

Iwona Wawer^{1, 2}, *Katarzyna Paradowska²

Roślinne surowce radioprotekcyjne

Plant radioprotective raw materials

¹Zakład Zielařstwa, Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krońnie

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Iwona Wawer

²Zakład Chemii Organicznej i Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik Zakładu: dr hab. n. farm. Piotr Luliński

SUMMARY

Plant raw materials with radioprotective effects can be employed in a variety of forms, including food, functional foods, and dietary supplements. Such materials are required for the protection of pilots and astronauts from the effects of cosmic radiation, for patients undergoing treatment with ionising radiation, and for the general population residing in areas contaminated with radioisotopes following nuclear power plant disasters. Radiotherapy represents one of the primary methods of cancer treatment. In addition to its efficacy in eradicating malignant cells, ionising radiation also inflicts damage upon healthy, radiation-sensitive cells, thereby impairing their functions. It is therefore of paramount importance to safeguard healthy cells from its detrimental effects. Fruits and vegetables contain components that possess antioxidant and radioprotective effects. Such compounds include vitamins A, C and E, flavonoids (quercetin) and carotenoids (lycopene). A substantial body of evidence indicates that synthetic radioprotective agents are toxic at higher doses and have adverse effects. It is therefore unsurprising that there is a growing interest in plant preparations, particularly those used in traditional medicine. This paper presents the results of a number of studies on the radioprotective properties of foods (e.g. onions, garlic), herbal extracts (e.g. basil, mint), fruit extracts, especially dark-coloured fruit (e.g. chokeberries) and well-known spices (saffron, turmeric, pepper).

Keywords: radioprotection, ionizing radiation, X and gamma rays, plant materials

STRESZCZENIE

Roślinne surowce o działaniu radioprotekcyjnym mogą być stosowane zarówno w postaci żywności, żywności funkcjonalnej, jak i suplementów diety. Są potrzebne do ochrony przed skutkami promieniowania kosmicznego dla pilotów i astronautów, dla pacjentów poddanych działaniu promieniowania jonizującego oraz dla ludności mieszkającej na obszarach skażonych radioizotopami po katastrofach elektrowni jądrowych. Radioterapia jest jedną z podstawowych metod leczenia nowotworów. Promieniowanie jonizujące, oprócz skutecznego niszczenia komórek nowotworowych, uszkadza również zdrowe komórki wrażliwe na promieniowanie i negatywnie wpływa na ich funkcje. Dlatego kluczowa jest ochrona zdrowych komórek przed jego skutkami. Owoce i warzywa zawierają składniki o działaniu antyoksydacyjnym i radioprotekcyjnym. Są to m.in.: witaminy (A, C i E), flawonoidy (kwercetyna), karotenoidy (likopen). Wiele badań podaje, iż syntetyczne preparaty radioprotekcyjne wykazują toksyczność w większych dawkach i charakteryzują się efektami ubocznymi. Stąd poszukiwania preparatów roślinnych, zwłaszcza wśród surowców medycyny tradycyjnej. W pracy przedstawiono wyniki szeregu badań dotyczących radioprotekcyjnych właściwości żywności (np. cebuli, czosnku), ekstraktów z ziół (np. bazylii, mięty), ekstraktów z owoców, szczególnie o ciemnym zabarwieniu (np. aronii) oraz znanych przypraw (szafran, kurkuma, pieprz).

Słowa kluczowe: radioprotekcja, promieniowanie jonizujące, promienie X i gamma, surowce roślinne

Wstęp

Radioterapia i chemoterapia to główne metody leczenia nowotworów. Radioterapia jest skuteczna

w przypadku wielu rodzajów nowotworów, ale jej skutki uboczne są trudne do uniknięcia, bowiem napromieniowaniu ulegają także zdrowe tkanki. Opracowuje

się syntetyczne związki ochronne, ale ich alternatywą są substancje roślinne. Wykonano szereg testów *in vitro*, które sugerowały użycie substancji naturalnych, ale przygotowanie odpowiednich preparatów wymaga ich standaryzacji, badań przedklinicznych oraz klinicznych. Większość radioprotekcyjnych preparatów syntetycznych wykazywała toksyczność w większych dawkach oraz silne efekty uboczne (mdłości, zaburzenia pracy wątroby, obniżanie ciśnienia). Stąd poszukiwania preparatów roślinnych, zwłaszcza wśród surowców tradycyjnej medycyny.

Środki używane do ochrony normalnych tkanek przed skutkami promieniowania jonizującego można podzielić ze względu na czas ich podania na: radioprotektory, środki łagodzące skutki promieniowania oraz wspomagające leczenie (1).

Przegląd środków do potencjalnego użycia w radioterapii przekracza ramy tego opracowania. Natomiast jest wiele sytuacji, gdy ludzie są narażeni na niewielkie dawki promieniowania jonizującego. To załogi samolotów latających na dużych wysokościach czy ludzie żyjący na terenach skażonych radioizotopami. Jakie sposoby ochrony warto upowszechnić? Badania potwierdziły, że do ochrony przed małymi dawkami promieniowania potrzebne są dietetyczne antyoksydanty, których ochronne działanie wykazano w eksperymentach na zwierzętach (myszach i szczurach).

Promieniowanie jonizujące: źródła i skutki biologiczne

Promieniowanie naturalne

Promieniowanie kosmiczne składa się głównie z protonów (90%), ale ma też kwanty promieniowania gamma, elektrony, neutrony i cząstki alfa. W wyniku oddziaływania z jądrami atomów w powietrzu powstaje kaskada cząstek promieniowania wtórnego. Natężenie tego promieniowania zależy od aktywności Słońca oraz od szerokości geograficznej, ponieważ istotny wpływ ma pole magnetyczne Ziemi. Izotopy promieniotwórcze powstające w atmosferze, które opadają na powierzchnię, znajdują się potem w żywych organizmach, jak np. izotop ^{14}C , ^{40}K .

Wybuchy bomb atomowych

Na świecie żyją jeszcze osoby, które różne dawki promieniowania otrzymały w końcowej fazie II wojny światowej. W latach 1980-2000 trwały systematyczne badania diety i stanu zdrowia mieszkańców Hiroshimy i Nagasaki (2). Narażenie na promieniowanie 1Sv spowodowało prawie 50% wzrost ryzyka choroby nowotworowej. Jednak nawet po otrzymaniu dużej dawki promieniowania, dieta bogata w owoce i jarzyny miała

ogromny wpływ na zdrowie, powodując zmniejszenie tego ryzyka nawet o 34-52%.

