

Received: 2015.07.29  
Accepted: 2016.03.23  
Published: 2016.06.30

## Radioprotektory w radioterapii – postępy w dziedzinie możliwości wykorzystania fitozwiązków

### Radioprotectors in radiotherapy – advances in the potential application of phytochemicals

Magdalena Szejka, Joanna Kołodziejczyk-Czepas, Halina Małgorzata Żbikowska

Katedra Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

#### Streszczenie

Radioterapia, obok chemioterapii, jest obecnie podstawową metodą leczenia chorób nowotworowych, opierającą się na niszczeniu komórek zmienionych nowotworowo przez promieniowanie jonizujące. Niestety, promieniowanie również wpływa na komórki prawidłowe, co wiąże się z negatywnymi skutkami dla całego organizmu pacjenta. Radioprotektory, czyli związki o charakterze radioochronnym, są stosowane w celu ochrony komórek nienowotworowych przed skutkami szkodliwego działania promieniowania. Związki te, aby mogły pełnić swoją rolę muszą spełniać kilka kryteriów, m.in. zapewniać znaczącą ochronę komórek prawidłowych, a jednocześnie nie zmniejszać promienioczułości komórek nowotworowych. Podstawowa klasyfikacja związków radioochronnych dzieli je w zależności od czasu podania na trzy grupy: radioprotektory, związki łagodzące („mitygatory”) oraz leki. Grupy te obejmują różnorodny pod względem struktury i mechanizmów działania związki syntetyczne. Jak dotąd, jedynym stosowanym klinicznie radioprotektorem jest aminotiol - amifostyna, która jednak wywołuje u pacjentów różne działania niepożądane, m.in. hipotensję. Związkami spełniającymi kryteria idealnego radioprotektora są substancje pochodzenia naturalnego, uzyskiwane z roślin. Charakteryzują się różnorodnością mechanizmów działania chroniących przed niepożądanymi skutkami promieniowania jonizującego. Do związków roślinnych, które wykazują właściwości radioochronne zalicza się m.in. flawonoidy i kwasy fenolowe, stilbeny, likopen, alkaloidy, peptydy, polisacharydy, czy fitohormony. Czosnek, zielona herbata, jabłka, owoce cytrusowe, imbir są przykładami roślinnych składników diety, które zawierają substancje radioochronne.

#### Słowa kluczowe:

promieniowanie jonizujące • radioterapia • związki radioochronne • roślinne radioprotektory • fitozwiązki

#### Summary

Radiotherapy, in addition to chemotherapy, is currently the primary method of cancer treatment based on destruction of malignant cells by ionizing radiation. Unfortunately, it also affects normal cells, which is associated with negative consequences for a patient. Radioprotectors are compounds used to prevent/protect the non-tumor cells from the harmful effects of radiation. To play their role these compounds should meet several criteria; among others, they should significantly protect normal cells from radiation without changing the tumor cell radiosensitivity. In general, agents used to alter normal tissue toxicity from radiation can be broadly divided into three categories based on timing of delivery in relation to radiation: chemical radioprotectors, mitigators, and treatment. These groups include a diverse range of synthetic compounds in terms of their structure and protective mechanisms. The amino-

	thiol amifostine is the only radioprotectant approved in clinical application. However, its use is limited due to toxicity concerns (it may cause hypotension). Natural compounds, derived from plants, meet all criteria of the ideal radioprotector. They exert their protective actions against adverse effects of ionizing radiation by several mechanisms. Plant compounds that show radioprotective activity include flavonoids and phenolic acids, stilbenes, lycopene, alkaloids, peptides, polysaccharides, and phytohormones. Garlic, green tea, apples, citrus, and ginger are examples of constituents of the human diet that contain radioprotective substances.
<b>Keywords:</b>	<b>ionizing radiation • radiotherapy • radioprotective agents • plant radioprotectors • phytochemicals</b>
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1208039">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1208039</a>
<b>Word count:</b>	4459
<b>Tables:</b>	3
<b>Figures:</b>	1
<b>References:</b>	75

**Adres autorki:** dr hab. Halina Małgorzata Żbikowska, prof. nadzw. UŁ, Katedra Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: zbkow@biol.uni.lodz.pl

## WSTĘP

Radioterapia jest jedną z metod leczenia pacjentów z chorobami nowotworowymi, stosowaną także jako zabieg paliatywny, który łagodzi ból towarzyszący postępującej chorobie. Jest stosowana w postaci monoterapii lub łącznie z zabiegiem chirurgicznym i/lub chemioterapią. Celem radioterapii jest zniszczenie komórek nowotworowych, przy jak najmniejszym uszkodzeniu komórek prawidłowych. Jednak w czasie radioterapii znaczna część komórek prawidłowych także ulega napromieniowaniu i uszkodzeniu. Skutki niepożądane napromienienia zależą od wrażliwości tkanki i okolicy narażonej na promieniowanie oraz od wielkości pochłoniętej dawki promieniowania [45]. Największą promienioczułość ma szpik kostny, tkanka limfatyczna, komórki płciowe i nabłonkowe jelit. Mniej wrażliwe są komórki mięśniowe, narządy miękkie (np. wątroba), tkanka nerwowa i łączna [56,57]. Skutki napromienienia są widoczne zaraz po zabiegu/serii zabiegów radioterapii, inne pojawiają się po kilku tygodniach, miesiącach, a nawet latach od rozpoczęcia leczenia. Do najczęściej pojawiających się niepożądanych objawów, z których większość mija po pewnym czasie, należą: zmęczenie, ogólne osłabienie, utrata łaknienia i wymioty oraz powikłania popromienne. Radioczułość jest cechą osobniczą i gatunkową, przy czym przedstawiciele niższych grup taksonomicznych są przeważnie bardziej odporni na promieniowanie [15,45]. Tkanki, które są dobrze zaopatrzone w tlen ze względu na bogate unaczynienie odznaczają się zwiększoną promienioczułością. W centrum guza nowotworowego zawartość tlenu jest na ogół mniejsza niż w otaczających komórkach prawidłowych, dlatego obniża się wrażliwość na promie-

