní. Tato studie bude rozvržená do dvou časových období, z nichž budou stanoveny výsledky klinické studie

**Výsledky:** Primárním bodem studie je sledování jakýchkoliv nežádoucích účinků. V časovém období 52. až 260. týdne se bude sledovat celkové přežití pacientů (cca 1x ročně). Sekundární výsledky budou čerpat z výsledku primárních. Zatím je ke sledování nežádoucích účinků stanoveno: zotavení, zaznamenání následku, neustálý průběh vedlejších nežádoucích účinků a celkové přežití subjektů (Pluristem Ltd., 2019).

**Závěr:** Do této studie stále probíhá nábor a její výsledky by mohly být k dispozici po jejím ukončení v prosinci 2021.

**Tabulka č. 8 – Studie č. 8.**

<b>Nemoc</b>	Vystavení ionizujícímu záření
<b>Počet účastníků</b>	27
<b>Věk</b>	18 let a více
<b>Pohlaví</b>	Muži i ženy
<b>Primární účel</b>	Léčebný
<b>Léčebná látka</b>	Buněčná terapie PLX-R18 – placentární kmenové buňky
<b>Kritéria pro zařazení</b>	Vystavení ionizujícímu záření $\geq 1$ Gy při existujícím riziku vzniku HP-ANO Zahájení léčby PLX-R18 do 4 dnů po expozici Podepsaný informovaný souhlas

<b>Kritéria pro vyřazení</b>	<p>Aktivní malignita nebo malignita v anamnéze do 3 let před vyšetřením (výjimka: úspěšně resekovaný bazální buněčný karcinom nebo spinocelulární karcinomu kůže, který se nenachází v místech vpichu)</p> <p>Aktivní nekontrolovaná infekce (např. virová, plísňová nebo bakteriální)</p> <p>Infekce hepatitidou A, B nebo C</p> <p>Těhotenství</p> <p>Přecitlivělost na allogenní stromální buňky, dimethylsulfoxid, lidský sérový albumin nebo hovězí produkty</p> <p>Vysoké riziko rozvoje závažných alergických / hypersenzitivních reakcí</p>
------------------------------	---

## 6 DISKUZE

Akutní nemoc z ozáření začala vstupovat do povědomí odborníků cca počátkem 50. let minulého století po zveřejnění článku od DeCorsey (1948). Dnes je tato problematika více objasněná, ale přeci nějaké patologické mechanismy v biologickém organismu nejsou zcela vysvětleny. Po jaderné havárii v Černobylu, kdy tímto onemocněním bylo zasaženo mnoho pracovníků z bezpečnostních složek a zdravotníků, se potvrdila skutečnost o nedostatečné vědomosti o této chorobě a nepostačující účinné léčbě pro zasažené oběti. Následně po této havárii se vytvářely i jisté spekulace, že syndrom ANO nezahrnuje pouze poškození tří kritických orgánových soustav, ale že je zde možnost systémového zánětlivého propojení celého organismu. K potvrzení této teorie / hypotézy došlo na počátku 21. století po kritické nehodě v Tokaimuře. U obětí, i přes včasný léčebný zásah, došlo ke „zpožděnému“ vyjevení nemoci v podobě systémového selhání orgánových soustav. Tento stav následně dostal svou vlastní definici jako RI-MOF, což je vystupňovaný průběh RI-MODS (Dörr a Meineke, 2011). Mnoho specialistů z radiobiologické sféry zajímalo, co tomuto stavu předchází. Přesné mechanismy jsou stále předmětem výzkumu, ale jistě se ví, že za vypuknutím RI-MOF v biologickém systému jsou zodpovědné komplexní reakce na molekulární úrovni, které jsou úzce spjaty s molekulami a buňkami imunitního systému. Dle publikace Williams a McBride (2011) jsou předpokládány 3 vzájemně propojené dráhy, které vedou k multiorgánové dysfunkci či selhání. Za startovní pozici RI-MOF je považována rozsáhlá buněčná smrt určitého buněčného typu, která může nastat v důsledku zvýšené koncentrace volných radikálů v prostředí, ztrátou kmenových či progenitorových buněk nebo narušení bariérové funkce organismu (Williams a McBride, 2011; Dörr a Meineke, 2011).