Mieszkańcy Ziemi dostali pewne dawki promieniowania w latach 60. XX wieku, kiedy wybuchy bomb atomowych w atmosferze prowadziły USA, ZSRR, Francja, Anglia i Chiny. Wybuchy te spowodowały opad promieniotwórczy obejmujący całą kulę ziemską. W Polsce zarejestrowano obecność ^{137}Cs (czas połowicznego zaniku – 30 lat), ^{90}Sr (28 lat) i ślady plutonu. Dawka skuteczna dla mieszkańca półkuli północnej otrzymana w ciągu całego życia (70 lat) w wyniku tego opadu wynosi 4,5 mSv, a więc znacznie mniej niż otrzymana w tym czasie od tła naturalnego.

Katastrofy elektrowni atomowych

Najgorsza katastrofa w historii elektrowni jądrowych zdarzyła się w 1986 roku w Czarnobylu. Stopił się rdzeń reaktora i spłonął wraz z grafitową osłoną. Do atmosfery przedostało się kilkadziesiąt izotopów promieniotwórczych o różnej aktywności. Prądy termiczne wyniosły skażenia na wysokość ok. 2 km, wykryto je na całej półkuli północnej. W Polsce skażeniu uległ rejon Suwałki-Augustów oraz Śląsk Opolski. W pierwszych dniach awarii w opadzie i w powietrzu dominowały krótkożyłowe izotopy jodu i telluru, najbardziej istotny był ^{131}I , a w kolejnych latach ^{137}Cs . Przez kilka lat po katastrofie zagrożeniem były produkty z lasów, co pokazały wyniki analiz grzybów.

Badano osoby mieszkające w pobliżu Czarnobyla, w strefie skażonej (3). W śródbłonku pęcherza moczowego stwierdzono wysokie stężenie 8-hydroksy-2-deoksyguanozyny (8-OHdG), co jest skutkiem długoterminowej ekspozycji na promieniowanie.

Japonia ponownie miała problem ze skażeniem izotopami promieniotwórczymi w 2011 roku w Fukushima, gdy doszło do silnego trzęsienia ziemi, a wysoka na 10 m fala tsunami spustoszyła wybrzeże. Elektrownie jądrowe przetrwały trzęsienie ziemi, ale zostały uszkodzone w wyniku braku prądu. Bez zasilania nie działały pompy w układzie chłodzącym reaktora. Do środowiska wydostały się izotopy jodu, cezu i strontu. Usunięcie skutków katastrofy utrudniał fakt, że zniszczona została cała okoliczna infrastruktura.

Jak zmniejszyć skutki katastrof?

Ryzyko skażenia okolicy w wyniku uszkodzenia elektrowni jądrowej (np. na Ukrainie) spowodowało wzmożone zainteresowanie ochroną przed skutkami promieniowania. Trzeba wiedzieć, co można zrobić, aby się chronić, a czego robić nie warto. Najbardziej wrażliwe na promieniowanie są komórki gruczołów limfatycznych, tarczycy, organów rozrodczych i szpiku kostnego. Tarczycza selektywnie akumuluje jod,

a wtedy promieniowanie ^{131}J (okres połowicznego zaniku 8 dni) może ją uszkodzić. Można zablokować wchłanianie go z żywności, podając nieaktywny izotop (KJ).

Ważna jest nie tylko pochłonięta dawka promieniowania (w grejach, Gy), ale także dawka skuteczna (w siwertach, Sv), która zależy od przenikliwości promieniowania i metabolizmu danego pierwiastka. Ocenia się, że promieniotwórczość naturalna prowadzi do pochłonięcia dawki około 2,8 mSv w ciągu roku. Objawy choroby popromiennej obserwowano u osób, które otrzymały dawki większe niż 750 mSv, dawka kilku siwertów prowadzi do śmierci.

Promienie X i gamma emitowane przez radioizotopy, przechodząc przez materię, jonizują ją. Człowiek w 80% składa się z wody! Uszkodzenia popromienne to wynik radiolizy wody oraz powstawania kaskady wolnych rodników – one właśnie działają niszcząco, utleniająco na DNA, lipidy, cukry, a tym samym na funkcje życiowe i struktury komórki. Komórka może sama naprawić uszkodzenia lub obumrzeć, podobnie jak te ginące w sposób naturalny. Do ochrony komórek przed wolnymi rodnikami potrzebne są antyoksydanty, a ich najlepszym źródłem są owoce i warzywa bogate w związki polifenolowe.

Potrzebne są efektywne radioprotektory, które można podać okolicznej ludności i które można stosować przez dłuższy czas. Surowce zielarskie mogą być tańsze niż preparaty syntetyczne, łatwiej dostępne dla ludności narażonej na promieniowanie. Surowce, które mają udowodnione działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne i antymutagenne, to potencjalni kandydaci do wykonania testów radioprotekcyjnych. Jako radioprotektory powinny być skuteczne flawonoidy i kwasy fenolowe (rozmarynowy, ferulowy, chlorogenny), ale również rośliny bogate w te związki.

Radioprotekcyjne składniki diety

W owocach i warzywach są składniki chroniące przed stresem oksydacyjnym i jego skutkami. Radioprotekcyjne działanie mają witaminy A, C, E, co pokazano na hodowli ludzkich limfocytów poddanych promieniowaniu γ (2 Gy). Podanie witamin C, E i β -karotenu (z którego w organizmie powstaje witamina A) znacząco zmniejszyło liczbę uszkodzeń DNA; efekt ochronny zależał od dawki i czasu podania. Najsilniejsze działanie radioprotekcyjne było wtedy, gdy witaminy podano przed napromienieniem hodowli komórek oraz nie później niż po 1 godzinie. Kilka innych substancji również działało radioprotekcyjnie, gdy podano je po 24 h po napromienieniu komórek, wśród nich były: L-selenometionina, N-acetylocysteina, glutation i koenzym Q_{10} (4). Odpowiednio wysoki poziom

witamin antyoksydacyjnych potrzebny jest dla zachowania zdrowych komórek tworzących system odporności, system krwiotwórczy i rozrodczy. Rolę witaminy C w spermatogenezie wykazano już w latach 90. (5), wstrzykując ją myszom razem z radioizotopem ^{131}J . Przeżywalność plemników wzrosła ponad dwukrotnie w porównaniu ze zwierzętami dostającymi tylko radioizotop. Efekty radioprotekcyjne dał też 1% dodatek witaminy C do paszy.

