

쥐의 타액선 방사선조사 후 만성반응에 Pentoxifylline과 Diltiazem이 미치는 영향

인제대학교 의과대학 치료방사선과학교실*, 해부병리학교실†

서현숙* · 양광모* · 강윤경†

목적 : 두경부암 환자들은 방사선조사 후 부작용으로 타액선의 기능부전인 구강건조증이 흔히 유발되어 치료 후 회복이 늦어지고 삶의 질이 저하된다. 방사선조사와 함께 혈류개선제로 알려져 있는 pentoxifylline (PTX)과 칼슘 통로차단제로 알려져 있는 diltiazem (DTZ)을 단독 또는 병합으로 투여한 후 타액선의 만성변화를 분석하여 이 약제들의 방사선손상 억제 가능성을 분석해 보고자 하였다.

대상 및 방법 : Sprague-Dawley 쥐 16마리를 네 군 즉, 1) 방사선조사 단독군, 2) 방사선조사와 PTX 투여군, 3) 방사선조사와 DTZ 투여군, 4) 방사선조사와 PTX, DTZ의 병합투여군으로 분류하였다. 4 MV 선형가속기를 이용하여 16 Gy 일회로 타액선 부위에 방사선조사를 시행하였다. PTX은 방사선조사 20분 전에 kg당 50 mg를, DTZ은 방사선조사 30분 전에 kg당 20 mg를 복강 내로 각각 투여하였다. 방사선조사후 10주와 16주후에 타액선을 절제하여 H&E 염색을 하여 병리학적 소견을 관찰하였고 만성변화의 객관적 지표인 세포질내 공포 형성의 정도를 백분율로 측정하여 각 군간의 평균값을 비교하여 통계적인 유의성을 χ^2 -검사에 의해 확인하였다.

결과 : 방사선조사 10주 후 타액선의 선방세포질 내에서 다수의 공포형성이 관찰되었으며 방사선조사와 PTX 투여군, 또는 PTX과 DTZ 병합투여군에서는 이를 세포질내 공포 형성이 통계적으로 의미 있게 감소하였다(p value, 0.001). 그러나 DTZ 투여군에서는 세포질내 공포 형성 정도가 방사선조사단 독군에 비해 통계적으로 의미 있게 감소되지 않았다(p value, >0.05). 방사선조사 후 16주에 관찰한 실험 군들에서도 선방세포질내 공포형성의 차이가 10 주군들과 각기 유사한 소견을 보였으며 10주와 다른 점은 선방세포의 전체 수가 감소된 것과 간질 내 섬유화의 증가였다.

결론 : 방사선조사를 받은 쥐의 타액선에서 PTX 투여, 혹은 PTX과 DTZ 병합 투여결과 만성손상이 감소되었음을 관찰하였고 이로 미루어 보아 PTX이 방사선조사후 발생하는 구강건조증을 예방하는 효과적인 약제가 될 수 있으리라 생각한다.

핵심용어 : 타액선, Pentoxifylline, Diltiazem, 방사선조사, 만성반응

서 론

대부분의 두경부암에서 방사선치료는 높은 국소관해율과 더불어 두경부의 기능을 그대로 유지할 수 있도록 하여 중요한 치료방법으로 여겨지고 있다.¹⁾ 그러나 두경부의 방사선치료 후에 타액선의 기능부전인 구강건조증이 흔히 유발되는데 이는 두경부암이 인접 경부림프절로 전이를 함으로 인해 방사선치료 범위에 타액선이 포함되기 때문이다.^{2, 3)} 구강건조증은 방사선조사후 일시적으로 올 수도 있으나 대부분

본 연구는 인제대학교 의과대학 임상연구비 보조에 의해 이루어졌다.

이 논문은 1999년 1월 25일 접수하여 1999년 7월 28일 채택되었다.

책임 저자: 서현숙, 인제대학교 상계백병원 치료방사선과
Tel : 02)950-1216, Fax : 02)950-1217

의 경우 만성적으로 환자에게 큰 불편을 주고 있다. 구강건조증을 해소하기 위한 방법으로 현재 pilocarpine hydrochloride, bromehexine bethanechol chloride 등과 같은 약제가 사용되기는 하나 큰 효과를 얻지 못하고 있다.