Počáteční terapie ANO se vždy zaměřovala na léčbu jedné poškozené soustavy. Již ze začátku bylo známo, že terapie hematopoetického systému je klíčová a zároveň je i v dnešní době zatím považována jako jediná za léčitelnou. Z historických článků popisující management terapie ANO je důležité zmínit, že se řešily následky poškození způsobené IZ. Většinou se zahajovala podpůrná léčba (krevní transfúze, doplnění tekutin / elektrolytů atd.) v kombinaci se symptomatickou léčbou infekcí (antibiotika), která jen na pár hodin někdy i dní prodloužila život pacientů. Kromě toho byla vytvořena specifická preventivní léčba ANO před expozicí, při které se podávaly látky jako glutathien a cystein, a léčba po expozici, která zahrnovala podávání antihistaminik a anti-heparických látek. (Pace, 1952). Samozřejmě tyto způsoby léčby byly nedostačující, a proto v následujících letech započal koloběh preklinických výzkumů na ozářených zvířatech. Díky těmto testům bylo zjištěno, že kromě transplantačních metod se dají

využít i chemické či biologické látky, které v mnohých případech prokázaly nižší úmrtnost výzkumných zvířat (Singh et al., 2015b; 2017a). Následný problém testovaných látek či metod by však mohl nastat při terapii lidských obětí, protože lidský organismus nelze zcela srovnávat se zvířecím. Potřeba najít účinné a univerzální radioprotektory, radiomitigátory či léčebnou strategii, která by se dala použít pro léčbu lidských obětí, vzestoupila v souvislosti s vývojem nukleárních zbraní a zvýšeným rizikem teroristických útoků na civilní obyvatelstvo a působící ozbrojené síly.

Vládní agentura FDA, která sídlí ve Spojených státech amerických, povolila k léčbě dřeňového syndromu celkem 7 léčebných látek z řady radioprotektiv a radiomitigátoru. Tato léčiva stále nenaplnují požadovaný potenciál z hlediska účinnosti, ale se stoupajícím počtem preklinických a klinických studií se zvyšuje pravděpodobnost určení správné modifikace těchto látek. Často se provádí i kombinace s léčivy, které čekají na schválení. Další častou překážkou povolených léčiv je jejich nežádoucí toxicita při vysokých dávkách. Z hlediska protektivity právě tyto vysoké dávky dosahují nejlepší radioprotekční efekt. První povolena a zpočátku vysoce užívána látka byl amifostin, který je v dnešní době na ústupu kvůli vysoké toxicitě, a proto jeho využívání je omezeno jen pro indikace spojené s chemoterapií či radioterapií. I přes to, amifostin stále patří mezi účinné radioprotektivní látky, proto není divu, že jeho potenciál nebyl zcela zahazen. Studie, kterou prováděli Pamjula et al. (2009), potvrdila, že při orálním podávání amifostinu ve formě nanočástice, bylo dosaženo výrazné protekce progenitorových buněk a střevních krypt. Dále se předpokládá, že díky pomalému uvolňování látky v organismu se zvyšuje efektivita léčiva a také snižuje i míra toxicity pro příjemce této látky, ale pro takové tvrzení je potřeba provádět další testování s amifostinovými nanočásticemi (Pamjula et al., 2009). Využívání nanomedicíny nabírá velkého potenciálu a právě její možnosti můžou najít velké uplatnění v oblasti radiobiologie. Jedna z analyzovaných studií v praktické části (studie č. 3) byla zaměřená na aplikaci amifostinu vázaného do nekompletní micely s cílem zlepšení jeho toxicity a biologických vlastností, avšak závěr této studie nebyl zveřejněn (Original BioMedicals Co. Ltd., 2015).

Další klíčové terapeutické strategie spočívají v podávání G-CSF, které se začaly postupně schvalovat od roku 2015. Výhoda těchto látek je, že tyto faktory jsou produkovány i v lidském těle při protizánětlivé reakci organismu vůči patogenům, proto se G-CSF dají považovat jako látky tělu vlastní. Při zánětlivém procesu jejich biologický mechanismus dokáže stimulovat nezralé neutrofile. Kromě G-CSF je schválen i GM-CSF, který má obdobný mechanismus jako G-CSF. Klinické testy těchto faktorů prokázaly mnoho skvělých účinků, ale však opět i zde

při podávání vysokých dávek vykazovaly určitou toxicitu jako je febrilie, hypoxie, spasmus svalů atd. (Singh et al. 2015b, 2017a). V návaznosti na tyto růstové faktory je dobré zmínit i ostatní látky, které ještě nejsou schváleny a jsou ve fázi klinických testů. Na principu růstových faktorů jsou také rekombinantní interleukin-12 (studie č. 1) a Toll like receptor 5 (studie č. 7), který částečně modifikován z rekombinantního proteinu Entolimodu. Obě tyto látky mají pozitivní vliv na imunitní systém a také u nich byl pozorován účinek v podobě buněčné proliferace.