Flawonoidy to ważna grupa związków rozpowszechniona w roślinach, o potwierdzonym działaniu antyoksydacyjnym, przeciwzapalnym i antykancerogennym.

Sprawdzono radioprotekcyjne działanie popularnego flawonoidu – kwercetyny (6) na ludzkich czerwonych krwinkach i ich błonach komórkowych. Krwinki napromieniowano (50 Gy) w obecności kwercetyny (2-50 μM), a następnie oznaczono stężenie glutationu, nadtlenków lipidowych oraz stopień hemolizy. Kwercetyna w stężeniu 50 μM hamowała peroksydację lipidów w plazmie i limfocytach, wykazała antyoksydacyjne i radioprotekcyjne działanie wobec błon komórkowych, ale wobec całych czerwonych krwinek działała jak prooksydant i substancja cytotoksyczna, zwiększając ich hemolizę.

Wykazano także, że kwercetyna może przeciwdziałać aberracjom chromosomów w limfocytach (7). Ludzką krew napromieniowano *in vitro* (2,5; 3,5 i 4,5 Gy), a następnie limfocyty hodowano z dodatkiem kwercetyny o stężeniu 37,5 i 75,0 μM . Limfocyty w hodowli z kwercetyną miały mniej zmian w chromosomach. Efekt łagodzenia skutków promieniowania może wynikać ze zmniejszenia produkcji prozapalnych cytokin (INF- γ , PGE2, IL-1 β , IL6, IL-8), redukcji NF- κB i TGF- β .

Popularna w owocach cytrusowych naryngina została zbadana jako potencjalny radioprotektor chroniący szpik kostny myszy przed uszkodzeniami popromiennymi. Wstrzyknięcie przed napromienianiem narynginy w ilości 2-4 mg/kg masy ciała, a więc niepowodującej toksycznych efektów, znacząco zmniejszyło częstość uszkodzeń chromosomów (8).

Kwas rozmarynowy, podobnie jak kwercetyna i naryngina, odznacza się właściwościami antyoksydacyjnymi. Sprawdzono jego zdolności radioprotekcyjne na myszach napromieniowanych dawką 7,5 Gy (9). Podawano im kwas rozmarynowy przez 10 dni, od 3 dni przed napromienianiem i kontynuując przez 7 dni po napromienianiu. Zaobserwowano, że 89 i 72% myszy, którym podano odpowiednio 50 lub 100 mg/kg masy ciała kwasu rozmarynowego, przeżyło 30 dni, a w grupie kontrolnej przeżywalność wyniosła tylko 32%. Badano stan komórek trzustki i szpiku kostnego, a także hematologiczne parametry krwi

obwodowej. Myszy, które dostały dawkę 5,5 Gy promieniowania γ (^{137}Cs) oraz dawkę kwasu w ilości 50, 100 i 150 mg/kg, miały znacznie więcej białych krwinek, płytek krwi i wyższy poziom hemoglobiny niż zwierzęta napromienione, ale bez podawania kwasu. Te wyniki świadczą o tym, że kwas rozmarynowy pomaga w regeneracji komórek krwi u myszy i w powrocie do zdrowia.

Bardzo interesujące są wyniki badań właściwości radioprotekcyjnych innego kwasu fenolowego – kwasu ferulowego (10). Badania wykonano na hodowli ludzkich limfocytów, do której dodawano kwas ferulowy w stężeniu 1, 5 lub 10 $\mu\text{g/ml}$ i napromienowano je dawką 1,2 i 4,0 Gy. Podawanie kwasu ferulowego w stężeniu 10 $\mu\text{g/ml}$ nie miało szkodliwego wpływu na limfocyty. Dawki promieniowania γ powodowały: zwiększoną liczbę mikrojąder (MN), aberracji (DC), obniżony poziom glutationu i zmniejszoną aktywność enzymów dysmutazy (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy glutationowej (GPx). Ale podanie kwasu ferulowego na 30 minut przed napromienowaniem powodowało proporcjonalne do jego stężenia zmniejszenie MN i DC, odpowiednio o 75 i 50% (1 Gy, 1 $\mu\text{g/ml}$) oraz o 45 i 25% (4 Gy, 1 $\mu\text{g/ml}$). Potraktowanie hodowli komórek 10 $\mu\text{g/ml}$ kwasem ferulowym zapobiegło zmniejszeniu aktywności antyoksydacyjnych enzymów SOD, CAT i GPx. Te wyniki potwierdzają, że kwas ferulowy to radioprotektor, cenny, bo dość powszechnie występujący w roślinach.

Resweratrol (RSV) jest produkowany przez rośliny w odpowiedzi na stres, infekcje grzybowe i bakteryjne. Jest składnikiem diety, znaleziono go w winogronach i czerwonym winie. Wykazano, że jest antyoksydantem, ma działanie przeciwzapalne, kardio- i neuroprotektoryjne, poprawia jakość spermy (11). Wydaje się być dobrym kandydatem na środek chroniący przed skutkami promieniowania jonizującego; syntetyczny RSV jest łatwo dostępny i tani. Niestety, sprawdzenie radioprotekcyjnego działania resweratrolu i jego metabolitów (pinacetanol) na fibroblastach z ludzkiej tkanki płucnej rozczarowało. Związki te (12) są utleniane do rodników fenoksylowych, a następnie do chinonów. Resweratrol, polifenolowa pochodna stilbenu, nie jest efektywnym radioprotektorem z powodu działania prooksydacyjnego i nie można go rekomendować do szerszego użycia.