Pentoxifylline [3, 7-dimethyl-1(5-oxyhexyl)-xanthine] (이하 PTX이라 칭함)은 혈류개선제로 알려져 있는데 방사선조사로 인해 발생하는 연부조직 괴사의 치료에 사용되어 좋은 효과를 보여주고⁴⁾, 폐의 방사선조사 후에 발생하는 폐섬유증을 감소시키기도 하여 PTX이 방사선부작용 억제제로써 효능이 입증되고 있다.^{5, 6)} 한편 Diltiazem (이하 DTZ이라 칭함)은 칼슘통로 차단제로 심혈관질환에 널리 쓰여지고 있으며 방사선조사 발생하는 세포의 apoptosis를 감소시킬 뿐만 아니라^{7, 8)} 치사 및 준치사 발생을 억제한다는 연구 결과도 있다.^{9, 10)}

타액선의 급성 방사선반응에 PTX과 DTZ이 미치는 효과

를 분석한 선행 연구에서 방사선에 의한 급성반응인 apoptosis의 발생을 현저히 감소시키는 것을 확인하였다.⁸⁾ 따라서 본 연구는 타액선의 방사선조사 시 PTX과 DTZ를 각기 단독으로 또는 병합하여 투여한 후 타액선의 만성변화를 분석함으로써 이들 약제의 만성 방사선손상 억제 가능성을 파악해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

체중이 약 200~250g 정도(생후 8~9주)의 Sprague-Dawley 쥐(수컷) 16마리를 크게 네 군 즉, 1) 방사선조사 단독군, 2) 방사선조사와 PTX 투여군, 3) 방사선조사와 DTZ 투여군, 4) 방사선조사와 DTZ, PTX 병합투여군으로 분류하였다. 적절한 온도와 습도 및 환기를 유지하는 환경에서 사육되도록 하였고 상품화된 사료(제일제당, Rat사료)를 먹었다.

2. 방법

선행된 실험을 통하여 쥐에서 타액선의 해부학적 위치를 확인한 후 ketamine을 체중 kg당 100 mg을 쥐의 복강내 투입하여 마취시킨 후 아크릴 판에 쥐의 복측을 향하도록 하여 사지를 고정시켰다. 방사선조사야를 10×10 cm로 열어 두경부 부위의 양측 타액선이 포함하도록 한 후 나머지 부위는 차폐하고 방사선조사를 시행하였다. 방사선조사 단독군에서는 우측의 타액선 부위를 차폐하여 대조군으로 삼고 나머지 좌측 타액선만을 실험군으로 하여 방사선조사를 시행하였다. 4 MV 선형가속기를 이용하여 16 Gy를 일회로 SSD 80 cm 거리에서 분당 3 Gy로 1.5 cm 깊이에 주었고 표면에 5 mm 두께의 조직등가물(bolus)을 사용하였다. PTX (Trental®, 한독약품)은 방사선조사 20분전에 kg당 50 mg을 복강 내로 투여하였고 DTZ (Herben®, 한일약품)은 50 mg을 5 ml의 종류수에 용해시켜 방사선조사 30분 전에 kg당 20 mg을 복강내 투여하였다.⁸⁾

각 군을 다시 둘로 나누어 각각 방사선조사 10 주와 16 주 후에 ketamine을 과용량으로 복강내 투여하여 회생시킨 후 두경부 양측의 이하선을 절제하였다. 이들 조직은 10% 중성 완충 포르말린액을 사용하여 고정시킨 후 1~2 mm 두께로 횡면절단하여 통상적인 방법에 의해 파라핀블록을 만들어 광학현미경관찰을 위한 표본슬라이드로 만들었고 hematoxylin-eosin 염색과 Masson-trichrome 염색을 시행하여 관찰하였다.

타액선의 방사선조사 후 만성변화로 관찰되는 소견들은

선방세포와 핵의 부동 형태, 간질의 섬유화, 세포질내 공포형성(vacuolation) 등으로 알려져 있어¹¹⁾ 본 연구에서는 객관적인 지표로 적당한 세포질내 공포형성의 정도를 만성손상의 소견으로 관찰하였다. 세포질내 공포형성의 정도를 측정하기 위하여 각 표본 슬라이드당 10 부위를 200배율 하에서 사진을 찍어 각 사진 내 전체 세포 수를 세고 이중 공포형성(vacuolation)을 보이는 세포 수를 세어 백분율을 구하였다. 이후 방사선조사 단독군과 약제를 투입한 각 군의 평균 백분율 값을 서로 비교하여 이들의 통계적 유의성을 χ^2 -test를 이용하여 확인하였다.

결과

1. 방사선조사 10주 후 소견

대조군은 정상적인 선방(acinar)세포 분포와 더불어 비교적 균일한 크기의 세포와 핵을 보여 주었고 세포질내 뚜렷한 공포형성이나 섬유화증식과 같은 퇴행성 변화 등이 전혀 관찰되지 않았다(Fig. 1A).

방사선조사 단독군에서 선방세포의 분포가 다소 와해되어 있고 세포 및 핵의 크기가 대소부동(anisocytosis & anisonucleosis)하고 세포질내 다수의 공포형성을 보여주었다(Fig. 1B). 방사선조사와 PTX 투여군은 간질 내 다수의 염증세포 침윤과 핵의 다형태 및 apoptosis가 관찰되었으나 세포질내 공포형성은 미미하였다(Fig. 1C). 방사선조사와 DTZ 투여군은 선방구조가 비교적 잘 유지되어 있고 세포질내의 공포형성이 자주 관찰되었으며 염증세포 침윤과 섬유화는 미미하였다(Fig. 1D). 방사선조사와 PTX, DTZ 병합투여군은 핵과 세포의 대소부동과 핵의 다형성(pleomorphism)을 보였으며 세포질내의 공포형성과 간질섬유화는 거의 관찰되지 않았다(Fig. 1E).