Jedna z prvních léčebných metod ANO zahrnovala především transplantace hematopoetických kmenových buněk. Dříve prováděné transplantace HSC nebyly tak úspěšné, protože se podávaly alogenní buňky, tedy od cizího dárce. Alogenní štěp však u většiny příjemců vyvolal imunitní odpověď v podobě reakce štěpu proti hostiteli a na následky toho pacienti umírali. Dnes, regenerativní medicína pokročila a k transplantaci jsou využívány jak vlastní buňky příjemce – autologní kmenové buňky, tak i alogenní po důkladném vybrání správného dárce. V současné době jsou na velkém vzestupu transplantace mesenchymálních kmenových buněk. MSC prokázaly větší účinnost a minimální odmítnutí štěpu, proto mají široké uplatnění v medicíně. Používání MSC je momentálně zaměřeno na jiné choroby než pro léčbu ANO.

Po shrnutí současných možností terapie ANO se nabízí otázka, zda je k dispozici vhodná terapeutická látka s minimální nebo žádnou toxicitou. Právě na tuto otázku není možné jednoznačně odpovědět, protože ideální radioprotektor k terapii je doposud předmětem výzkumu. Nové možnosti léčby se jako i předešlé spíše zaměřují na HP-ANO, ale již v rámci prevence vůči RI-MOF. Současné klinické studie jsou zaměřené buď přímo na dřeňovou formu ANO (studie č. 1,2 a 8.) nebo na léčbu ANO bez bližší specifikace (studie 3, 4, 5, 6 a 7). Po detailnějším prostudování všech studií však bylo patrné, že i další studie jsou zaměřené na hematopoetické kmenové buňky a u jedné z látek byla pozorována efektivita i pro střevní buňky (studie č. 7) (Kim et al., 2019). Do většiny klinických studií byly zahrnuty zdravé osoby splňující kritéria přijetí dle vybrané studie (tabulky č. 2 – 8). Celkově, na základě vyhledaných klinických studií, v této práci je zaevidováno 6 slibných látek z 8 studií, které se klinicky testovaly nebo se testují. Tyto látky jsou HemaMax (studie č. 1 a 2), RadProtect (studie č. 3), BIO 300 (studie č. 4 a 5), Eltrombopag (studie č. 6), KMRC011 (studie č. 7) a PLX-R18 (studie č. 8). Dle mého úsudku mechanismy účinku těchto zkoumaných látek se můžou v některých případech řadit do skupiny radioprotektiv (studie č. 3, 4, 5), radiomitigátorů (studie č. 6, 8) nebo spadají do obou těchto kategorií (studie č. 1,2, 6). K většině dokončených klinických studií stále nejsou k dispozici finální výsledky (studie č. 2,3,5, 7), ale pár z nich odkazovalo na publikace

preklinických testů na ozařovaných myších, které při podání látek před ozářeními měli nižší míru úmrtnosti a prokázaly svoji efektivitu jako radiačního protektoru. Studie č. 4 a 8 jsou stále v procesu testování, a proto není možné vytvořit předčasné závěry. Studie s látkou HemaMax a Eltrombopag jako jediné měly zveřejněné výsledky první fáze testování, ale přesto nelze s přesností napsat jejich bezpečnost a efektivitu (Gokhale et al., 2014; Liesveld et al., 2013). Léčebná látka HemaMax prokázala svoji účinnost pro léčbu hematopoetického syndromu ANO a dokonce byla stanovena i její maximální tolerovatelná dávka, která následně byla předmětem navazující studie. Druhá fáze testování HemaMaxu měla tuto výslednou dávku opět zhodnotit, ale i po 5 letech od dokončení studie, její závěr není zveřejněn (Siebers, 2015). Eltrombopag se ukázal jako velmi účinná látka pro podporu krevních destiček po transplantaci kmenových buněk. U této látky však nebyla zjištěna její maximální tolerovatelná dávka a účinnost při této dávce, ale i tak je doporučena jako podpůrná léčba. Na závěru studie č. 6 je doporučeno pokračovat v dalším klinickém testování této látky (Liesveld et al. 2013).

Může se zdát, že mnoho léčebných strategií je zaměřeno pouze na jeden sub-syndrom ANO. Je ale důležité připomenout, že hematopoetický systém úzce souvisí s gastrointestinální soustavou, proto i tyto výše zmíněné terapeutické látky by v případě v kombinaci dřeňového a střevního syndromu prokazovaly jisté zlepšení, ale ne v tak vysoké míře. Léčba CNS-ANO je však ta, které se řadí do skupiny nevléčitelných syndromů, protože následky, po ozáření velmi vysokou dávkou, jsou ve většině případů neslučitelné s životem. Pokud jde o opožděné následky ozáření, které se projevují ve formě multiorgánové dysfunkce či selhání, tak i pro takovou situaci se musí efektivní lék teprve vyvinout.