Likopen, karotenoid, którego głównym dietetycznym źródłem są pomidory, jest antyoksydantem i skutecznym wyciączem wolnych rodników. Przetestowano go jako potencjalny radioprotektor, chroniący DNA przed uszkodzeniami oksydacyjnymi (13). Likopen rozpuszczono w dimetylosulfotlenku (DMSO) i dodano w różnych stężeniach: 10, 20 lub

40 μM do zawiesiny limfocytów izolowanych z ludzkiej krwi. Limfocyty naświetlono dawkami promieniowania X: 0,5, 1,0 i 2,0 Gy. Obserwowano zmniejszoną ilość uszkodzeń DNA w komórkach potraktowanych likopenem na 1 godz. przed ekspozycją na promieniowanie, ale podanie go po napromienowaniu nie stymulowało procesów naprawy DNA. Likopen można uznać za korzystny składnik diety, działający ochronnie przy narażeniu na małe dawki promieniowania.

Przy większym narażeniu na promieniowanie należy zwiększyć spożycie takich produktów, jak: aronia i jej przetwory (14, 15), buraki, rokitnik (*Hippophae rhamnoides*), zielona herbata, kurkuma, żeń-szeń (*Panax ginseng*), spirulina (*Spirulina platensis*), ekstrakt z miłorzębu (*Ginkgo biloba*), ekstrakt z ostropestu (*Silybum marianum*) z sylimaryną, ale również wiele popularnych ziół, jak: mięta, bazylia i rozmaryn.

Cebula zwyczajna (*Allium cepa*) jest uprawiana w Indiach, Chinach, USA oraz w Europie. Jej bioaktywne składniki to: flawonoidy, pochodne kwercetyny (m.in. taksyfolina), kemferolu, a także związki siarki: siarczki metylu, propylu, dwusiarczki i inne. Radioprotekcyjne i antyoksydacyjne efekty ekstraktu z cebuli pokazano w badaniach na szczurach (16). Mierzono aktywność enzymów aminotransferazy, katalazy, dysmutazy nadtlenkowej (SOD) w wątrobie, nerkach i sercu po naświetleniu zwierząt promieniami γ .

Czosnek pospolity (*Allium sativum*) jest szeroko rozpowszechniony na świecie, uprawiany w Europie, Indiach, Chinach i Korei. Głównymi związkami bioaktywnymi są związki siarki (glutamylocysteina, alicyna, aliina), które nadają mu charakterystycznego zapachu. Radioprotekcyjne działanie ekstraktu z czosnku wykazano na myszach (17).

Przydatne i wygodne w stosowaniu są suplementy diety w kapsułkach lub tabletkach zawierające ekstrakty z roślin o silnym działaniu antyoksydacyjnym.

Radioprotekcyjne działanie ziół

Opublikowano wiele prac dotyczących radioprotekcyjnych właściwości olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych zawierających kwasy fenolowe i flawonoidy. Dość dobrze udokumentowane są ochronne właściwości mięty pieprzowej (*Mentha piperita*), bazylii (*Ocimum tenuiflorum*, syn. *O. sanctum*), oregano (*Origanum vulgare*) i rozmarynu (*Rosmarinus officinalis*). Rośliny, takie jak: lawenda wąskolistna (*Lavandula angustifolia*), mięta polna i mięta zielona (*Mentha arvensis* i *M. spicata*), szałwia czerwono-korzeniowa i szałwia lekarska (*Salvia miltiorrhiza*, *S. officinalis*) czy tarczycza bajkalska (*Scutellaria baicalensis*) wymagają dalszych badań. Ekstrakty o dobrze zbadanym składzie i znanych biologicznie czynnych

składnikach dają ochronę przeciwko skutkom reakcji wolnych rodników, uszkodzeniom chromosomów, utlenianiu lipidów, wzrostowi poziomu enzymów: dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, zasadowej fosfatazy, jak również zmniejszają śmiertelność komórek. Substancje roślinne chronią układ pokarmowy, szpik kostny i fibroblasty płuc napromieniowanych zwierząt.

Mięta (*Mentha piperita*, *M. arvensis*) jest używana jako przyprawa, ale ma też szerokie zastosowanie w medycynie. Produkuje się olejek miętowy, herbaty i ekstrakty z liści. Zbadano radioprotekcyjne właściwości olejku miętowego. Mysiom podawano po 40 μ l olejku przez 3 dni, a potem dostawały dawkę promieniowania γ (8 Gy). 100% myszy zdechło po 30 dniach w grupie kontrolnej, ale tylko 17% w grupie, która dostała olejek. Śmierć w ciągu 10 dni była spowodowana uszkodzeniem błony śluzowej układu pokarmowego, ale później, po 11-30 dniach, jej przyczyną były zmiany we krwi. Liczba czerwonych krwinek u napromieniowanych zwierząt spadła silnie po 24 godz., podobnie zawartość hemoglobiny. U myszy dostających olejek początkowo parametry hematologiczne też spadły, ale potem obserwowano powrót do zdrowia, do wartości prawie normalnych. Wodne ekstrakty z mięty *M. piperita* działały ochronnie na organy wrażliwe na promieniowanie: układ rozrodczy (jądra), układ pokarmowy i krwionośny (parametry krwi). Sugerowane mechanizmy: działanie antyoksydacyjne, wymiatanie wolnych rodników, antymutagenne, zwiększenie procesów naprawy DNA i przeciwzapalne.

Bazylija (*Ocimum sanctum*), nazywana „świętą bazylią” (ang. *Holy Basil*) lub Tulsi (Sanskryt), podobnie jak mięta należy do rodziny *Labiatae*, rośnie na subkontynencie indyjskim, w Chinach, na Tajwanie i w Indonezji. W Indiach Tulsi jest wykorzystywana od tysięcy lat jako roślina lecznicza. Hindusi uważają ją za roślinę świętą i używają jej w ceremoniach religijnych. Badania jej bioaktywnych składników rozpoczęły się w połowie XX wieku. Wyniki potwierdziły właściwości przeciwdrobnoustrojowe, adaptogenne, przeciwzapalne, hepato-, kardio- i neuroprotektoryjne. Większość badań wykonano *in vitro* oraz *in vivo* na zwierzętach. Przetestowano wodny i etanolowy ekstrakt z bazylii, podając go myszom przed ich napromieniowaniem dawką 11 Gy promieniowania γ (^{60}Co) (18). Ekstrakt wodny okazał się skuteczniejszy i mniej toksyczny, podawano 50 mg/kg dootrzewnowo przez 5 kolejnych dni przed napromieniowaniem i z tej grupy 70% myszy przeżyło. Stosując inne drogi podania, przeżywalność była mniejsza (37-47%). Ekstrakt może zawierać różne związki, nie ustalono (1995 r.), który z nich działa ochronnie. Jednak 4 lata później naukowcy

