

## ЛЪЧЕПРОТЕКТИВЕН ПОТЕНЦИАЛ НА РАСТИТЕЛНИ ИЗВЛЕЦИ СРЕЩУ ЕФЕКТИТЕ НА ЙОНИЗИРАЩАТА РАДИАЦИЯ

СВЕТЛАНА ГЕОРГИЕВА, \*БОРИСЛАВ ПОПОВ

Тракийски университет, Аграрен факултет - Стара Загора

\*Тракийски университет, Медицински факултет – Стара Загора

Традиционните медикаменти на растителна основа се оказват полезни за откриването на нови лекарства от природни продукти, за идентифицирането на нови биохимични локуси за лекарствено действие и за разработването на нови класове и типове биоактивни молекули. Понастоящем около 75% от населението използва и зависи от растителни извлекци като средство на традиционната медицина. Има около 121 клинично приложими прескрипционни медикамента, които се базират на свойствата на растителните им съставки. През 1985 г. от всички 3500 новооткрити химически съединения, 2619 са изолирани от висши растения (Abelson, 1990; Kinghorn & Balandrin, 1993). Потенциалът за използването им в бъдещето е огромен, тъй като от предполагаемите в момента 250 000 до 300 000 вида висши растения едва 5 000 са изучени детайлно за евентуално приложение в животновъдството и медицината (Cordell, 1977).

### ЕФЕКТИ НА ЙОНИЗИРАЩАТА РАДИАЦИЯ

Принципно рисковете, свързани с йонизиращата радиация, могат да бъдат разделени на така наречените **стохастични ефекти** (генетични рискове за поколението, соматични ефекти - тумори при популации, подложени на директно въздействие) и **детерминистични ефекти**.

**Детерминистичните ефекти на йонизиращата радиация** обикновено настъпват след излагане на остро облъчване с високи дози (най-вече над 0.5 Gy). Връзката между степента на увреждането и дозата е сравнително добре проучена и известна за определени увреждания. Дадено увреждане настъпва при достигане на една приблизителна прагова доза, под която не се установяват непосредствени последици за живия организъм. Смята се, че детерминистичните ефекти настъпват вследствие на смъртта на големи клетъчни групи в тъканите, подложени на лъчение, което води до разстройство на функциите в съответния засегнат орган. Поради тези свои характеристики, детерминистичните ефекти имат определена важност при лъчевата терапия. Нормалните терапевтични дози са така ограничени, че да бъдат избегнати такива ефекти. Детерминистичните ефекти обикновено настъпват в границите на няколко дни (напр. продромален синдром, гастроинтестинален синдром, ЦНС синдром) или седмици (напр. хематопоеичен синдром, пулмонален синдром) след облъчването. Някои детерминистични ефекти (напр. катаракта, хипотиреоидизъм) обаче се манифестират след период от няколко години и повече (Fry and Michael, 2001). По-голямата част от информацията, касаеща детерминистичните ефекти на йонизиращата радиация, е получена от групи от хора, подложени на лъчетерапия; оцелели след атомните бомбардировки над Хиросима и Нагасаки; при ядрени инциденти и експерименти с животни (Lefaix et al., 1999; Paskalev and Apostolova., 2006).

**Стохастични ефекти.** Характерно за стохастичните ефекти е късната им проява, която се извява при популации, подложени на йонизиращата радиация. За разлика от детерминистичните, при повечето стохастични ефекти се приема, че няма долен праг на въздействие (прагова доза). По отношение на зависимостта доза – ефект се получава стохастично (статистическо, вероятно) разпределение на случаите, т.е. с повишаване на дозата нараства вероятността за заболяване, а не тежестта му (Pierce et al., 2000; UNSCEAR, 2000)

## ОЦЕНКА НА ЛЪЧЕЗАЩИТНИЯ ПОТЕНЦИАЛ НА РАСТИТЕЛНИТЕ ИЗВЛЕЦИ

Най-прагматичният подход за избиране на евентуален кандидат за оценка на лъчезащитните му ефекти е да се направи анализ на вече доказаните и известни свойства на даденото вещество. Ако дадена субстанция притежава противовъзпалителни, антиоксидантни, противомикробни, имуномодулиращи, улавящи свободните радикали или антистрес качества, то тя би могла да действа и като потенциален лъчепротектор и да бъде добър кандидат за анализ на лъчезащитните и качества.

