

РАДИОПРОТЕКТОРНИ СВОЙСТВА НА РАЗЛИЧНИ РАСТЕНИЯ

¹Живка Цокева, ¹Камелия Соколова, ²Веселин Иванов,

¹Катедра физиология, патофизиология и фармакология, ²Катедра по химия и биохимия, Медицински факултет, Тракийски университет, Армейска 11, Стара Загора

RADIOPROTECTIVE PROPERTIES OF DIFFERENT HERBS

¹Zhivka Tsokeva, ¹Kameliya Sokolova, ²Veselin Ivanov

¹Dept. of physiology, pathophysiology and pharmacology, ²Dept. of Chemistry and Biochemistry, Medical Faculty, Trakia University, 11 Armeiska str., Stara Zagora
e-mail: veskoasenov@abv.bg

ABSTRACT

Ionizing radiation has two very different uses in medicine — for diagnosis and therapy. The inherent properties of ionising radiation provide many benefits but also may cause potential harm and the benefit must outweigh the risk. There is a need to protect humans against such effects of ionizing radiation. Despite the many scientific researches, problems about damageable effect remain unsolved. The aim of this report is to view plants and herbal extracts with potentially radio protective properties.

Key words: ionizing radiation, damage, plants, radio protective properties

Йонизиращите лъчения са се утвърдили като съществен елемент в съвременната медицинска диагностика и терапия. Медицинското използване на йонизиращи лъчения обхваща клоновете на медицината като ядрена медицина (използва радиоизотопи за специфична медицинска диагностика и лечение), радиологично образно изследване (диагностично използване на рентгенови лъчи) и радиотерапия (лъчелечение на туморни заболявания).

Разширяващото се приложения на йонизиращи лъчения поражда загриженост, тъй като въздействието им върху човешкото тяло е свързано с известни рискове, най-вече от страна на здравите тъкани.

Биологични ефекти на йонизиращата радиация са свързани със способността им да йонизират средата през която преминават. Около 50% от погълнатата доза от клетките се поема от съдържащата се в нея вода, а останалата от различни клетъчни органели и йонизацията на атоми и молекули в клетката е в основата на биологичния ефект на йонизиращите лъчения. Повлияването на живите организми става по директен (пряк) и индиректен (косвен, непряк) начин. Като пряко действие се определя йонизацията на клетъчните структури и органичните молекули, а като непряк път на въздействие се отчита йонизацията на водата в клетката.

При прякото действие на трансферът на радиационна енергия води до химично увреждане на молекули с важно значение за биологичните функции. Увреждането на нуклеиновите киселини се последва от нарушения на клетъчното делене, клетъчна смърт, деплеция на депата на стволови клетки, органа и системна дисфункция, а ако радиационната доза е висока и биологична смърт на индивида. Абсорбцията на радиационна енергия от други важни биомолекули като тези на липидите, протеините и въглехидратите, също води до увреждане на молекулярната им структура и функции.

Неп прякото въздействие е свързано йонизиране и радиолиза на водната молекула и образуване на високоактивни радикали. Те бързо влизат в реакции с молекулите на различни разтворени в клетката вещества, което отключва верижен патологичен процес и води до допълнително образуване на активни вторични радикали.

Остро облъчване с определени надпрагови дози (над 0.5Gy) се последва от смъртта на големи клетъчни групи в облъчваните органи и разстройство на функциите им, определяни като детерминистични ефекти. Описани са различни детерминистични синдроми, които настъпват след различен период от време - от няколко дни, до няколко седмици и години: кожно-лигавичен, гастроинтестинален синдром, хемопоеичен синдром, ЦНС синдром, катаракта, хипотиреоидизъм.[1,2] При лъчетерапията са от значение именно детерминистичните ефекти.

В дългосрочен план вредният ефект на йонизиращите лъчения се описва с така наречените стохастични ефекти, свързани с увреждания на генетичния материал на клетките. Те се проявяват като различни видове тумори при директно изложените на лъчевото въздействие. Налице е и повишен генетичен риск за поколенията поради различни видове мутации в генния апарат на облъчените:

- геномни мутации – изменения в хаплоидния набор на хромозомите.
- хромозомни аберации (структурни изменения в хромозомите).
- генни или точковидни мутации (изменения в молекулярната структура на гените).