wyzolowali z liści bazylii dwa flawonoidy: orientynę i wicetynę, które badali na ich działanie radioprotekcyjne (19). Eksperyment był podobny, związki podano dootrzewnowo, przed napromieniowaniem myszy dawką 11 Gy. Oba flawonoidy chroniły przewód pokarmowy i szpik kostny; optymalna dawka wynosiła 50 μ g/kg masy ciała, gdy podano ją na 30 min przed napromieniowaniem. Podanie flawonoidów po napromieniowaniu nie było efektywne żadną drogą podania (doustnie czy dożylnie). Wicetyna nieznacznie lepiej w porównaniu z orientyną zwiększała przeżywalność myszy. Oba związki są aktywne w wymiataniu wolnych rodników i to może być podstawą ich działania radioprotekcyjnego.

Dalsze badania *Ocimum sanctum* pokazały, że roślina ma bogaty skład chemiczny (20). Liście zawierają olejek eteryczny, którego główne składniki to eugenol (70%) i metyleugenol (20%). W świeżych liściach są: orientyna, wicenina, apigenina, glukuronowe pochodne apigeniny i luteoliny, kwas rozmarynowy. Wiele farmakologicznych efektów działania ekstraktu można wyjaśnić obecnością w nim tych związków.

Badania wykonane na myszach z nowotworem pokazały, że ekstrakt z bazylii można stosować do ochrony tkanek w czasie radioterapii nowotworu. Bioaktywne składniki ekstraktu z liści: flawonoidy i eugenol, mogą odpowiadać za działanie antyoksydacyjne i wymiatanie wolnych rodników. Podawanie orientyny i wicetyny zwiększa przeżywalność komórek szpiku, chroni układ krwiotwórczy (21, 22). Ekstrakt z bazylii, jak również oba flawonoidy to potencjalne preparaty promieniochronne do zastosowania w klinikach onkologicznych w celu ochrony systemu krwiotwórczego. Dodatkowo, ekstrakt może być skuteczny w przeciwdziałaniu kserostomii (suchości w ustach) jako wyniku uszkodzenia gruczołów ślinowych po napromieniowaniu w trakcie leczenia nowotworów głowy i szyi (23).

Oregano (*Origanum vulgare*) to zioło dobrze znane w Europie i Ameryce Północnej, działające przeciwbakteryjnie, przeciwgrzybiczo, antyoksydacyjnie, antymutagenne. Za te aktywności odpowiadają: flawonoidy, kwas rozmarynowy, karwakrol i tymol. Właściwości antyoksydacyjne to wynik obecności związków polifenolowych (karnozol, rozmanol, kwas rozmarynowy). Właściwości radioprotekcyjne pokazano w badaniach na komórkach szpiku kostnego pobranych od myszy poddanych napromieniowaniu dawką promieniowania γ (3 Gy) (24). Na 1 godzinę przed napromieniowaniem myszom podano dootrzewnowo ekstrakt z oregano o stężeniu 100 i 200 mg/kg. Po 24 godz. myszy zabito, przygotowano preparaty z komórek szpiku kostnego, które poddano analizie

pod mikroskopem. Oznaczono częstość występowania mikrojądrowych erytrocytów (poli-/monochromatycznych). Podawanie ekstraktu znacząco zmniejsza tworzenie mikrojądrowych komórek oraz aberracje chromosomów, a więc zmniejsza cytotoksyczne działanie promieniowania jonizującego na szpik kostny myszy.

Dominującym polifenolem zielonej herbaty *Camellia sinensis* jest związek katechinowy galusan (-)epigalokatechiny (EGCG). Uważa się, że EGCG i podobne katechiny odpowiadają za prozdrowotne efekty picia herbaty, wykazują działanie antyoksydacyjne, antykancerogenne, kardio- i neuroprotektoryjne, przeciwwirusowe. Korzyści dla zdrowia pokazano w badaniach na dużych populacjach ludzi, którzy tradycyjnie i regularnie piją zieloną herbatę. Jednak do osiągnięcia innych korzyści potrzebne były większe dawki, osiągnięte przez podawanie ekstraktu z liści herbaty np. w kapsułkach. Zbadano ochronny potencjał EGCG z zielonej herbaty (25). Myszom poddanym śmiertelną dawką promieniowania podano EGCG w dawce 0,183 mg/kg w 90 minut po napromieniowaniu. Aż 45% myszy, które dostały śmiertelną dawkę, przeżyło 30 dni, zachowując masę ciała, a biochemiczne parametry krwi wróciły do normy. Zregenerowały się także komórki szpiku kostnego; EGCG może więc zapobiegać uszkodzeniom radiacyjnym systemu krwiotwórczego myszy.

Praktycznym problemem jest łagodzenie skutków radioterapii u pacjentów leczonych z powodu nowotworów. Kannabinoidy, bioaktywne składniki konopi medycznych (*Cannabis sativa*, zwanych marihuaną medyczną), mogą okazać się pomocne w łagodzeniu objawów choroby popromiennej, takich jak: wymioty, mdłości, biegunka, utrata wagi, osłabienie, anemia i nawracające infekcje. Preparaty konopne redukują mdłości i wymioty, poprawiają apetyt, co powoduje wzrost masy ciała, oraz poprawiają jakość snu.

Amerykański National Institute of Health (NIH) rozpoczął testowanie naturalnych preparatów, które mogą zmniejszyć skutki napromieniowania. Naukowcy z NIH w Bethesda, USA, badali komórki nerwowe szczura, poddając je działaniu toksyn uwalnianych podczas udaru, a następnie podając kannabinoidy. Okazało się, że kannabidiol znacząco zmniejsza rozmiary uszkodzeń, działa skuteczniej niż witamina C i E (26). Silne antyoksydanty, takie jak kannabidiol CBD, neutralizują wolne rodniki, co ogranicza uszkodzenia popromienne.