세포질내 공포수의 평균백분율은 방사선조사 단독군에서는 0.448 (82.8/184.5), 방사선조사와 PTX 투여군은 0.158 (38.8/245.4), 방사선조사와 DTZ 투여군은 0.444 (96.8/217.8), 그리고 방사선조사와 DTZ, PTX 병합투여군은 0.144 (25.4/175.6)을 보여 주었다(Table 1). 통계적인 처리 결과 방사선조사 단독군과 비교하여 방사선조사와 PTX 투여군, 방사선조사와 DTZ와 PTX 병합투여군 간의 비교시 P 값이 각각 0.001을 보여 공포형성의 정도에 있어 유의한 차이가 있음을 보여 주었으나 방사선조사와 DTZ 투여군은 P 값이 >0.05 를 보여 방사선조사 단독군과 비교시 통계적으로 유의한 차이를 보여주지 않았다.

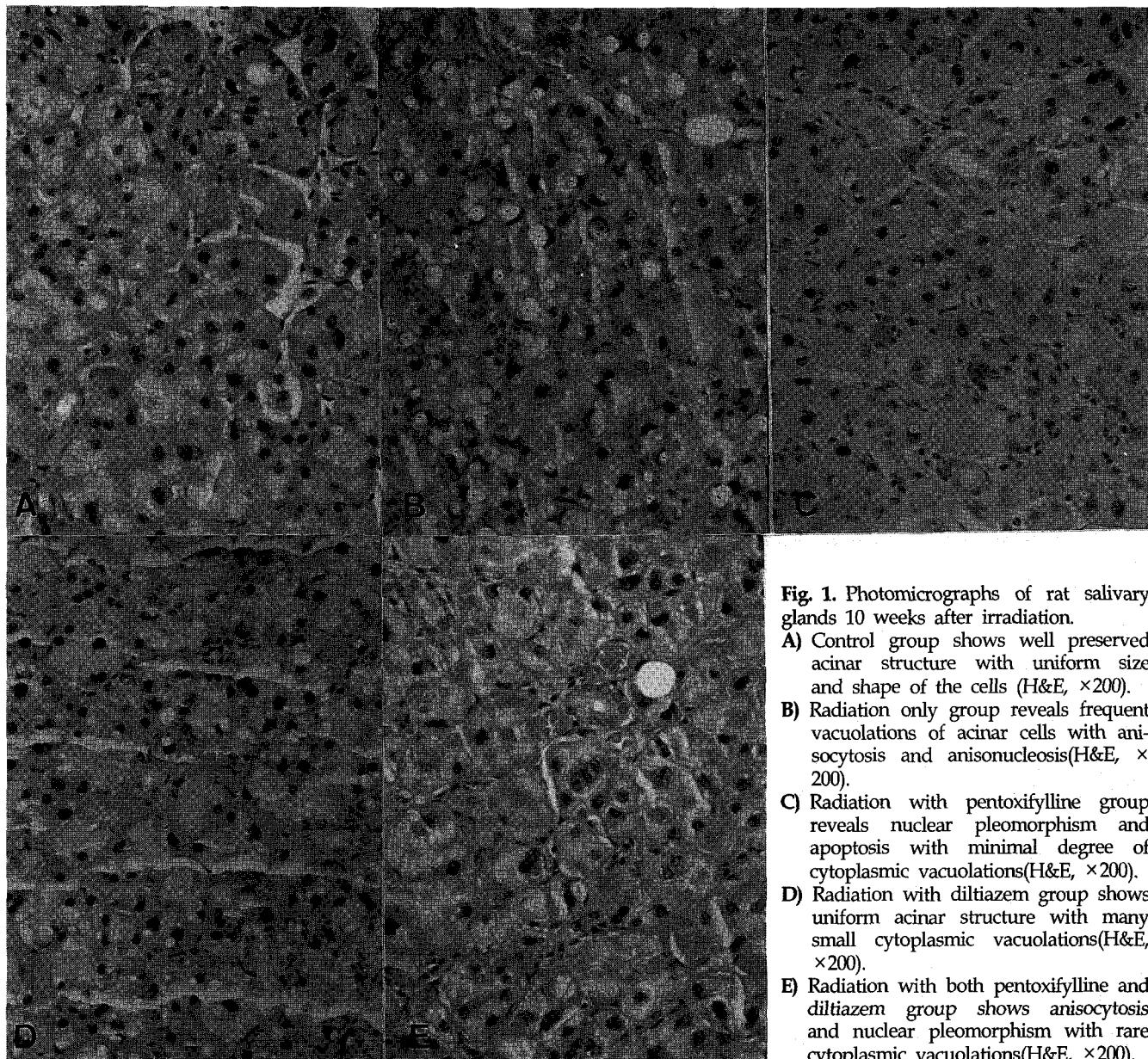


Fig. 1. Photomicrographs of rat salivary glands 10 weeks after irradiation.