Различните тъкани имат различна лъчечувствителност и тя по принцип е правопрпорционална на репродуктивната активност на клетките и обратнопрпорционална на морфологичната и функционалната им диференциация. Най-чувствителни са хемопоеичните клетки, клетките на репродуктивната система, епидермалните клетки, клетките на гастроинтестиналната лигавица.

Радиопротекцията е особено важна при лъчелечението на тумори, поради риска от увреждане на здравите тъкани. Този риск може да се намали с намаляване на лъчевата доза, но това може да доведе до намаляване ефикасността на противотуморното лечение. Търсенето на оптимално съотношение между полза и риск и разработването на ефективни средства за радиопротекция е обект на дългогодишни научни търсения. Това направление се развива с особено интензивни темпове през последните десетилетия. [3,4,5,6]

Добрият радиопротектор трябва да бъде нетоксичен в широк дозов диапазон, да има комплексен механизъм на действие, лесен начин на прилагане (за предпочитане през устата или интрамускулно), с липсваща или ниска кумулативна токсичност при многократно прилагане и да бъде на достъпна цена. В лабораторни условия се тестват стотици синтетични съединения, но те не стигат до клинично приложение на хора поради висока токсичност или липса на сигнификантен протективен ефект. Към настоящия момент няма наличен достатъчно ефикасен и безопасен синтетичен радиопротектор с изключение на амифостин, който се използва за протекция на здравите тъкани при химио- и лъчетерапия при онкологично болни. [7,8] От тази гледна точка усилията на изследователите са насочени към търсене и изолиране на алтернативни субстанции от естествен, в частност от растителен произход, които да са с подобрена ефективност и по-ниска токсичност. [9,10] Биологично активните вещества в растенията могат да служат и като основа на химични преобразувания или нови програмирани химични синтези за създаване на клинично приложими радиопротективни съединения.

От фармакологична гледна точка нищо не може да се направи за да се предотврати първоначалния пренос на радиационна енергия към критични биомолекули. Усилията следва да се насочат към намаляване на пораженията на клетъчно и тъканно ниво и главно чрез намаляване вътреклетъчната концентрация на свободните радикали и реактивните кислородни видове. Улавянето им от различни химични агенти води до образуването на стабилни нетоксични крайни продукти и така се предпазват биологичните им таргети. Тъй като реактивните кислородни видове изчерпват клетъчните антиоксидантни системи, един от възможните радиопротективни стратегии на клетъчно ниво е да се попълнят антиоксидантните депа, използвайки фармакологични варианти на естествени