Současné klinické studie nám nabízí množství slibných léčiv. Dle Singh et al. (2015a) je patrné, že mnoho z nich je pod rouškou výzkumů a výše zmíněné jsou jen špička ledovce. Další výzkumy jsou důležité nejen z hlediska případně jaderné události, ale také možnému využívání těchto látek při onkologickém ozařování nádorů, které neničí jen patologickou tkáň, ale i tu zdravou a může navodit kaskádu radiačního poškození. Dalším zajímavým směrem, kterým se výzkumné ústavy mohou vydat, je testování vakcíny jako prevence vůči radiačnímu poškození. V roce 2007, již takový výzkum na zvířatech prováděli Maliev et al., kdy použili radiačně indukované toxiny generované z ozářených tkání a pojmenovali je jako specifické radiační determinanty, které následně u letálně ozářených zvířat vykazovaly rezistenci vůči záření a zvýšenou dobou přežití a míru přežití. Tento způsob prevence ale není tak prozkoumán a sami autoři uvádí důležitost dalších testů a analýz (Maliev et al., 2007).

Dostupné výsledky z klinických testování nových léčivých přípravků mohou přinést v následujících letech nové možnosti terapie. Visí zde však veliká potřeba objasnění nových mechanismů podílejících se na systémovém poškození a až poté je možné představit novou pokrokovou terapii.

## 7 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce měla za cíl v rámci teoretické části shrnout dostupné informace o ANO od prvopočátečního pojetí až po aktuální koncepci této nemoci a z dostupných literárních rešerší vytvořit přehled současné možné terapie. Praktická část byla zaměřena na vyhledání klinických testů v databázi klinických studií a dohledání odborných článků k těmto studiím v další databázi.

Teoretická část práce zahrnuje obecný úvod o biologických účincích ionizujícího záření vedoucího k radiačnímu poškození, na který navazuje souhrnný popis o nemoci z ozáření. Z historického hlediska ANO, byly zásadní informace z událostí atomových výbuchů v Japonsku, Černobylská havárie, nehoda v Tokai-muře a mnoho dalších drobných radiačních nehod, a proto práce také zahrnuje rozsáhlý historický přehled, který začíná objevením IZ a pokračuje vydefinováním časových úseků, v nichž jsou krátce popsány globální historické události, které poskytly badatelům nové znalosti o problematice IZ a o jejích následcích pro živý organismus. Další kapitola byla soustředěna na popis dřevňové, střevní a neurovaskulární formy ANO, kde ke každé z nich je stručná charakteristika, biologický mechanismus, fáze nemoci a celkový průběh, případně je zahrnutý popis průběhu nemoci na zvířatech. Dále je stručně popsán současný koncept ANO, který se začal formovat na počátku tohoto století. Poslední část teorie se věnuje terapií, která by v případě radiačních událostí byla doporučena a využita.

Praktická část byla zaměřena na shrnutí nových léčebných látek vyhledaných pomocí databází. První kapitola v této části je věnována metodice práce, kde je popsán postup vyhledávání a zpracování dostupných dat z vybraných databází. Po metodické části následovalo zpracování léčebných látek z vybraných studií. Každý vybraný léčebný přípravek má krátký literární úvod o složení a biologickém účinku v organismu. Poté je ke každé z těchto látek popsána příslušná klinická studie, jejíž výsledek je odpovědí na druhou rešeršní otázku.

Tato bakalářská práce v rámci zvolené problematiky ANO dosáhla splnění stanovených cílů. Ačkoliv se zdá, že téma akutní nemoci z ozáření není aktuální, tak je nutné si uvědomit hrozbu nově vznikajících nukleárních zbraní a stále častějšího využívání jaderné energie a IZ v medicínském prostředí. V případě vzniku radiačního incidentu jsou stanovené určité protokoly havarijních a léčebných postupů, ale tyto léčebné metody ve spojení s novou koncepcí ANO nejsou zdaleka tak efektivní, jak se ze začátku předpokládalo. K zlepšení této situace je žádoucí, aby potenciální účinné léčebné látky byly i nadále motivem bádání.



## 8 POUŽITÁ LITERATURA

ANSELMO, Aaron C. a Samir MITRAGOTRI, 2016. *Nanoparticles in the clinic* [online]. vol. 1, iss. 1, s. 10-29 [cit. 2021-04-10]. ISSN 2380-6761. Dostupné z: doi:10.1002/btm2.10003

BASILE, Lena A., Dolph ELLEFSON, Zoya GLUZMAN-POLTORAK, et al., 2012. HemaMax™, a Recombinant Human Interleukin-12, Is a Potent Mitigator of Acute Radiation Injury in Mice and Non-Human Primates. *PLoS ONE* [online]. vol. 7, iss. 2 [cit. 2021-04-10]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0030434

BIODEFENSE, Bolder Bio Technology: Advanced Protein Engineering, © 2017. *Applications of Our Proteins Acute Radiation Syndrome* [online]. Boulder, [cit. 2021-04-06]. Dostupné z: <http://www.bolderbio.com/biodefense/>