- A) Control group shows well preserved acinar structure with uniform size and shape of the cells (H&E, $\times 200$).
- B) Radiation only group reveals frequent vacuolations of acinar cells with anisocytosis and anisonucleosis(H&E, $\times 200$).
- C) Radiation with pentoxifylline group reveals nuclear pleomorphism and apoptosis with minimal degree of cytoplasmic vacuolations(H&E, $\times 200$).
- D) Radiation with diltiazem group shows uniform acinar structure with many small cytoplasmic vacuolations(H&E, $\times 200$).
- E) Radiation with both pentoxifylline and diltiazem group shows anisocytosis and nuclear pleomorphism with rare cytoplasmic vacuolations(H&E, $\times 200$).

2. 방사선조사 16주 후 소견

대조군에서 타액선의 선방구조가 유지되고 핵과 세포의 부동 및 다형태가 비교적 현저하였다. 세포질 내에서 간혹 작은 공포형성이 보였다(Fig. 2A).

방사선조사 단독군에서 다초점성(multifocal)의 선방구조의 위축 및 파괴와 염증세포의 침윤이 관찰되었다. 간질에는 중등도의 섬유화가 있었고 실질의 위축과 함께 분엽 간격이 넓어져 있었다. 10주에 비해 선방구조의 위축, 섬유화는 증가되었고 세포질내 공포형성은 10주군에 비해서는 조금 감

소된 상태로 관찰되었다(Fig. 2B). 방사선조사와 PTX 투여군은 타액선내 실질세포(parenchymal cell)의 감소나 섬유화는 거의 없었고 10주군과 비교하여 염증세포의 감소만을 보이며 세포질내 공포형성 정도도 10주군과 유사하였다(Fig. 2C). 방사선조사와 DTZ 투여군은 세포질내 크기가 작은 다수의 공포형성을 보였으며 그 외의 소견은 10주군과 유사하였다(Fig. 2D). 방사선조사와 PTX와 DTZ 병합투여군은 핵과 세포의 부동성과 더불어 핵의 다형성이 관찰되었고, 세포질내 공포형성도 10주군과 유사하였으며 간혹 apoptotic body가 관찰되었다(Fig. 2E).