антиоксидантни ензими като супероксид дисмутаза, например. Много радиопротекторни агенти действат именно по този начин. [11] Една от главните мишени на йонизиращите лъчи и източник за продукцията на реактивни кислородни видове е кислородът. Именно поради тази причина хипоксичните туморни клетки са с по висока резистентност от здравите. Този факт поражда идеята да се намали оксигенацията на тъканите, което да доведе до отслабване на увреждащия ефект на радиацията. Това обаче е потенциално опасно за нормалните физиологични функции и този механизъм на радиопротекция не е сред най-перспективните. Увеличение на радиорезистентността може да постигне и с използват и различни дисулфидни формации, които да предпазват протеините, както и с повишаване концентрацията на свободните, несвързани с протеини тиоли в клетката. Друга възможна терапевтична стратегия е използването на различните видове цитокини. [14] Големи са очакванията към фармакологични агенти, повлияващи стволовите клетки и особено хемопоезичните, които са най-силно засегнати при радиационен контакт. [15] Особени надежди се възлагат на натуралните продукти, притежаващи антиоксидантно и имуностимулиращо действие. Много растителните екстракти, наред с други медицински свойства като антибактериални, противовъзпалителни, антиоксидантни, имуностимулиращи, антимулагенни и др, имат изразени в различна степен лъчепротективни ефекти. Повишаването на радиорезистентността се свързва с наличието на различни биологични субстанции - витамини Е и С, фолиева киселина, глутамин, мелатонин, флавоноиди, полифеноли, полиамини, тиоли. Предполага се участието на множествени механизми в реализацията им при водеща роля на потискане на образуването на свободни радикали и повишаване на активността на естествените клетъчни антиоксидантни ензими (супероксид дисмутазата, глутатион пероксидаза, глутатион трансфераза, каталаза). Редукцията на липидната пероксидация и увеличение на несвързаните с белтъците сулфхидрилни групи също могат да имат значение. **Чесънът** (*Allium sativum*), който е известен с антимикробните и кардиопротективните си свойства, с хипогликемичния и антитромботичните си ефекти, притежава също и радиопротективни свойства. Има доказателства, че лъчепротекцията се реализира чреа повишаване на антиоксидантния капацитет на клетките. В растителните екстракти е доказано наличието на голямо количество сулфхидрилни компоненти, които имат отношение към на антиоксидантните свойства на клетките и в крайна сметка се стига до намаляване на свободните радикали, отговорни за радиационно-индуцираните ДНК увреждания. Радиопротективният ефект стои в основата на антимулагенния и антиканцегогенния ефект на чесъна по отношение на химични и йонизиращи агенти. [16,17] **Алое вера** (*Aloe vera*) в традиционната източна медицина алое има широка гама от приложения – при обстипация, епилепсия, кожни рани и възпаления, при затлъстяване и хиперлипидемия, акне, за повишаване на имунната защита. Доказан е и радиопротективен ефект на растителен екстракт, който вероятно се дължи на съдържащите се в растението полизахариди. [18] **Женшенът** (*Panax ginseng*), известен с кардиопротективните си свойства, намалява честотата на радиационно индуцираната клетъчна апоптоза.[19] **Джинджифилът** (*Zingiber officinale*), който притежава множествена фармакологична активност (противовъзпалителна, антинеопластична) доказано намалява увреждането на костния мозък от радиацията. Биохимичното ниво на клетъчната протекция вероятно е свързано с протекция на антиоксидантните ензими и редукция на липидната пероксидация. [20] В народната медицина листа от мента се използват за облекчаване на различни стомашно-чревни оплаквания (обстипация, диспепсия, флатуленция, гастрит, ентерит). Известни са още жлъчегонно, седативно и антиеметично действие. Последното може да бъде полезно за протекция или намаляване на радиационно индуцираните гадене и повръщане. При две от разновидностите на ментата (*Mentha piperita and arvensis*) е доказано, че пероралното прилагане на екстракт от мента преди облъчване с гама-лъчи намалява честотата на уреждане на гастро-интестиналната лигавица, както и пораженията върху най-

радиочувствителните тъкани като далак, костен мозък и репродуктивни органи. Наблюдавано е увеличаване на преживяемостта на опитните животни. [21,22] В листата на ментата се съдържат повече от 40 биологично активни вещества. Радиопротективните свойства на растителния екстракт имат комплексен механизъм най-вероятно се дължат на намаляване на оксидативния стрес, липидната пероксидация, антиинфламаторния, антимуtagenния и антикластогенния ефекти. Значение има повишаване на активността на глутатиона, антиоксидантните ензими, свързването на металите (хелатообразуване). [23,24] Полезните медицински качества на разгледаните растения са широко известни и те се предлагат под формата на различни хранителни добавки. Не така стои въпросът с родопския силвряк, който е все още слабо проучено растение от медицинска гледна точка и не се предлага за медицински нужди под никаква форма.