BURDELYA, L. G., V. I. KRIVOKRYSENKO, T. C. TALLANT, et al., 2008. An Agonist of Toll-Like Receptor 5 Has Radioprotective Activity in Mouse and Primate Models. *Science* [online]. vol. 320, iss. 5873, s. 226-230 [cit. 2021-04-15]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1154986

CLARKE, R.H. a J. VALENTIN, 2009. The History of ICRP and the Evolution of its Policies. *Annals of the ICRP* [online]. vol. 39, iss.1, s. 75-110 [cit. 2021-4-24]. ISSN 0146-6453. Dostupné z: doi:10.1016/j.icrp.2009.07.009

CLAYTON, Nicholas P., Richard C. KHAN-MALEK, Charles A. DANGLER, et al., 2021. Sargramostim (rhu GM-CSF) Improves Survival of Non-Human Primates with Severe Bone Marrow Suppression after Acute, High-Dose, Whole-Body Irradiation. *Radiation Research* [online]. vol. 195 iss. 2 [cit. 2021-04-06]. ISSN 0033-7587. Dostupné z: doi:10.1667/RADE-20-00131.1

DAINIAK, N a R C RICKS, 2005. The evolving role of haematopoietic cell transplantation in radiation injury: potentials and limitations. *The British Journal of Radiology* [online]., vol. 27, iss. 1, s. 169-174 [cit. 2021-04-06]. ISSN 0007-1285. Dostupné z: doi:10.1259/bjr/31003240

DAINIAK, Nicholas, Robert Nicolas GENT, Zhanat CARR, et al., 2011. Literature Review and Global Consensus on Management of Acute Radiation Syndrome Affecting Nonhematopoietic Organ Systems. *Disaster Medicine and Public Health Preparedness* [online].vol. 5, iss. 3, s. 183-201 [cit. 2021-4-27]. ISSN 1935-7893. Dostupné z: doi:10.1001/dmp.2011.73

DECOURSEY, Elbert, 1948. Human Pathologic Anatomy of Ionizing Radiation Effects of the Atomic Bomb Explosions. *The Military Surgeon* [online], vol 102, iss. 6, s. 427–432 [cit. 2021-04-06]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1093/milmed/102.6.427>

DÖRR, Harald a Viktor MEINEKE, 2011. *Acute radiation syndrome caused by accidental radiation exposure - therapeutic principles* [online]. BMC medicine. Iss. 9 [cit. 2020-05-17]. Dostupné z: doi: [10.1186/1741-7015-9-126](https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-126).

FARESE, Ann M., Melanie V. COHEN, Barry P. KATZ, Cassandra P. SMITH, Allison GIBBS, Daniel M. COHEN a Thomas J. MACVITTIE, 2013. Filgrastim Improves Survival in Lethally Irradiated Nonhuman Primates. *Radiation Research* [online]. vol. 179, iss. 1, s. 89-100 [cit. 2021-04-06]. ISSN 0033-7587. Dostupné z: doi:[10.1667/RR3049.1](https://doi.org/10.1667/RR3049.1)

FILIPPOVA, Aleksandra, Fabien BONINI, Liudmila EFREMOVA, Manon LOCATELLI, Olivier PREYNAT-SEAUVE, Amélie BÉDUER, Karl-Heinz KRAUSE a Thomas BRASCHLER, 2021. Neurothreads: Development of supportive carriers for mature dopaminergic neuron differentiation and implantation. *Biomaterials* [online].vol. 270 [cit. 2021-4-24]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:[10.1016/j.biomaterials.2021.120707](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120707)

FUKUMOTO, Risaku, 2016. Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome. *Military Medical Research* [online]. vol. 3, iss. 1 [cit. 2021-04-06]. ISSN 2054-9369. Dostupné z: doi:[10.1186/s40779-016-0086-1](https://doi.org/10.1186/s40779-016-0086-1)

GOKHALE, Mamata S, Vladimir VAINSTEIN, Jamie TOM, Simmy THOMAS, Chris E LAWRENCE, Zoya GLUZMAN-POLTORAK, Nicholas SIEBERS a Lena A BASILE, 2014. *Single low-dose rHuIL-12 safely triggers multilineage hematopoietic and immune-mediated effects* [online]. vol. 3, iss. 1 [cit. 2021-04-10]. ISSN 2162-3619. Dostupné z: doi:[10.1186/2162-3619-3-11](https://doi.org/10.1186/2162-3619-3-11)

GUS'KOVA AK., BARANOV AE., BARABANOVA AV., GRUZDEV GP., PIATKIN EK., 1987. Ostrye efekty oblucheniia u postradavshikh pri avarii na Chernobyl'skoi AES [Acute radiation effects in victims of the accident at the Chernobyl nuclear power station]. *Med Radiol (Mosk)*. Vol. 32 iss. 12, s.3-18. Russian. PMID: 3316899.