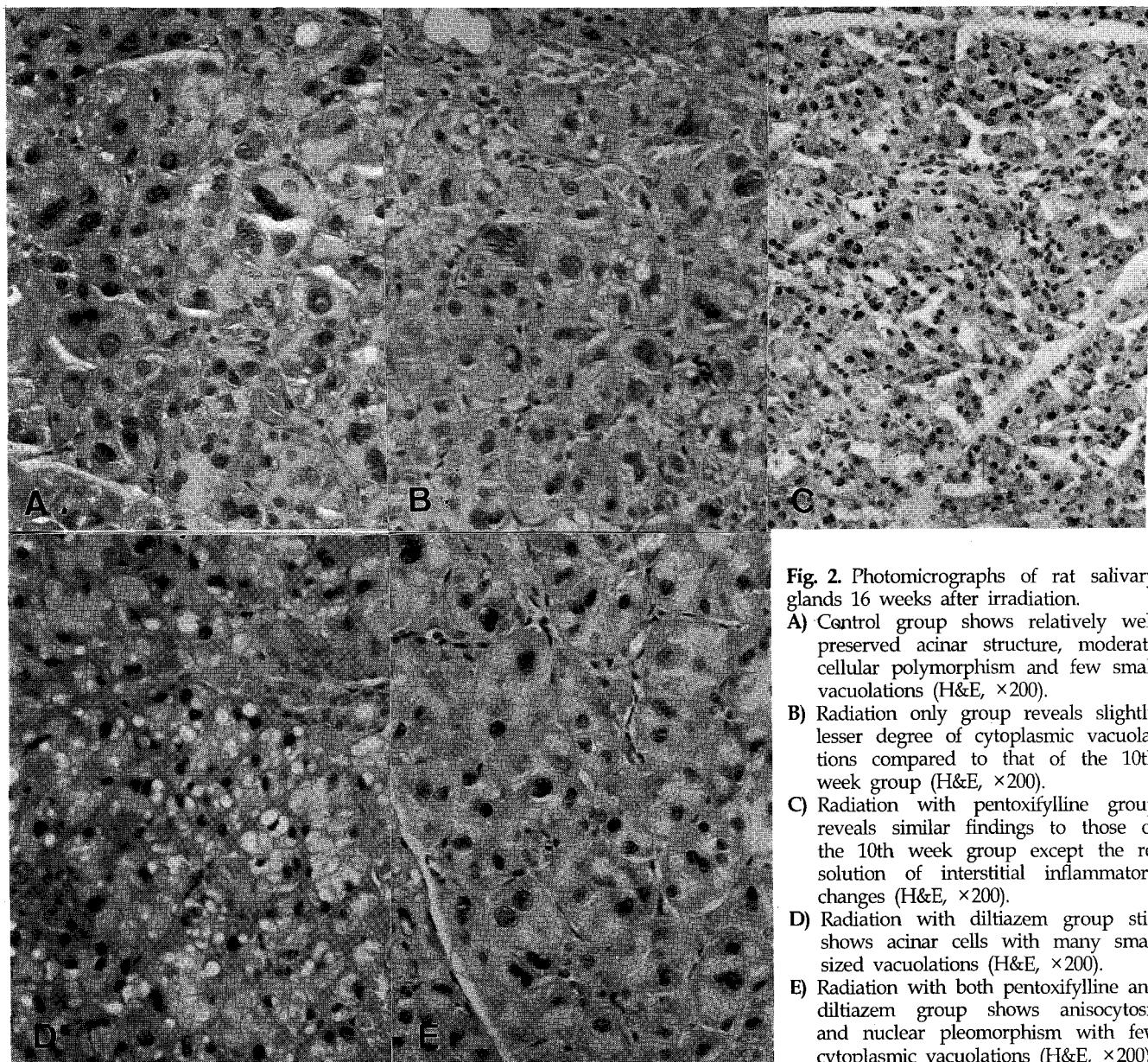


Fig. 2. Photomicrographs of rat salivary glands 16 weeks after irradiation.

- A) Control group shows relatively well preserved acinar structure, moderate cellular polymorphism and few small vacuolations (H&E, $\times 200$).
- B) Radiation only group reveals slightly lesser degree of cytoplasmic vacuolations compared to that of the 10th week group (H&E, $\times 200$).
- C) Radiation with pentoxifylline group reveals similar findings to those of the 10th week group except the resolution of interstitial inflammatory changes (H&E, $\times 200$).
- D) Radiation with diltiazem group still shows acinar cells with many small sized vacuolations (H&E, $\times 200$).
- E) Radiation with both pentoxifylline and diltiazem group shows anisocytosis and nuclear pleomorphism with few cytoplasmic vacuolations (H&E, $\times 200$).

Table 1. Proportion of Vacuolated Cells of Salivary Glands among Each Experimental Groups

Post RT	10 weeks		16 weeks	
	% of vacuolated cells	p value	% of vacuolated cells	p value
RT alone	0.448 (82.8/184.5)		0.23 (32.6/140)	
RT+PTX	0.158 (38.8/245.4)	0.001	0.123 (35.8/292)	0.001
RT+DTZ	0.444 (96.8/217.8)	>0.05	0.521 (96.2/184.5)	>0.05
RT+PTX+DTZ	0.144 (25.4/175.6)	0.001	0.144 (26.9/187.4)	0.001

RT : irradiation, PTX : pentoxifylline, DTZ : diltiazem

세포질내 공포수의 평균백분율은 방사선조사 단독군에서는 0.23(32.6/140), 방사선조사와 PTX 투여군은 0.123(35.8/292), 방사선조사와 DTZ 투여군은 0.521 (96.2/184.5), 그리고 방사선조사와 DTZ, PTX 병합투여군은 0.144 (26.9/187.4)를 보여 주었다(Table 1). 통계적인 처리 결과 방사선조사 단독군과 비교하여 방사선조사와 PTX 투여군, 방사선조사와 DTZ, PTX의 병합투여군의 비교시 P 값이 각각 0.001을 보여 이들 군이 방사선조사 단독군에 비해 공포형성의 정도에 있어서 유의한 차이가 있었음을 보여 주었으나 방사선조사와 DTZ 투여군과의 비교 시에는 P 값이 >0.05를 보여 유의한 차이가 없음을 보여 주었다.

고안 및 결론

두경부 부위에 방사선조사를 하면 환자들은 일반적으로 방사선조사 첫 주에 구강건조증을 느끼게 되는데¹²⁾ 이는 타액선이 방사선조사야에 포함되어 타액선의 기능이 저하되기 때문이다. 타액선이 방사선에 노출되면 타액 양이 감소하여 점도가 높아지게되고 pH 감소, 단백질량 및 secretory antibodies의 농도저하 등이 유발된다고 한다.^{3, 13~16)} 타액의 양과 질이 변하면 미각변화, 연하장애, 및 구강내 위생이 악화되어 구강점막염과 심한 충치, 그리고 발치 시에는 하악골의 방사선골괴사가 발생될 수 있다.¹⁷⁾ 따라서 방사선조사에 의해 두경부암의 국소관해가 이루어졌다 할지라도 수반되는 구강의 부작용으로 인해 환자는 회복이 늦어지고 삶의 질이 저하되므로 타액선의 기능보존은 매우 중요하다고 할 수 있다.