Родопският силвряк (*Haberlea rhodopensis*) е уникално растение със способността си да изпада в състояние на продължителна анабиоза при неблагоприятни условия и отново да се възстановява при промяна на жизнените условия. Това предизвиква огромния интерес към *Haberlea rhodopensis* освен на биолози, ботаници, биофизици и химици, така и на медицинските учени. [25] През последните години растението привлича вниманието на изследователите от гледна точка на полезните му ефекти върху здравето на хората. Наш колектив установи наличие на антибактериална и антиоксидантна активност на екстракт от листата на растението. [26] Съставките на екстракта предпазват от образуването на свободни радикали или ги разрушават, взаимодействайки с тях, повишават нивата на клетъчните антиоксидантни ензими, засилват механизмите на репарация на ДНК. [27] Приложен върху опитни животни преди облъчването им с йонизираща радиация екстрактът демонстрира антикластогенен ефект, изразяващ се в намаляване честотата на индуцираните от гама-лъчи хромозомни аберации. [28] Установен е и протективният му ефект върху клетъчната антиоксидантна система на зайци в условията на оксидативен стрес, предизвикан от гама-облъчване. [29,30] Това дава основание да се предполага, че растителният екстракт или изолирани отделни негови съставки могат да имат ефективно лъчепротективно действие. Предполага се водещо участие на полифенолите, чието присъствие в екстракта е доказано. [31] Установено е, че тоталния екстракт *Haberlea Rhodopensis* е имуномодулатор, който притежава имуностимулираща активност върху хуморалния имунен отговор. Имуностимулираща активност е най-силно изявена при вторичния хуморален имунен отговор и се изразява със значимо повишен титър на специфичната IgG антиялопродукция при зайци. [32] Имуностимулиращата активност се отчита в условия на третиране с йонизираща радиация (γ -лъчи), като най-висока е когато екстракта се въвежда след облъчването. Тази имуностимулация се изразява чрез повишен титър на всички класове имуноглобулини – IgG, IgA и IgM при първичен и вторичен имунен отговор. Необходими са допълнителни проучвания за изясняване на биоактивните компоненти, участващи в реализацията на тези ефекти, както и механизмите на лъчепротекцията

Често срещаните се у нас растения бял трън и лавандула също предизвикват интерес с множествената си биологична активност. Има много данни за радиопротекторните свойства на белия трън (*Silibum marianum*). [33, 34, 35] Качествата на лавандулата (*Cynara Scolymus L* като радиопротектор са изследвани чрез ЕПР-метод (електронен парамагнитен резонанс) [36]. Смята се, че това е един от най-добрите методи за доказване на радиопротективни свойства [37, 38].

Заклучение

Увеличаване на толерантността на здравите тъкани спрямо вредните ефекти на йонизиращата радиация чрез прилагането на радиопротектори значително ще подобри хода и успеха на противотуморната терапия. Много растения демонстрират радиозащитни свойства и предизвикват научен интерес с оглед предимствата на натуралните пред химичните

радиопротектори. Необходими са множество допълнителни проучвания за изясняване на биологично-активните вещества и механизмите по които се реализира радиопротекцията на растителните продукти.