HAVRÁNKOVÁ, Renata, 2020. ed. *Klinická radiobiologie*. Praha: Grada Publishing,. ISBN 978-80-247-4098-0.

HESLET, Lars, Christiane BAY a Steen NEPPER-CHRISTENSEN, 2012. Acute radiation syndrome (ARS) – treatment of the reduced host defense. *International Journal of General*

*Medicine* [online]. iss. 5, s. 105–115 [cit. 2021-02-02]. ISSN 1178-7074. Dostupné z: doi:10.2147/IJGM.S22177

HIRAMA, Toshiyasu a M AKASHI, 2005. Multi-organ involvement in the patient who survived the Tokai-mura criticality accident. *The British Journal of Radiology* [online]. Supplement\_27, iss.1, s. 17-20 [cit. 2020-12-04]. ISSN 0007-1285.

HOŘEJŠÍ, Václav, 2003. Receptory TLR - klíčové molekuly imunitního systému. *Vesmír* [online]. vol. 83, iss. 134 [cit. 2021-04-15]. Dostupné z: [https://people.img.cas.cz/vaclav-horejsi/documents/popularizacni\\_publikace/24\\_Receptory\\_TLR.pdf](https://people.img.cas.cz/vaclav-horejsi/documents/popularizacni_publikace/24_Receptory_TLR.pdf)

HOŘEJŠÍ, Václav, Jiřina BARTUŇKOVÁ, Tomáš BRDIČKA a Radek ŠPÍŠEK, 2017. *Základy imunologie*. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton. ISBN 978-80-7553-250-3.

HUMANETICS CORPORATION, 2020. BIO 300 Oral Powder Safety and Pharmacokinetics. In: ClinicalTrials.gov [online]. [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT04650555?cond=Acute+Radiation+Sickness&drow=1&rank=3>

HUR, Wonhee a Seung Kew YOON, 2017. Molecular Pathogenesis of Radiation-Induced Cell Toxicity in Stem Cells. *Int. J. Mol. Sci.* vol. 18, is. 12, [cit. 2021-04-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms18122749>

CHEN, Chia-Hung, Min-Liang KUO, Jen-Ling WANG, Wei-Chuan LIAO, Li-Ching CHANG, Leong-Perng CHAN a Johnson LIN, 2015. CCM-AMI, a Polyethylene Glycol Micelle with Amifostine, as an Acute Radiation Syndrome Protectant in C57BL/6 Mice. *Health Physics* [online]. vol. 109, iss. 3, s. 242-248 [cit. 2021-04-10]. ISSN 0017-9078. Dostupné z: doi:10.1097/HP.0000000000000326

INTERNATIONAL NUCLEAR SAFETY ADVISORY GROUP, 1986. Summary Report on the Post-accident Review Meeting on the Chernobyl Accident, INSAG-1, IAEA, Vienna.

KAMARÁD, V., 1989. Acute radiation sickness--morphology of CNS syndrome. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med.*;121:7-144. PMID: 2533817.

- KIANG, Juliann G. a Ayodele O. OLABISI, 2019. Radiation: a poly-traumatic hit leading to multi-organ injury [online]. *Cell Biosci.* Vol. 9, iss. 25. [cit. 2020-05-17]. Dostupné z: doi:10.1186/s13578-019-0286-y
- KIM, Jung-Ryul, 2018. A Clinical Trial to Evaluate Safety, Tolerability and Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Characteristics of KMRC011. In: ClinicalTrials.gov [online]. [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03585803?cond=Acute+Radiation+Sickness&draw=1&rank=4>
- KIM, Jun-Young, Jong-Hyung PARK, Sun-Min SEO, et al., 2019. Radioprotective effect of newly synthesized toll-like receptor 5 agonist, KMRC011, in mice exposed to total-body irradiation. *Journal of Radiation Research* [online]. vol. 60, iss. 4, s. 432-441 [cit. 2021-04-15]. ISSN 0449-3060. Dostupné z: doi:10.1093/jrr/rrz024
- KING, Maurice, Sanjay JOSEPH, Ashley ALBERT, Toms V. THOMAS, Mary R. NITTALA, William C. WOODS, Srinivasan VIJAYAKUMAR a Satyaseelan PACKIANATHAN, 2020. Use of Amifostine for Cytoprotection during Radiation Therapy: A Review. *Oncology* [online]. vol. 98, iss. 2, s. 61-80 [cit. 2021-04-06]. ISSN 0030-2414. Dostupné z: doi:10.1159/000502979
- KUNA, Pavel, 2006. Chemical radioprotective substances: The past, the present and the future. *Kontakt* [online]. vol. 8, iss. 1, s. 112-122 [cit. 2021-04-06]. ISSN 12124117. Dostupné z: doi:10.32725/kont.2006.019
- LEISVELD, Jane, 2009. Phase I Study of Eltrombopag for Promoting Thrombopoiesis After Total Body Irradiation. In: ClinicalTrials.gov [online]. [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT00903929?cond=Acute+Radiation+Sickness&draw=1&rank=8>
- LIESVELD, Jane L., Gordon L. PHILLIPS, Michael BECKER, et al., 2013. A Phase 1 Trial of Eltrombopag in Patients Undergoing Stem Cell Transplantation after Total Body Irradiation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [online]. vol. 19, iss. 12, s. 1745-1752 [cit. 2021-04-15]. ISSN 10838791. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbmt.2013.10.002
- LÓPEZ, Mario a Margarita MARTÍN, 2011. Medical management of the acute radiation syndrome. *Reports of partical oncology and radiotherapy* [online]. vol. 16, iss. 4, s. 138-146 [cit. 2020-05-19].