타액선의 방사선조사에 대한 반응은 급성으로 알려져 있으며 이들의 발생 기전은 정확히 알려져 있지 않다.^{18~20)} 일반적으로 조직이 방사선조사에 반응하는 시기(radioresponsiveness)를 결정짓는 요인은 세포의 교체(turnover) 속도인 것으로 알려져 있다.²¹⁾ 따라서 타액 선방(acini)과 같이 유사분열 활성도(mitotic activity)가 낮은 대부분의 세포들은 방사선조사 시 비교적 늦게 반응이 나타날 것으로 추정되고 있으나 임상에서는 타액선의 방사선조사 후 반응이 급성으로 나타나고 있다. 현재 타액선의 방사선반응에 관한 기전으로는 방사선이 직접 장액세포를 손상시켜 선방(acinar)세포들의 빠르고, 선택적인 기능변화가 초래된다고도 하고^{22, 23)} 방사선조사 후 타액선조직의 괴사와 더불어 apoptosis가 대조군에 비해 뚜렷이 증가하는 현상이 관찰되어 타액선의 방사선반응이 apoptosis에 의한 것으로 생각되기도 한다.²⁴⁾ 다른 연구자들도 쥐 이하선의 선방세포의 세포주기가 약 40일인 것으로 보아 방사선조사 후에 발생하는 급성손상이 세포 간기(interphase)의

치명적(lethal) 손상에 의한 것이라고 주장하였다.^{23, 25, 26)}

타액선의 방사선에 대한 반응은 급성이고 일시적(transient)으로 나타날 수 있으나 방사선치료 범위 및 방사선량에 따라서는 영구적인 기능부전으로 이어질 수 있다.^{2, 19, 25)} 타액선의 급성 방사선반응에 대한 연구는 많이 보고되었으나 방사선조사후의 만성변화에 대한 연구는 잘 알려져 있지 않다.²⁷⁾ 쥐를 대상으로 해서 24 Gy에서 72 Gy의 분할방사선조사를 시행한 후 55 일간 관찰하여 본 결과 방사선조사 수일 후부터 시간이 경과함에 따라 병리학적 소견으로 선방세포와 핵의 부동형태, 간질의 섬유화와 세포질내 공포형성이 뚜렷이 증가한다고 하였다.¹¹⁾ 이 중 세포질내 공포형성의 정도가 객관적인 지표가 될 수 있을 것으로 생각되었으며 따라서 본 연구에서는 만성 방사선변화의 정도를 세포질 내 공포형성 백분율로 측정하게 되었다.

PTX은 다양한 혈관폐색질환의 치료제로 임상에서 쓰여지고 있다. PTX은 세포내의 ATP와 cAMP의 농도를 증가시켜 세포막의 유연성을 향상시키고 적혈구 내에서도 2, 3-DPG 농도를 증가시켜 혈색소의 산소친화도를 감소시켜 조직내 산소량을 증가시켜 준다고 한다.²⁸⁾ 또한 정상혈관 내피세포에서 prostacycline의 분비를 촉진하여 혈관을 확장시키고, 혈소판응집을 억제하고 혈전용해를 촉진시키는 역할을 하기도 한다.²⁹⁾ 이에 따라 PTX은 방사선조사 후 조직내 혈류량을 향상시켜 주어 방사선의 만성변화를 어느 정도 감소시켜 줄 수 있을 것으로 생각되고 있다. 이외에도 PTX은 유해한 자극을 줄 때 TNF 생성을 감소시키고 TNF와 interleukin-1의 노출 후에 과립구 매개성 세포독성(granulocyte-mediated cytotoxicity)을 억제하여 방사선에 의한 cytokine 매개성 만성 세포손상을 방지한다고도 한다.³⁰⁾ 최근에는 PTX이 배양된 과립구의 자연 apoptosis발생을 억제시킨다는 보고도 있었으며³¹⁾ 이와 같은 유사한 결과가 타액선을 대상으로 한 실험에서도 확인되었다.⁸⁾ 반면에 일부 보고에서는 PTX이 poly (ADP-ribose) polymerase를 억제하여 apoptosis를 오히려 촉진시킨다는 보고도 있다.³²⁾ PTX의 만성 방사선손상 억제작용은 일부 임상 경험에서 입증되고 있으나⁴⁾ 타액선을 대상으로 한 연구는 이루어지지 않았다. 본 실험결과에서 타액선 방사선조사 10~16주 후에 만성 방사선반응이라 할 수 있는 세포질내 공포수가 PTX 투여 후 의미 있게 감소된 것을 보여주어 PTX이 타액선에서도 만성 방사선손상을 억제할 수 있다는 것을 보여주었다. 10 주 실험군의 일부에서는 apoptosis가 표본 슬라이드에서 관찰되기도 하였으나 이는 급성 방사선반응으로 여겨지어 본 실험에서는 간과하였다.