Библиография

1. Fry R., Michael, J. Deterministic effects. *Health Physics*, 80(4):313-425, 2001.
2. Lefaix, J., Delanian, S., Vozenin, M., Lepla, J., Tricaud, Y., Martin, M. Striking regression of subcutaneous fibrosis induced by high doses of gamma rays using a combination of pentoxifylline and alfa-tocoferol. An experimental study. *International Journal of radiation oncology, biology, physics*, 43(4):839-47, 1999.
3. Arora, R., Gupta, D., Chawla, R., Sagar, R., Sharma, A., Kumar, R. et al. Radioprotection by plant products: Present status and future prospects. *Phytother Res*;19:1-22, 2005.
4. Hosseinimehr S. Trends in the development of radioprotective agents. *Drug Dis Today*;12:794-805, 2007.
5. Georgieva S., Popov, B., Milochev, G., Bonev, G. Cellular DNA damage and lipid whole body gamma irradiation and treatment with *Haberlea rhodopensis* extract in rabbits. *Revue Med. Vet.* 163, 12, pp 572-576, 2012.
6. Georgieva, S., Popov, B., Bonev, G. Radioprotective effect of *Haberlea rhodopensis* (Friv.) leaf extract on γ -radiation-induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant levels in rabbit blood.. *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol. 50, 2012.
7. Kouvaris, J., Kouloulis, V., Vlahos, L. "Amifostine: the first selective-target and broad-spectrum radioprotector". *Oncologist*, 12 (6): 738-47, 2007.
8. Wasserman, T.H., Brizel, D.M., Henke, M. et all. Influence of intravenous amifostine on xerostomia, tumor control, and survival after radiotherapy for head-and- neck cancer: 2-year follow-up of a prospective, randomized, phase III trial. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 63(4):985-990, 2005;
9. Popov, B., Georgieva, S., Lalchev, S., Miloshev, G., Radev, R. „Cellular DNA damage and lipid peroxidation after whole body gamma irradiation and treatment of total extract of *haberlea rhodopensis*”. 9th Balkan Congress of Medical Genetics, Timisoara, Romania, 15-17 September, 2011. *Balkan Journal of Medical Genetics*, Vol. 14 Supplement, 40, 2011.
10. Popov, B., Georgieva, S., Lalchev, S. "Haberlea rhodopensis extract protects against gamma-irradiation induced clastogenicity". 8th European Cytogenetics Conference, Porto, Portugal, 02-05 July, 2011. *Chromosome Research*, Vol. 19 Supplement 1. S122, 2011.
11. Popov, B., S. Georgieva, V. Petrov. "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, 2011.
12. Vacek, A., Tacev, T., Hofer, M. Modulation of radioprotective effects of respiratory hypoxia by changing the duration of hypoxia before irradiation and by combining hypoxia and administration of hemopoiesis-stimulating agents. *Strahlenther Onkol* ;177(9):474-81, 2001.
13. Allalunis-Turner, M.J., Valden, Jr, Sawich, C. Induction of marrow hypoxia by radioprotective agents. *Radiat Res*, 118 (3): 581-6, 1989.
14. Singh, K., Yadav, S. Role of cytokines and growth factors in radioprotection. *Experimental and molecular pathology*, 78 (2),156-169, 2003.
15. Cramer, D., Allendorf, D.J., Baran, T., Hansen, R., Marroquin, J. et al β - Glucan enhances complement-mediated hematopoietic recovery after bone marrow injury *Blood* 107 (2) 835-840, 2006.
16. Batcioglu, K., Yilmaz, Z., Satilmis, B., Uyumlu, A.B., Erkal, H.S., Yucel, N., Gunal, S., Serin, M., Demirtas, H. Investigation of in vivo radioprotective and in vitro antioxidant and antimicrobial activity of garlic (*Allium Sativum*). *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 16 (3): 47-57, 2012.