Żeń-szeń to gatunek byliny z rodziny araliowatych, który jest szeroko wykorzystywany w tradycyjnej medycynie chińskiej, ale zyskał też popularność w Europie. Jest surowcem dość dobrze przebadanym, potwierdzono jego właściwości immunomodulujące, antymutagenne,

adaptogenne; za to działanie odpowiadają ginsenozydy – związki typu saponin. Sprawdzono radioprotekcyjne działanie żeń-szenia na komórkach (27). Wyniki pokazują, że wodny ekstrakt z korzeni daje lepsze efekty promieniochronne niż wyizolowana frakcja zawierająca ginsenozydy. Mechanizm radioprotekcyjny wiązano z właściwościami antyoksydacyjnymi, ale związków o takich właściwościach jest w ekstrakcie z korzenia mało. Właściwości radioprotekcyjne i łagodzenie objawów popromiennych można wyjaśnić wpływem na układ immunologiczny. Ekstrakt z żeń-szenia mógłby więc być wsparciem np. dla pacjentów poddanych radioterapii.

Radioprotekcyjne działanie przypraw

Obiektem badań były powszechnie stosowane przyprawy: curry, pieprz, imbir i szafran. Szafran uprawny (*Crocus sativus*) jest znany jako bardzo droga przyprawa, popularna w krajach Orientu. Badania naukowe składu chemicznego i właściwości szafranu potwierdzają, że jego spożywanie działa przeciwmiażdżycowo, obniża poziom trójglicerydów, cholesterolu, przeciwdziała agregacji płytek krwi i tworzeniu skrzepów, poprawia nastrój i działa antydepresyjnie. W 2013 roku opublikowano metaanalizę badań klinicznych – suplementacja szafranem znacząco zredukowała objawy depresji w porównaniu z placebo i syntetycznymi lekami (28). Czy jego związki biologicznie czynne: krocyna, krocetyna i safranal będą działać radioprotekcyjnie? Efekt ochronny badano na myszach poddanych promieniowaniu γ (1 lub 2 Gy), którym przez 6 dni podawano ekstrakt z szafranu. Dobę (w 24 godz.) po naświetleniu zbadano tkanki (szpik kostny, próbki mózgu i wątroby). Analizy potwierdziły efekt ochronny, redukcję poziomu utlenionych lipidów, wzrost poziomu glutationu, aktywności enzymów antyoksydacyjnych, w porównaniu z grupą, która nie otrzymała ekstraktu (29). Wodny ekstrakt z szafranu działa antygenotoksycznie w stosunku do trucizn środowiskowych, w tym związków kancerogennych. Krocynę i safranal podano myszom, a następnie naświetlono je promieniowaniem γ (2 Gy). Genotoksyczność oceniano, badając komórki szpiku kostnego. Stwierdzono znaczną redukcję uszkodzonych erytrocytów i mniej uszkodzeń DNA (30).

Kurkuma (*Curcuma longa*, ostrzyż długi) to powszechnie używana przyprawa, typowy Hindus zjada jej ok. 1,5 g dziennie, ale staje się też popularna w Europie. Kurkumina – główny bioaktywny składnik kurkumy – jest związkiem o działaniu immunomodulującym, hamuje angiogenezę, działa na system nerwowy i może być lekiem na depresję. Potwierdzono radioprotekcyjne działanie kurkuminy na limfocytach poddanych działaniu ^{131}I (31), a także ekstraktu

z kurkumy na szczurach naświetlonych promieniowaniem gamma (32).

Zbadano radioprotekcyjny efekt alkoholowego ekstraktu z kłączy imbiru (*Zingiber officinale*) (33). Ekstrakt podawano myszom w ilości 250 µg/kg wagi przez 5 kolejnych dni, poddając je naświetleniu rosnącymi dawkami promieniowania γ od 6 do 11 Gy. Myszy obserwowano przez 30 dni, monitorując objawy choroby popromiennej. Podanie ekstraktu po napromieniowaniu nie pomogło, ale podanie go przed napromieniowaniem powodowało łżejsze objawy choroby i zwiększoną przeżywalność, w porównaniu z grupą kontrolną, która dostawała do picia wodę destylowaną. Myszy dostające imbir miały mniej objawów ze strony układu pokarmowego i mniej uszkodzeń szpiku kostnego oraz wyższy poziom glutationu w wątrobie. Potwierdzono, że zastosowany ekstrakt miał właściwości antyoksydacyjne i efektywnie wymiatał wolne rodniki $\cdot\text{-OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\text{ABTS}^{\cdot+}$. Preparat nie był toksyczny, nawet w wysokich dawkach, do 1500 mg/kg masy ciała.

Radioprotekcyjne właściwości ekstraktu z pieprzu (*Piper longum*) pokazano w badaniach na myszach (34). Po napromieniowaniu silnie spadł im poziom białych ciałek krwi (do 1900 WBC/mm³), ale u myszy otrzymujących ekstrakt pozostał na poziomie 2783,3 WBC/mm³. Podobnie było z komórkami szpiku kostnego. Ekstrakt z pieprzu obniżył poziom enzymów (transaminazy, zasadowej fosfatazy) podniesionych po napromieniowaniu oraz zwiększył produkcję glutationu, co świadczyło o jego działaniu radioprotekcyjnym.

Ekstrakty z owoców

Jednym z najefektywniejszych surowców w leczeniu choroby popromiennej może być aronia czarnoowocowa (*Aronia melanocarpa*). Owoce aronii mają unikalny skład chemiczny, wyjątkowo dużo związków polifenolowych o silnych właściwościach antyoksydacyjnych. Są to: antocyjany, katechiny, procyjanidyny, taniny, kwas chlorogenowy i inne kwasy fenolowe. Owoce aronii zawierają aż 10-20 g polifenoli w 1 kg, w tym ok. 5 g antocyjanów. Antocyjany aroniowe mają właściwości antymutagenne, mogą chronić DNA (35). Antocyjany mają też właściwości radioprotekcyjne; świadczą o tym wyniki badań przeprowadzonych na królikach.