Краткосрочните *in vivo* тестове могат да подсигурят добра основа за детайлна преценка на лъчезащитната активност. Най-елементарният тест включва оценката на липидната пероксидация *in vitro*. Анализът на свободнорадикаловите и антиоксидантните качества на даден фармакологичен агент също така може да даде определени насоки по отношение на лъчепротективния потенциал на такива агенти. Ако бъде установено, че дадено растение или природен продукт инхибира пероксидирането на липидите или улавя свободните радикали, то може да има и качества на потенциален лъчепротектор. Следващата стъпка е да се направи оценка на неговия лъчезащитен потенциал *in vitro* с използването на тестове за оцеляване на клетъчната популация и за микроядра. Ако даденото вещество подобрява клетъчната преживяемост и намалява радиационно предизвиканото формиране на микроядра, то със сигурност има потенциалните качества на лъчепротектор.

Все пак, златният стандарт за лъчепротективна активност си остава оценката на периода на преживяемост от 30 дни при гризачи. Това е така, защото оцеляването на гризачите 30 дни след целотелесно облъчване ясно доказва капацитета на фармакологичния агент в тестови условия да модулира възстановяването и регенерацията на гастроинтестиналния епител и на хемопоетичните прогениторни клетки в костния мозък, които са двата най-лъчечувствителни органа и са от голяма важност за оцеляването и поддържането на живот (Jagetia and Baliga, 2003). Сред най-надеждните процедури е и определянето на доза редуциращия фактор (DRF). При проучванията с животни, доза редуциращите фактори принципно се определят посредством облъчването на мишки със или без прилагането на лъчепротективен агент в определен дозов интервал, като след това се прави сравнителен анализ на крайния резултат. Така например, DRF за 30-дневен период на оцеляване ( $LD_{50/30}$  при третираните с протектора делено на  $LD_{50/30}$  при облъчените, тоест контролната група) ни дава данни за лъчезащитата на хемопоетичната система (Yahas and Storer, 1969; Brown, 1988). При значителна загуба на кръвотворни стволови клетки, смъртта настъпва вследствие на инфекции, кръвоизливи и анемия. Гастроинтестиналният синдром при мишки може да се оцени посредством определянето на преживяемостта до десет дни (мярка за гастроинтестинална смърт) след излагането на сравнително високи дози на облъчване на цялото тяло, докато хемопоетичният синдром може да бъде оценен посредством мониторирането на преживяемостта на облъчените животни до 30 дни след интервенцията (Jagetia et

al., 2002, 2003). Анализът на състоянието на клетките на тънкочревните крипти или на функционалните промени също може да служи като показател за увреждане на гастроинтестиналния тракт (Weiss et al., 1995). Най-информативните и полезни предклинични проучвания правят корелации между протективните ефекти и ефектите на токсичност на агента в един и същи животински модел.

## РАСТЕНИЯТА И ЛЕЧЕБНИТЕ БИЛКИ КАТО ЛЪЧЕПРОТЕКТОРИ

Редица растения са били изследвани за лъчезащитната им активност, като в този обзор представяме данни предимно за тези от тях, които са известни и използвани от българското население.

Hannequin et al. (1986) съобщават, че венозното вливане на спиртен извлек от листата на *Ginkgo biloba* в доза 100 mg/индивид е ефективно при пациенти с вазогенен едем, наблюдаван след облъчване на мозъка. Лечението на работници, участвали във възстановителните работи след аварията в Чернобил, е било ефективно при прилагане на екстракт от *G. biloba* в доза от 40 mg дневно през устата, разделена на 3 приема в продължение на 2 месеца (Emerit et al., 1995).

Данни за лъчезащитните качества на женшен (*Panax ginseng*) са публикувани от няколко изследователи (Kim et al., 1993; 2001; Kumar et al., 2003; Pande et al., 1998; Takeda et al., 1982). Прилагането на женшен води до възстановяване на нормалния брой на тромбоцитите и еритроцитите в кръвта след облъчване (Yonezawa et al., 1985). Zhang et al. (1987) са направили пълен анализ на тоталния извлек от женшен и на относителните протективни ефекти на различните му фракции (въглехидратни, белтъчни и сапонинови). Резултатите показват, че водно разтворимият тотален екстракт от женшен подsigурява най-добра защита срещу радиационно предизвиканите увреждания при СЗН мишки, докато изолираните белтъчни и въглехидратни фракции са с по-малка ефективност, а сапониновата фракция няма никакъв ефект. Kumar et al. (2003) съобщават за лъчепротективен ефект на извлек от корени на женшен върху тестикуларните ензими (кисела и алкална фофатаза и пероксидирането на липиди).