- MACIÀ I GARAU, Miquel, Anna Lucas CALDUCH a Enric Casanovas 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]. DOI: 10.1016/j.rpor.2011.06.001.
- MALIEV, Vladislav, Dmitri POPOV, Jeffrey A. JONES a Rachael C. CASEY, 2007. Mechanism of action for anti-radiation vaccine in reducing the biological impact of high-dose gamma irradiation. *Advances in Space Research* [online]. vol. 40 iss. 4, s. 586-590 [cit. 2021-04-19]. ISSN 02731177. Dostupné z: doi:10.1016/j.asr.2007.03.098
- 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 [cit. 2020-12-04]. ISSN 0017-9078.
- MOLKENTINE, Jessica M., Tara N. FUJIMOTO, Thomas D. HORVATH, et al, 2019. Enteral Activation of WR-2721 Mediates Radioprotection and Improved Survival from Lethal Fractionated Radiation. *Scientific Reports* [online]. vol. 9, iss. 1 [cit. 2021-04-06]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-37147-9
- ORIGINAL BIOMEDICALS CO. LTD., 2015. A Study to Evaluate the Safety and Pharmacokinetics of RadProtect® in Healthy Volunteers. In: *ClinicalTrials.gov* [online]. [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02587442?cond=Acute+Radiation+Sickness&draw=1&rank=2>
- PACE, F. C., 1952. Treatment of Acute Radiation Syndrome. *Canadian Medical Association Journal* [online]. vol. 67, s. 539-542 [cit. 2021-04-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1894667/>
- PAMUJULA, S, V KISHORE, B RIDER, CD FERMIN, RA GRAVES, KC AGRAWAL a TK MANDAL, 2009. Radioprotection in mice following oral delivery of amifostine nanoparticles. *International Journal of Radiation Biology* [online]. vol. 81 iss. 3, s. 251-257 [cit. 2021-04-18]. ISSN 0955-3002. Dostupné z: doi:10.1080/09553000500103470
- PEJCHAL, Jaroslav et al., 2013 *Biofyzika pro záchranáře. 2. díl*. Vyd. 1. [Hradec Králové]: Univerzita obrany. 89 s. Studijní texty Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany v Hradci Králové; sv. 369. ISBN 978-80-7231-354-9.

PETÝREK, Pavel a Jiřina VÁVROVÁ, 1999. Radioprotektivní látka WR 2721: od vojenského výzkumu ke klinickému využití - 2. část. *Military Medical Science Letters* [online]. vol. 68, iss 6, s. 185-191 [cit. 2021-04-06]. Dostupné z: <https://www.mmsl.cz/pdfs/mms/1999/05/05.pdf>

PLURISTEM LTD., 2019. Open-label Phase I Study for PEP or Treatment of HS-ARS PLX-R18 for the Post-Exposure Prevention (PEP) or Treatment of Hematopoietic Syndrome of Acute Radiation Syndrome (HS-ARS) (HS-ARS). *ClinicalTrials.gov* [online]. [cit. 2021-04-21] Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT03797040?cond=Acute+Radiation+Sickness&draw=1&rank=6>

RAY, Kausik a Melissa STICK, 2015. Radiation and Health Effects. *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents* [online]. Elsevier, s. 431-446 [cit. 2021-01-29]. ISBN 9780128001592. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-800159-2.00032-4

SHER, Noa a Racheli OFIR, 2018. Placenta-Derived Adherent Stromal Cell Therapy for Hematopoietic Disorders. *Cell Transplantation* [online]. vol. 27, iss. 1, s. 140-150 [cit. 2021-04-15]. ISSN 0963-6897. Dostupné z: doi:10.1177/0963689717727543