Efekt radioprotekcyjny ekstraktu antocyjanów aroniowych i soku z aronii potwierdziły pomiary średniej liczby leukocytów we krwi królika na czwarty dzień po pochłonięciu dawki 4 Gy promieniowania γ (⁶⁰Co). W badaniach przebiegu doświadczałnej choroby popromiennej wywołanej dawkami promieniowania jonizującego (4 i 8 Gy) stwierdzono, że

podanie antocyjanin zwiększało odsetek przeżycia napromieniowanych zwierząt. Gwałtowny spadek liczby krwinek białych uległ zahamowaniu, zanotowano też ich regenerację, co w znacznym stopniu zmniejszało objawy choroby popromiennej (36, 37). Bezpośrednio po napromieniowaniu obserwowano zwiększoną generację rodników nadtlenkowych i reaktywnych form tlenu (ROS) we krwi, mechanizm działania antocyjanin prawdopodobnie polega na zmniejszeniu procesów oksydacyjnych.

Podawanie koncentratu soku z aronii razem z pektyną z jabłek znacząco poprawiło stan i liczbę limfocytów T u kobiet z rakiem piersi poddanych napromieniowaniu (⁶⁰Co, 26 i 50 Gy) po operacji (38). Przetwory aroniowe, koncentrat soku z aronii, a zwłaszcza ekstrakt antocyjanów aroniowych mogłyby być dietetycznym wsparciem pacjentów po radioterapii, a także pomóc wszędzie tam, gdzie ludzie są w większym stopniu narażeni na promieniowanie jonizujące.

Interesującym surowcem, dostępnym w zimnych krajach Północy, są jabłka jabłoni syberyjskiej. Jabłoni jagodowa (*Malus baccata*) to gatunek drzewa owocowego, który pochodzi z północnych Chin (Mandżuria) i azjatyckiej części Rosji (Syberia). Owoce zawierają dużo związków polifenolowych: flawonoidów (glikozydy kwercetyny), katechin (proantocyjanidyn), kwasów fenolowych (kwas chlorogenowy) (39). Ekstrakt z owoców zawierający polifenole (150 mg/kg) podawano myszom napromieniowanym promieniami γ (⁶⁰Co). Ekstrakt poprawił aktywność endogennych enzymów antyoksydacyjnych, stan tkanek wątroby i nerek, zapobiegł obniżeniu się hematologicznych parametrów, w tym liczby czerwonych i białych krwinek.

Podsumowanie

Radioterapia jest jedną z podstawowych metod leczenia nowotworów, stosowaną w około 60% wszystkich zachorowań na raka. Polega na wielokrotnym napromienianiu nowotworów wrażliwych na promieniowanie jonizujące. Niestety promieniowanie jonizujące, oprócz skutecznego niszczenia komórek nowotworowych, uszkadza również zdrowe komórki wrażliwe na promieniowanie i negatywnie wpływa na ich funkcje. Dlatego kluczowym problemem medycznym w radioterapii jest ochrona i zabezpieczenie zdrowych komórek przed skutkami promieniowania. W poszukiwaniu substancji o działaniu radioprotekcyjnym przebadano wiele związków, przyjmując założenie, że muszą one wykazywać złożone działania, tj. skutecznie i selektywnie chronić komórki zdrowe, o prawidłowym obrazie, przed promieniowaniem, nie wykazując tego działania dla komórek nowotworowych. Ponadto, radioprotektory powinny być trwałe,

nietoksyczne dla organizmu ludzkiego i, co szczególnie istotne, obojętne wobec leków stosowanych w terapiach przeciwnowotworowych.

Z powyższych powodów w badaniach skoncentrowano się na surowcach pochodzenia roślinnego, ich właściwościach farmakologicznych i biologicznych, potwierdzonych w długiej tradycji medycyny naturalnej i w badaniach naukowych. Za wyborem produktów pochodzenia naturalnego przemawiają argumenty, że są one powszechnie spożywane przez ludzi na co dzień (nastąpiła adaptacja ekologiczna) oraz, co równie ważne, że według danych z 2018 roku ok. 60% z 1184

nowych leków opracowanych w ciągu ostatnich 25 lat zawdzięcza swoje pochodzenie naturalnym źródłom, a 74 produkty roślinne zostały przebadane pod kątem ich potencjału radioochronnego w różnych badaniach *in vitro* i *in vivo*.

Uwzględniając powyższe dane, opisane w artykule związku, a także obiecujące wyniki badań naukowych w zakresie poszukiwania radioprotektorów o pochodzeniu naturalnym, można odpowiedzialnie stwierdzić, że świat roślin i surowców naturalnych to zasoby o obiecujących właściwościach radioprotekcyjnych.