Ментата (*Mentha arvensis* Linn., Family *Lamiaceae*) е растение, произхождащо от Япония. Използва се като хранителна подправка, домашно приготвяно лекарство и за индустриални цели (СНЕМЕХСИЛ. 1992). Третирането на мишки с 10 mg/kg ж.т. хлороформен екстракт от мента ги протектира срещу лъчева болест, както и срещу гастроинтестинални и хематопоеични усложнения и настъпващата от тях смърт, като DRF е 1.2. (Jagetia and Baliga, 2002). Третирането на мишки преди облъчване с екстракт от листата на друг вид мента (*Mentha piperita*) показва, че той ги предпазва от понижаване на кръвните показатели, серумната фосфатаза, ендогенните колонии, формиращи единици в слезката, масата на слезката, нарушаването на морфологията на чашковидните клетки и чревните въси и нарушенията в хромозомната структура (Samarth et al., 2001, 2003).

Грудките на джинджифила (*Zingiber officinale*) се консумират ежедневно из целия свят като подправка и като овкусяващо вещество. Според традиционната система на индийската медицина Аюрведа грудките на джинджифила притежават разнообразни медицински свойства и той широко се използва за приготвянето на няколко лечебни средства (Warrier et al., 1996). В своите проучвания Jagetia et al., (2003, 2004) установяват че прилагането на 10 mg/kg (интраперитонеално) или 250 mg/kg (през устата) на водно алкохолен екстракт веднъж на ден в продължение на 5 последователни дни протектира мишки срещу радиационна болест и срещу гастроинтестинални и хематопоеични усложнения и настъпващата смърт от тях, като DRF е 1.15. Джинджи-

филът също така увеличава нивото на глутатиона, намалява липидната пероксидация *in vivo* и улавя различни свободни радикали *in vitro*.

Според **Singh et al.**, (1995) прилагането през устата на екстракт от чесън за пет дни преди облъчване с 2-Gy  $\gamma$ -радиация води до значително намаляване на микроядрата в полихроматичните еритроцити. *In vitro* проучванията показват, че една от съставките на чесъна, алуцин (S-алилов естер на тио-2-пропен-1-сулфиновата киселина), е ефикасен антимуtagenен агент (**Knasmüller et al.**, 1989). S-алил цистеин сулfoxидът, една сърасъдържаща аминокиселина в чесъна, също така подsigурява известна протекция срещу лъчеиндуцирания леталитет при плъхове (**Jaiswal and Bordia**, 1996).

**Uma Devi et al.**, (2000) съобщават за детайлни проучвания върху флавоноидите ориентин и вицеин, изолирани от *Ocimum sanctum* (индийски свещен босилек, тулази), които проявяват значителен протективен ефект срещу лъчевата травма, ако се приложат преди облъчването. DRF за 30-дневната преживяемост при мишки, третирани (IP) 30 min преди облъчването с ниски дози (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) е 1.30 за ориентина и 1.37 за вицеина. Веществата не са показали значителна ефективност, когато са били приложени след облъчването (**Uma Devi et al.**, 1999).

В проучванията на български автори се съобщава за антибактериална и антиоксидантна активност на екстракт от балканския реликтен ендемит *Haberlea Rhodopensis*, известен още като „орфеево цвете“ (**Radev et al.**, 2009; **Ivanov et al.**, 2009). В наши проучвания установихме, че прилагането на тотален екстракт от *Haberlea Rhodopensis* преди облъчване с йонизираща радиация показва антикластогенен ефект, изразяващ се в намаляване на честотата на индуцираните от  $\gamma$ -лъчите хромозомни аберации и микроядра в лимфоцити от периферна кръв на зайци (**Popov et al.**, 2010, 2011). Установихме и протективен ефект на екстракта върху клетъчната антиоксидантната система на зайци в условия на оксидативен стрес, предизвикан от  $\gamma$ -облъчване (**Popov et al.**, 2011).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Напоследък основният фокус за лъчепротекция е насочен към тестването на лъчепротективния потенциал на растенията и билките с надеждата, че един ден рано или късно ще бъде възможно откриването на подходящи фармакологични агенти, които да могат да защитят хората от пагубните ефекти на йонизиращата радиация в клинични и други условия, както и по време на ядрена терористична атака. По-голямата част от растенията и лечебните билки, разгледани в този обзор, притежават доказани медицински качества и се използват широко в бита и за лечуването на различни болести. Те оказват защитното си действие срещу радиационно предизвиканите увреждания посредством улавянето на свободни радикали и подобряването на антиоксидантния статус. Фракциониранията внимателни преценки и анализи биха могли да доведат до внедряването на идеалните лъчепротектори в близкото бъдеще.