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. 2021-04-06]. Dostupné z: <https://permalink.lanl.gov/object/tr?what=info:lanl-repo/lareport/LA-UR-95-4005-03>

SIEBERS, Nicholas, 2015. . Safety Study of HemaMax™ (rHuIL-12) to Treat Acute Radiation Syndrome. In: *ClinicalTrials.gov* [online]. [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02343133?cond=Acute+Radiation+Sickness&draw=1&rank=1>

SINGH, Vijay K, Patricia LP ROMAINE a Victoria L NEWMAN, 2015a. Biologics as countermeasures for acute radiation syndrome: where are we now? *Expert Opinion on Biological Therapy* [online]. vol. 15, iss. 4, s. 465-471 [cit. 2021-04-06]. ISSN 1471-2598. Dostupné z: doi:10.1517/14712598.2015.986453/

SINGH, Vijay K., Victoria L. NEWMAN a Thomas M. SEED, 2015b. Colony-stimulating factors for the treatment of the hematopoietic component of the acute radiation syndrome (H-ARS): A review. *Cytokine* [online]. vol. 71, iss. 1, s. 22-37 [cit. 2021-04-06]. ISSN 10434666. Dostupné z: doi:10.1016/j.cyto.2014.08.003

SINGH, Vijay K. a Thomas M. SEED, 2017a. A review of radiation countermeasures focusing on injury-specific medicinals and regulatory approval status: part I. Radiation sub-syndromes, animal models and FDA-approved countermeasures. *International Journal of Radiation Biology* [online]. vol. 93, iss.9, 851-869 [cit. 2020-06-02]. 3002. Dostupné z: doi: 10.1080/09553002.2017.1332438.

SINGH, Vijay K., Melissa GARCIA a Thomas M. SEED, 2017b. 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. 2021-04-06]. ISSN 0955-3002. Dostupné z: doi:10.1080/09553002.2017.1338782

SINGH, Vijay K. a Thomas M. SEED, 2019. The efficacy and safety of amifostine for the acute radiation syndrome. *Expert Opinion on Drug Safety* [online]. vol. 18, iss. 11, s. 1077-1090 [cit. 2021-04-06]. ISSN 1474-0338. Dostupné z: doi:10.1080/14740338.2019.1666104

SINGH, Vijay K. a Thomas M SEED, 2020a. Pharmacological management of ionizing radiation injuries: current and prospective agents and targeted organ systems. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* [online]. vol. 21, iss. 3, s. 317-337 [cit. 2021-04-06]. ISSN 1465-6566. Dostupné z: doi:10.1080/14656566.2019.1702968

SINGH, Vijay K. a Thomas M SEED, 2020b. BIO 300: a promising radiation countermeasure under advanced development for acute radiation syndrome and the delayed effects of acute radiation exposure. *Expert Opinion on Investigational Drugs* [online]. vol. 29, iss. 5, s. 429-441 [cit. 2021-04-10]. ISSN 1354-3784. Dostupné z: doi:10.1080/13543784.2020.1757648

TURIICKI, Josh, 2021. Histology and Cellular Function of the Small Intestine. *Teach Me Physiology* [online]. Wales, [cit. 2021-04-06]. Dostupné z: <https://teachmephysiology.com/gastrointestinal-system/small-intestine/histology-and-cellular-function>

WEISDORF, Daniel, Nelson CHAO, Jamie K. WASELENKO, Nicholas DAINIAK, James O. ARMITAGE, Ian MCNIECE a Dennis CONFER, 2006. Acute Radiation Injury: Contingency Planning for Triage, Supportive Care, and Transplantation. *Biology of Blood and Marrow*

*Transplantation* [online]. vol. 12, iss.6, s. 672-682 [cit. 2021-04-06]. ISSN 10838791.  
Dostupné z: doi:10.1016/j.bbmt.2006.02.006

WILLIAMS, Jacqueline P. a William H. MCBRIDE, 2011. After the bomb drops: A new look at radiation-induced multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *International Journal of Radiation Biology* [online]. vol. 87, iss. 8, s. 851-868 [cit. 2021-02-08]. ISSN 0955-3002.  
Dostupné z: doi:10.3109/09553002.2011.560996

ZENK, John L., 2007. Safety and Pharmacokinetic Study of BIO 300 Capsules. ClinicalTrials.gov. [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00504335?cond=Acute+Radiation+Sickness&draw=1&rank=5>

ZHAO, H., M. GUO, X. SUN, W. SUN, H. HU, L. WEI a H. AI., 2013. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on central and peripheral T lymphocyte reconstitution after sublethal irradiation in mice. *Journal of Radiation Research* [online]. vol. 54, iss.1, s. 83-91 [cit. 2021-04-06]. ISSN 0449-3060. Dostupné z: doi:10.1093/jrr/rrs082