Piśmiennictwo

1. Szejk M, Kołodziejczyk-Czepas J, Żbikowska HM. Radioprotectors in radiotherapy – advances in the potential application of phytochemicals. *Post Hig Med Dosw (Online)* 2016; 70:722-34.
2. Sauvaget C, Kasagi F, Waldren CA. Dietary factors and cancer mortality among atomic bomb survivors. *Mut Res* 2004; 551:145-52.
3. Romanenko A, Morimura K, Wanibuchi H i wsp. Increased oxidative stress with gene alteration in urinary bladder urothelium after the Chernobyl accident. *Int J Cancer* 2000; 86:790-8.
4. Brown SL, Kolozsvary A, Liu J i wsp. Antioxidant diet supplementation starting 24 hours after exposure reduces radiation lethality. *Radiat Res* 2010; 173:462-8.
5. Narra VR, Howell RW, Sastry KS i wsp. Vitamin C as a radioprotector against iodine-131 *in vivo*. *J Nucl Med* 1993; 34(4):637-40.
6. Zbikowska HM, Antosik A, Szejk M i wsp. Does quercetin protect human red blood cell membranes against γ -irradiation? *Redox Rep* 2014; 19(2):65-71.
7. de Siqueira WN, Dos Santos FTJ, de Souza TF i wsp. Study of the potential radiomitigator effect of quercetin on human lymphocytes. *Inflammation* 2019; 42(1):124-34.
8. Jagetia GC, Reddy TK. The grapefruit flavanone naringin protects against the radiation-induced genomic instability in the mice bone marrow: a micronucleus study. *Mutat Res* 2002; 519:37-48.
9. Xu W, Yang F, Zhang Y i wsp. Protective effects of rosmarinic acid against radiation-induced damage to the hematopoietic system in mice. *J Radiat Res* 2016; 57(4):356-62.
10. Prasad NR, Srinivasan M, Pugalendi KV i wsp. Protective effect of ferulic acid on gamma-radiation-induced micronuclei, dicentric aberration and lipid peroxidation in human lymphocytes. *Mutat Res* 2006; 603(2):129-34.
11. Dobrzyńska MM. Resveratrol as promising natural radioprotector. A review. *Rocz Panstw Zakł Hig* 2013; 64(4):255-62.
12. Fabre KM, Saito K, DeGraff W i wsp. The effects of resveratrol and selected metabolites on the radiation and antioxidant response. *Cancer Biol Ther* 2011; 12(10):915-23.
13. Gajowik A, Dobrzyńska MM. The evaluation of protective effect of lycopene against genotoxic influence of X-irradiation in human blood lymphocytes. *Radiat Envir Biophys* 2017; 56(4):413-22.
14. Andrykowski G, Niedworok J, Maziarz Z i wsp. Protective effect of natural anthocyanin dye on experimental radiation sickness. *Acta Pol Toxicol* 1998; 6:155-62.
15. Andrykowski G, Niedworok J, Maziarz Z i wsp. The effect of anthocyanin dye on superoxide radical generation and chemiluminescence in animal after absorbed 4Gy dose of gamma-radiation. *Pol J Environm* 1998; 7:537-41.
16. Nwachukwu KC, Asagba S, Nwose C i wsp. Protection and anti-oxidative effects of garlic, onion and ginger extracts, X-ray exposed albino rats as model for biochemical studies. *Afr J Biochem Res* 2014; 8(9):166-73.
17. Singh SP, Abraham SK, Kesavan PC. *In vivo* radioprotection with garlic extract. *Mutat Res* 1995; 345(3, 4):147-53.
18. Devi PU, Ganasoundari A. Radioprotective effect of leaf extract of Indian medicinal plant *Ocimum sanctum*. *Indian J Exp Biol* 1995; 33(3):205-8.
19. Uma Devi P, Ganasoundari A, Rao BS i wsp. *In vivo* radioprotection by ocimum flavonoids: survival of mice. *Radiat Res* 1999; 151(1):74-8.
20. Baliga MS, Rao S, Rai MP i wsp. Radio protective effects of the Ayurvedic medicinal plant *Ocimum sanctum* Linn. (Holy Basil): A memoir. *J Cancer Res Ther* 2016; 12(1):20-7.
21. Ganasoundari A, Devi PU, Rao BS. Enhancement of bone marrow radioprotection and reduction of WR-2721 toxicity by *Ocimum sanctum*. *Mutat Res* 1998; 397:303-12.
22. Nayak V, Devi PU. Protection of mouse bone marrow against radiation-induced chromosome damage and stem cell death by the *Ocimum* flavonoids orientin and vicenin. *Radiat Res* 2005; 163:165-71.
23. Scrimger R. Salivary gland sparing in the treatment of head and neck cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2011; 11:1437-48.
24. Ghasemnezhad Targhi, Changizi V, Haddad F i wsp. *Origanum vulgare* leaf extract protects mice bone marrow cells against ionizing radiation. *Avicenna J Phytomed* 2016; 6(6):678-85.
25. Tiwari M, Dixit B, Parvez S i wsp. EGCG, a tea polyphenol, as a potential mitigator of hematopoietic radiation injury in mice. *Biomed Pharmacother* 2017; 88:203-9.
26. http://www.naturalnews.com/032674_marijuana_radiation.html#ixzz1d0mktKpr.
27. Lee TK, Johnke RM, Allison RR i wsp. Radioprotective potential of ginseng. *Mutagenesis* 2005; 20(4):237-43.

28. Hausenblas HA, Saha D, Dubyak PJ i wsp. Saffron (*Crocus sativus* L.) and major depressive disorder: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Integr Med* 2013; 11(6):377-83.
29. Koul A, Abraham SK. Intake of saffron reduces γ -radiation-induced genotoxicity and oxidative stress in mice. *Toxicol Mech Methods* 2017; 15:1-24.
30. Koul A, Abraham SK. Efficacy of crocin and safranal as protective agents against genotoxic stress induced by gamma radiation, urethane and procarbazine in mice. *Hum Exp Toxicol* 2018; 37(1):13-20.
31. Shafaghathi N, Hedayati M, Hosseinimehr SJ. Protective effects of curcumin against genotoxicity induced by 131-iodine in human cultured lymphocyte cells. *Phcog Mag* 2014; 10:106-10.
32. Nada AS, Hawas A, Amin NE i wsp. Radioprotective effect of *Curcuma longa* extract on γ -irradiation-induced oxidative stress in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2012; 90(4):415-23.
33. Jagetia G, Baliga M, Venkatesh P. Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.), a dietary supplement, protects mice against radiation-induced lethality: mechanism of action. *Cancer Biother Radiopharm* 2004; 19(4):422-35.
34. Sunila ES, Kuttan G. Protective effect of *Piper longum* fruit ethanolic extract on radiation induced damages in mice: a preliminary study. *Fitoter* 2005; 76(7-8):649-55.
35. Gasiowski K, Szyba K, Brokos B i wsp. Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits. *Cancer Lett* 1997; 119:37-46.
36. Andrykowski G, Niedworok J, Maziarz Z i wsp. Protective effect of natural anthocyanin dye on experimental radiation sickness. *Acta Polon Toxycol* 1998; 6:155-62.
37. Andrykowski G, Niedworok J, Maziarz Z i wsp. The effect of anthocyanin dye on superoxide radical generation and chemiluminescence in animal after absorbed 4Gy dose of gamma-radiation. *Pol J Environ Stud* 1998; 7:537-41.
38. Yanewa MP, Botushanova AD, Grigorov LA i wsp. Evaluation of the immunomodulatory activity of *Aronia* in combination with apple pectin in patients with breast cancer undergoing postoperative radiation therapy. *Folia Med (Plovdiv)* 2002; 44(1-2):22-5.
39. Wang L, Li X, Wang Z. Whole body radioprotective effect of phenolic extracts from the fruits of *Malus baccata* (Linn.) *Borkh Food Funct* 2016; 7(2):975-81.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 20.02.2022

zaakceptowano/accepted: 13.03.2022

Adres/address:

*dr hab. Katarzyna Paradowska
Zakład Chemii Organicznej i Fizycznej
Wydział Farmaceutyczny
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa
tel.: (22) 572-09-50
e-mail: katarzyna.paradowska@wum.edu.pl