DTZ은 세포막에서 칼슘통로를 차단하여 세포 내 칼슘농

도를 낮추며 혈관근육을 이완시킴으로써 심혈관질환의 치료에 널리 쓰여지고 있다.⁷⁾ DTZ를 방사선조사와 함께 투여하면 종양주위의 혈류량 증가로 종양내 산소량이 증가하여 방사선감수성이 향상된다는 연구 결과가 있다.³³⁾ 한편 DTZ이 방사선조사 후 발생되는 세포의 치사와 준치사를 억제함으로써 정상조직의 손상을 억제한다고도 하고^{9, 10)} 일부 연구에서는 DTZ이 방사선조사 후 세포 내 칼슘농도를 낮추어 apoptosis의 발생을 억제한다고도 한다.^{7, 8)} DTZ의 apoptosis에 대한 억제작용은 타액선을 대상으로 한 연구에서 입증되었고 DTZ이 혈류량에도 영향을 미쳐 만성 방사선반응을 감소시킬 수 있을 것으로 기대되었으나 예상과 달리 본 실험에서 타액선의 만성 방사선 변화소견인 세포질 내 공포수에 영향을 미치지 못해 이의 역할이 확인되지 못했다. 따라서 PTX, DTZ 모두 세포내 칼슘농도에 관여하고 혈류량에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으나 타액선의 만성 방사선반응에서 억제작용을 보인 것은 PTX 뿐이었고 DTZ은 억제작용을 보이지 않았으며 이를 둘을 동시에 투여해서 얻은 만성 방사선반응 억제작용도 따라서 PTX의 단독작용에 의한 것으로 생각되어 진다.

결론적으로 16 Gy의 방사선조사를 받은 쥐의 타액선에서 PTX 투여, 혹은 PTX과 DTZ 병합투여 결과 만성 방사선손상이 감소되었음을 관찰 할 수 있었으나 DTZ 단독투여에서는 감소효과가 없어 PTX만이 방사선조사 후 발생하는 구강건조증의 부작용을 예방할 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 본 실험결과는 한정된 동물실험에서 얻은 것으로 임상에서의 적용을 위해서는 인체와 유사한 동물을 대상으로 한 연구와 더불어 이들 약제의 subcellular level에서의 작용 기전이 함께 연구되어야 할 것으로 생각한다.

참 고 문 현

1. Million RR, Cassisi NJ. General principles for treatment of the head and neck : Selection of treatment for the primary site and for the neck, Management of head and neck cancer. Edited by Million RR, Cassisi NJ. Philadelphia, J.B. Lippincott, 1984, pp 43-62
2. Enroth C, Henrikson CO, Jakobsson A. Effect of fractionated radiotherapy on salivary gland function. Cancer 1972; 30: 1147-1153
3. Mossman K, Shatzman A, Chencharick J. Long-term effects of radiotherapy on taste and salivary function in man. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1982; 8:991-997
4. Dion MW, Hussey DH, Doornbos JF, et al. Preliminary results of a pilot study of pentoxifylline in the treatment of late radiation soft tissue necrosis. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1992; 22:425-429
5. Koh WJ, Stelzer KJ, Peterson LM, et al. Effects of pentoxifylline on radiation induced lung and skin toxicity in rats. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1995; 31:71-77
6. Kim HB, Suh HS. The effects of pentoxifylline on early and late radiation-induced pulmonary injury in ICR mice. Inje Med Jr 1996; 17:1-17
7. Floersheim GL. Radioprotective effects of calcium antagonists used alone or with other types of radioprotectors. Radiat Res 1993; 133:80-87
8. Yang KM, Suh HS. The effects of diltiazem and pentoxifylline on apoptosis of irradiated rat salivary gland. The Jr of the Kor Soc for Ther Rad Onc 1998; 16:387-376
9. Floersheim GL. Calcium antagonists protect mice against lethal ionizing radiation. Br J Radiol 1992;65:1025-1029
10. Floersheim GL. Radioprotective effects of calcium antagonists used alone or with other types of radioprotectors. Radiat Res 1993; 133:80-87
11. Elzay RP, Levitt SH, Sweeney WT. Histologic effect of fractionated doses of selectively applied megavoltage irradiation on the major salivary glands of the albino rat. Radiology 1969; 93:146-152
12. Shannon IL, Trodahl JN, Starkey EN. Radiosensitivity of the human parotid gland. Proc Soc Exp Biol Med 1978; 157:50-53
13. Marks JE, Davis CC, Gottsman VL, et al. The effects of radiation on parotid salivary function. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1981; 7:1013-1019
14. Mossman KL, Shatzman AR, Chencharick JD. Effects of radiotherapy on human parotid saliva. Radiat Res 1981; 88: 403-412
15. Dreizen S, Brown LR, Handler S, et al. Radiation-induced xerostomia in cancer patients. Cancer 1976;38:273-278
16. Brown LR, Dreizen S, Handler S, et al. Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. J Dent Res 1975; 54:740-750
17. Chencharick JD, Mossman KL. Nutritional consequences of radiotherapy of head and neck cancer. Cancer 1983; 51: 811-815
18. Stephens LC, King GK, Peters LJ, et al. Acute and late radiation injury in rhesus monkey parotid glands. Evidence of interphase cell death. Am J Pathol 1986; 124:469-478
19. Mira JG, Wescott WB, Starke EN, et al. Some factors influencing salivary function when treating with radiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1981; 7:535-541
20. Wescott WB, Mira JG, Starke EN, et al. Alterations in whole saliva flow rate induced by fractionated radiotherapy. Am J Roentgenol 1978; 130:145-149
21. Bloomer WD, Hellman S. Normal tissue response to radiation therapy N Engl J Med 1975; 293:80-83
22. Fajardo LF. Salivary glands and pancreas, Pathology of Radiation Injury. New York, Masson Publishing, USA, 1982, pp 77-87