## ЛИТЕРАТУРА

1. **Abelson, P.**, 1990. Editorial. *Science* 247:513.
2. **Brown, D. Q., Graham, W. J., Mackensie, L. J., Pittock, J. W., and Shaw, L.**, 1988. Can WR-2721 be improved upon. *Pharmacol. Ther.*, 39, 157–168.
3. **CHEMEXCIL**, 1992. Selected medicinal plants of India. Basic Chemicals, Pharmaceutical and Cosmetic Export Promotion Council, Bombay 400 039, India, pp. 205–207.
4. **Cordell, G. A.**, 1977. Recent experimental and clinical data concerning antitumour and cytotoxic agents from plants. Pages 54 - 81 in H. Wanger & P. Wolff, eds., *New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity*. Springer-Verlag, Berlin.

5. Emerit, I., Oganessian, N., Sarkisian, T., Arutyunyan, R., Pogosian, A., Asrian, K., Levy, A. and Cernjavski, L., 1995. Clastogenic factors in the plasma of Chernobyl recovery workers: Anticlastogenic effects of Ginkgo biloba extract. *Radiat. Res.*, 144, 198–205.
6. Fry, R., J. Michael, 2001. Deterministic Effects. *Health Physics: Volume 80 - Issue 4* pp: 313-425, April.
7. Hannequin, D., Thibert, A., and Vaschalde, Y., 1986. Development of a model to study the anti-oedema properties of Ginkgo biloba extract. *Presse Med.*, 15, 1575–1576.
8. Ivanov, V. R. Radev, K. Sokolova, Zh. Tsokeva, L. Pyrovski, 2009. Antioxidant activity on total extract of *Haberlea Rhodopensis* (Friv.) International Science conference 4th - 5<sup>th</sup> June, Stara Zagora, Bulgaria pp 50-52.
9. Jagetia, G. C. and Baliga, M. S., 2002. Influence of the leaf extract of *Mentha arvensis* Linn. (mint) on the survival of mice exposed to different doses of gamma radiation. *Strahlenther Onkol.*, 178, 91–98.
10. Jagetia, G. C. and Baliga, M. S., 2003. The evaluation of the radio-protective effect of the leaf extract of *Syzygium cumini* (Jamun) in the mice exposed to lethal dose of radiation. *Nahrung/Food*, 47, 181–185.
11. Jagetia, G. C., Baliga, M. S., and Venkatesh, P., 2004. Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.), a dietary supplement, protects mice against radiation-induced lethality: mechanism of action. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 19, 422–435.
12. Jagetia, G. C., Baliga, M. S., Aruna, R., Rajanikant, G. K., and Jain, V., 2003. Effect of abana (a herbal preparation) on the radiation- induced mortality in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 86, 159–165.
13. Jagetia, G. C., Baliga, M. S., Venkatesh, P., and Ulloor, J. N., 2003. Influence of ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. *Radiat Res.*, 160, 584–592.
14. Jagetia, G. C., Shrinath Baliga, M., Malagi, K. J., and Sethukumar Kamath, M., 2002. The evaluation of the radioprotective effect of Triphala (an Ayurvedic rejuvenating drug) in the mice exposed to gamma-radiation. *Phytomedicine*, 9, 99–108.
15. Jaiswal, S. K., Bordia, A., 1996. Radio-protective effect of garlic *Allium sativum* Linn. in albino rats. *Indian J. Med. Sci.* 50, 231-233.
16. Kim, S. H., Cho, C. K., Yoo, S. Y., Koh, K. H., Yun, H. G., and Ki, M. T. H., 1993. In vivo radioprotective activity of *Panax ginseng* and diethyldithiocarbamate. *In Vivo*, 7, 467–470.
17. Kim, S. H., Son, C. H., Nah, S. Y., Jo, S. K., Byun, M. W., and Shin, D. H., 2001. Modification of radiation response in mice by *Panax ginseng* and diethyldithiocarbamate. *In Vivo*, 15, 407– 411.
18. Kinghorn, A. D. & M. F Balandrin, 1993. Human medicinal agents from plants. *Amer. Chem. Soc. Symp. Ser.* 534: 1-348.
19. Kumar, M., Sharma, M. K., Saxena, P. S., and Kumar, A., 2003. Radioprotective effect of *Panax ginseng* on the phosphatases and lipid peroxidation level in testes of Swiss albino mice. *Biol. Pharm. Bull.*, 26, 308–312.
20. Lefaix, J., S. Delanian, M. Vozenin, J. Leplat, Y. Tricaud, M. Martin, 1999. Striking regression of subcutaneous fibrosis induced by high doses of gamma rays using a combination of pentoxifylline and  $\alpha$ -tocopherol : An experimental study. *International journal of radiation oncology, biology, physics.* vol. 43, n4, pp. 839-847 (57 ref.).
21. Pande, S., Kumar, M., and Kumar, A., 1998. Evaluation of radio- modifying effects of root extract of *Panax ginseng*. *Phytother. Res.*, 12, 13–17.
22. Paskalev, Z. D., D. B. Apostolova, 2006. Development of Fibrous Process in the Rats Lung After

External (Gamma Rays) and Internal (Ce-144) Exposure with Ionizing Radiation . World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2006. COEX Seoul, Korea Imaging the Future Medicine, August 27 – September 1.