17. Chang, Hye-Sook, Endoh, D., Ishida, Y., Takahashi, H. et al. Radioprotective Effect of Alk(en)yl Thiosulfates Derived from Allium Vegetables against DNA Damage Caused by X-Ray Irradiation in Cultured Cells: Antiradiation Potential of Onions and Garlic. *The Scientific World Journal*, Volume 2012.
18. Goyal, P., Gehlot P. Radioprotective effects of Aloe vera leaf extract on Swiss albino mice against whole-body gamma irradiation. *J environ pathol toxicol oncol.* 28(1):53-61, 2009.
19. Lee, H., Kim, S., Kim, J., Kang, C., Lee, Y., Jo, S., Kim, T., Jang, J., Nah, S., Kim, S. In Vivo radioprotective effect of Panax ginseng C.A. Meyer and identification of active ginsenosides. *Phytother Res.* 5):392-5, 2006.
20. Thokchom, D.S., Sharma, T.D. and Sharma, G.J. Radioprotective effect of rhizome extract of Zingiber montanum in Rattus norvegicus. *Radiation and Environmental Biophysics*, 51(3):311-318, 2012.
21. Jagetia, G.C., Baliga, M.S. 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(2):91-8, 2002.
22. Jagetia, G.C., Baliga, M.S., Samarth, R.M., Kumar, A. Radioprotection of Swiss albino mice by plant extract Mentha piperita (Linn.). *J Radiat Res.* 44:101, 2003.
23. Samarth, R.M., Panwar, M., Kumar, M., Kumar, A. Radioprotective influence of Mentha piperita (Linn) against gamma irradiation in mice: Antioxidant and radical scavenging activity. *Int J Radiat Biol*, 82(5): 331-7, 2006.
24. Dorman, H.J., Kořar, M., Bařer, K.H., Hiltunen, R. Phenolic profile and antioxidant evaluation of Mentha piperita L. (peppermint) extracts. *Nat Prod Comm*, 4:535-42, 2009.
25. Попов, Б. Антимутагенен потенциал на тотален екстракт от Haberlea rhodopensis . Дисертация за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”, Стара Загора, 198 стр., 2012.
26. Радев, Р., Лазарова, Г., Недялков, П., Соколова, К., Руканова, Д., Цокева, Ж. Study on antibacterial activity of Haberlea rhodopensis. *Trakia Journal of sciences*, 7(1):34-37, 2009.
27. Попов, В., Радев, Р., Georgieva, S. 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, 2010.
28. Попов, В., Georgieva, S., Lalchev, S.” Haberlea rhodopensis extract protects against gamma-irradiation induced clastogenicity”. 8th European Cytogenetics Conference, Porto, Portugal, 02-05 July, 2011. *Chromosome Research*, Vol. 19 Supplement 1. S122, 2011.
29. Попов, В., Georgieva, S., Lalchev, S. Radioprotection from genetic damages by resurrection plant Haberlea rhodopensis – in vivo/in vitro study with rabbits. *Trakia Journal of Science*, 10,(3):41-47, 2012.
30. Попов, В., Georgieva, S., Lalchev, S., Miloshev, G., Radev, R. „Cellular DNA damage and lipid peroxidation after whole body gamma irradiation and treatment of total extract of haberlea rhodopensis”. 9th Balkan Congress of Medical Genetics, Timisoara, Romania, 15-17 September, 2011. *Balkan Journal of Medical Genetics*, Vol. 14 Supplement, 40, 2011.
31. Bercov, S., Nikolova, M., Hristozova, N., Momekov, G., Ionkova, I., Djilianov, D. GC-MS profiling of bioactive extracts from Haberlea rhodopensis: an endemic resurrection plant. *J.Serb. Chem. Soc*, 76(2): 211-220, 2011.
32. Попов, В., Добрева, З., Georgieva, S., Stanilova, S. „Enhancement of anti-killhigg antibody production in rabbits after treatment with haberlea rhodopensis extract”. *Trakia Journal of Sciences*, Vol.8, Suppl.2, pp 92-97, 2010.
33. Иванов, В., Атанасов, В., Райкова, Е., Райков, З. Квантово-химични изследвания на силибин. *Trakia Journal of Sciences*. Volume 6, Number 2, suppl. 1, 37-39, 2008.

34. Adhikari, M., Ivanov, V., Dhaker, A., Sharma, J., Gadjeva, V., Sharma, R., Arora R. The radioprotective properties of Silymarin for the management of radiological incidents. *Advanced biotech.* Vol. 10, Issue 05, p. 28, November 2010.
35. Adhikari, M., Arora, R., Chawla, R., Sharma, J., Dhaker, A., Gupta, D., Dubey, N., Kumar, R., Ivanov, V., Gadjeva, V., Gevrenova R., Sharma R. Evaluation of Silymarin as a Promising Radioprotector. *Z. Naturforsch.* 65 c, 337-346, 2010.
36. Georgieva, E., Karamalakova, Y., Nikolova, G., Grigorov, G., Pavlov D., Gadjeva, V., Zheleva, A. Capacity of seeds and leaves ethanol extracts of *Cynara Scolymus L*– a comparative study. *Biotechnology & biotechnol. Eq.* 26/2012/SE 50 Years Roumen Tsanev Institute of special edition/on-line Molecular biology, 06-07, Sofia, pp 151-155, October 2011.
37. Zheleva, A., Karamalakova, Y., Nikolova, G., Kuma,r R., Sharma, R., Gadjev, V. A new antioxidant with natural origin characterized by electron paramagnetic resonance spectroscopy methods. *Biotechnology & biotechnol. Eq.* 26/2012/SE 50 Years Roumen Tsanev Institute of special edition/on-line Molecular biology, 06-07, Sofia, pp 146-150, October 2011.
38. Rana, S., Chawla, R., Kumar, R., Singh, S., Zheleva, A., Dimitrova, V., Gadjeva, V., Arora, R., Sultana, S., Sharma, R.K. Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy in Radiation Research: Current Status and Perspectives. *J Pharm BioAllied Science* 2(2): 80-87, 2010.