23. Sholley MM, Sodicoff M, Pratt NE. Early radiation injury in the rat parotid gland. *Lab Invest* 1974; 31:340-354
24. Stephens LC, Schultheiss TE, Price RE. Radiation apoptosis of serous acinar cells of salivary and lacrimal glands. *Cancer* 1991; 67:1539-1543
25. Mossman KL. Quantitative radiation dose-response relationship for normal tissues in man: 11. Response of the salivary glands during radiotherapy. *Radiat Res* 1983; 95:392-398
26. El-Mofty SK, Kahn AJ. Early membrane injury in lethally irradiated salivary gland cells. *Arch Oral Biol* 1972; 17: 1177-1186
27. Harwood TR, Staley CJ, Yokoo H. Histopathology of irradiated and obstructed submandibular salivary glands. *Arch Pathol* 1973; 96:189-191
28. Ward A, Clissold SP. Pentoxifylline: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its therapeutic efficacy. *Drug* 1987; 34:50-97
29. Ambrus JL, Ambrus CM, Gatpar H. Studies on platelet aggregation with pentoxifylline: Effect in neoplastic disorders and other new indications. *J Med* 1979; 10:339-345
30. Sullivan GW, Carper HT, Novick WJ, et al. Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumor necrosis factor(alpha) on neutrophil function by pentoxifylline. *Infec Immunol* 1988; 56:1722-1729
31. Belloc F, Jaloustre C, Dumain P, et al. Effect of pentoxifylline on apoptosis of cultured cells. *J of Cardiovas Pharmacol* 1995; 25(suppl. 2):s71-s74
32. Nelipovich PA, Nikonova LV, Umansky SR. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase as a possible reason for activation of $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -dependent endonuclease in thymocytes of irradiated rats. *Int J Radiat Biol* 1988; 53:749-765
33. Wood PJ, Hirst DG. Modification of tumor response by calcium antagonists in the SCVII/St tumor implanted at two different sites. *Int J Radiat Biol* 1989; 56:355-367

— Abstract —

Modification of Late Radiation Response of Rat Salivary Glands by Pentoxifylline and Diltiazem

Hyun Suk Suh, M.D.* , Kwang Mo Yang, M.D.* , and Yun Kyung Kang, M.D.†

*Departments of Radiation Oncology and †Anatomical Pathology, College of Medicine Inje University, Sanggye Paik Hospital, Seoul, Korea

Purpose : To elucidate the effects of pentoxifylline and diltiazem on the late response of the salivary glands of the rat after irradiation.

Materials and Methods : Sixteen Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups : (a) irradiation alone (b) irradiation with pentoxifylline (PTX) (c) irradiation with diltiazem (DTZ) (d) irradiation with both PTX and DTZ. Irradiation was given in a single fraction of 16 Gy using 4 MV photon energy through an anterior port encompassing the left side of the salivary gland leaving the right side of salivary gland as a control. PTX, 20 mg/kg and/or DTZ, 50 mg/kg were infused intraperitoneally before irradiation. Two rats from each group were sacrificed on the 10th week and the rest was sacrificed on the 16th week after irradiation. Histopathologic examinations were undertaken for each section and the proportion of vacuolated cells out of the total number of cells under light microscopic fields was calculated. The statistical significance in the difference of the proportion of the vacuolated cells among the experimental groups was evaluated by a χ^2 -test.

Results : Irradiated salivary glands of the 10th week group revealed markedly increased number of vacuolated cells compared to those of unirradiated control. The proportion of vacuolated cells was significantly reduced in both the PTX group (p value=0.001) and the combined PTX and DTZ group compared to those of irradiation alone group. The DTZ alone group did not reveal the significant reduction of vacuolated cells compared to those of irradiation alone group (p value, >0.05). The 16th week groups revealed similar findings to those of the 10th week group, but the degree of chronic inflammatory cell infiltrates and interstitial fibrosis was increased and the number of acinar cells was reduced compared to those of the 10th week group.

Conclusions : PTX significantly reduced the late radiation response of salivary glands, but DTZ did not reduce the same degree as PTX did. Taking the positive results of this study into consideration, it seems reasonable to apply PTX into the clinical trial for the head and neck irradiation to reduce the late radiation sequelae of salivary glands in the near future. At the same time the further experiment to clarify the subcellular mechanisms involved in PTX should be preceded.

Key Words : Salivary Glands, Pentoxifylline, Diltiazem, Irradiation, Late radiation response