**23. Pierce, D. A., D. L. Preston,** 2000. Radiation-related cancer risks at low doses among atomic bomb survivors. *Radiat Res*; 154: 178–86.

**24. Popov, B., Georgieva, S. V. Petrov,** 2011. "Radioprotective, anticlastogenic and antioxidant effects of total extract of *Haberlea Rhodopensis* on rabbit blood samples exposed to gamma radiation *in vitro*". *Revue Méd. Vét.*, 162, 1, 34-39.

**25. Popov, B., Radev R. & S. Georgieva,** 2010. In vitro incidence of chromosome aberrations in gamma-irradiated rabbit lymphocytes, treated with *Haberlea rhodopensis* extract and vitamin C". *Bulg. J. Vet. Med.*, 13, No 3, pp. 148-153 ,

**26. Radev, R., G. Lazarova, P. Nedialkov, K. Sokolova, D. Rukanova, Zh. Tsokeva,** 2009. Study on antibacterial activity of *Haberlea Rhodopensis*. *Trakia Journal of Sciences*, Vol. 7, No. 1, pp 34-36.

**27. Samarth, R. M. and Kumar, A.,** 2003. *Mentha piperita* (Linn.) leaf extract provides protection against radiation induced chromosomal damage in bone marrow of mice. *Indian. J. Exp. Biol.*, 41, 229–237.

**28. Samarth, R. M., Goyal, P. K., and Kumar, A.,** 2001. Modulatory effect of *Mentha piperita* (Linn.) on serum phosphatases activity in Swiss albino mice against gamma irradiation. *Indian. J. Exp. Biol.*, 39, 479–482.

**29. Singh, S. P., Abraham, S. K., Kesavan, P.C.,** 1995. In vivo radioprotection with garlic extract. *Mutat. Res.* 345, 147-153.

**30. Takeda, A., Katoh, N., and Yonezawa, M.,** 1982. Restoration of radiation injury by ginseng III. Radioprotective effect of thermostable fraction of ginseng extract on mice, rats and guinea pigs. *J. Radiat. Res.*, 23, 150–167.

**31. Uma Devi, P., Ganasoundari, A., Rao, B. S. S., Srinivasan, K. K.,** 1999. In vivo radioprotection by *Ocimum flavinoids*: survival of mice. *Radiat. Res.* 151, 74-78.

**32. Uma Devi, P., Ganasoundari, A., Vrinda, B., Srinivasan, K. K., Unnikrishnan, M. K.,** 2000. Radiation protection by the *ocimum flavonoids orientin and vicenin*: mechanisms of action. *Radiat. Res.* 154, 455-460.

**33. UNSCEAR,** 2000. Sources and effects of ionizing radiation. Report to the General Assembly of the United Nations with Scientific Annexes, United Nations sales publication E.00.IX.3, New York.

**34. Warriar, P. K., Nambiar, V. P. K., and Ramankutty, C.** 1996. *Indian medicinal plants*. Orient Longman Ltd., Hyderabad, India, 5, pp. 225–228.

**35. Weiss, J. F., Landauer, M. R., Gunter-Smith, P. J., and Hanson, W. R.,** 1995. Effect of radioprotective agents on survival after acute intestinal radiation injury. in *Radiation and the Gastrointestinal Tract*, eds. By Dubois, A., King, G.L., and Livengood, D.R., CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 183–199.

**36. Yonezawa, M., Katoh, N., and Takeda, A.,** 1985. Restoration of radiation injury by ginseng. IV. Stimulation of recoveries in CFU and megakaryocyte counts related to the prevention of occult blood appearance in x-irradiated mice. *J. Radiat. Res.*, 26, 436–442.

**37. Yuhas, J. M. and Storer, J. B.,** 1969. Chemoprotection against three modes of radiation death in the mouse. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.*, 15, 233–237.

**38. Zhang, J. S., Sigdestad, C. P., Gemmell, M. A., and Grdina, D. J.,** 1987. Modification of radiation response in mice by fractionated extracts of *Panax ginseng*. *Radiat. Res.*, 112, 156–163.