niowanie. W radioterapii przeciwnowotworowej często stosuje się metody zwiększające radioczułość komórek nieprawidłowych. Jedną z takich metod jest frakcjonowanie dawki: w każdej kolejnej frakcji promieniowania niszczone są komórki zewnętrzne, bogatsze w tlen, co stwarza możliwość zaabsorbowania większej porcji tlenu przez komórki uboższe w tlen. Niektóre związki chemiczne (radiocuczulacze) też mogą zwiększać radioczułość komórek nowotworowych.

W zależności od stosowanej energii wyróżnia się radioterapię konwencjonalną (60-400 keV) i megawoltową (1,25-25 MeV) [6,15,45]. W radioterapii konwencjonalnej, stosowanej w nowotworach skóry jest wykorzystywane wyłącznie mało przenikliwe promieniowanie X. Natomiast podczas radioterapii megawoltowej jest stosowane promieniowanie gamma generowane przez izotop kobaltu  $^{60}\text{Co}$  (linie o energii 1,17 i 1,33 MeV), promieniowanie X o wysokiej energii generowane w przyspieszeniu liniowym (4-25 MeV) oraz elektrony (6-22 MeV). Ze względu na sposób napromieniania pacjenta można wyodrębnić dwa podstawowe typy radioterapii: brachyterapię (BTH), opierającą się na leczeniu z zastosowaniem źródła promieniowania znajdującego się w bezpośrednim kontakcie z guzem oraz teleradioterapię (RTH), podczas której źródło jest umieszczone w pewnej odległości od tkanek.

Chemiczne i biologiczne skutki oddziaływania promieniowania jonizującego z żywą materią są wynikiem depozycji energii promieniowania bezpośrednio w docelowej makrocząsteczce, będącej składnikiem komórki, a przede wszystkim działania pośredniego, wynikającego ze wzbudzenia i rozpadu cząsteczek wody – radio-

lizej [30]. W początkowym etapie (w czasie około  $10^{-16}$  s po napromienieniu) dochodzi do jonizacji i wzbudzenia cząsteczek wody.

Następnie (w czasie  $10^{-14}$ - $10^{-13}$  s) wzbudzone cząsteczki wody rozpadają się na atomy wodoru (H) i rodniki hydroksylowe (OH). Kationorodniki wody ( $H_2O^+$ ) również tworzą rodniki hydroksylowe. W czasie około  $10^{-12}$  s swobodne początkowo elektrony uzyskują otoczkę cząsteczek wody, tworząc elektrony uwodnione ( $e^-_{aq}$ ). W wyniku oddziaływań między pierwotnymi wolnorodnikowymi produktami radiolizy (H,  $e^-_{aq}$ , OH) powstają produkty nierodnikowe, m.in. cząsteczki wodoru ( $H_2$ ) i nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ). Utworzone w ten sposób reaktywne formy tlenu (RFT) są odpowiedzialne za powstawanie, indukowanych działaniem promieniowania gamma, oksydacyjnych uszkodzeń kwasów nukleinowych (DNA, RNA), białek oraz lipidów błonowych [12,23]. Spośród RFT, rodnik hydroksylowy, jako silny utleniacz charakteryzuje się dużą reaktywnością, modyfikuje biomolekuły znajdujące się w miejscu jego powstawania. W DNA rodnik OH reaguje zarówno z cząsteczką deoksyrybozy, jak i z zasadami azotowymi. Reakcja z cząsteczką deoksyrybozy prowadzi do powstania pojedynczych i podwójnych pęknięć nici DNA [7,56]. Oksydacyjne uszkodzenia istotnych dla życia komórki biomolekuł są odpowiedzialne za większość, jeśli nie wszystkie, skutki biologiczne związane z działaniem promieniowania jonizującego występujące na poziomie komórek, tkanek, organów, układów i całego organizmu [42,47,62]. Komórki nabłonkowe, rozrodcze, a także hematopoetyczne komórki szpiku kostnego charakteryzują się dużym potencjałem proliferacyjnym. W przeciwieństwie do tego typu komórek, szybko ulegających regeneracji w organizmie, fibroblasty i komórki śródbłonna naczyń krwionośnych bardzo wolno się odnawiają, a neurony w ogóle nie ulegają proliferacji. Biorąc pod uwagę różne właściwości proliferacyjne komórek skutki ekspozycji organizmu na promieniowanie jonizujące w zależności od czasu i miejsca wystąpienia można zakwalifikować do jednej z pięciu grup [34] (tabela 1).

Ostry odczyn popromienny (typ I) występuje niedługo po radioterapii. W komórkach szpiku kostnego ujawnia się w postaci leukopenii i niedokrwistości. Objawia się też zmniejszeniem liczby plemników bądź komórek jajo-wych, a także uszkodzeniem (owrzodzenia, martwica) naskórka i błony śluzowej, m.in. przewodu pokarmowego, dróg oddechowych i moczowo-płciowych. Wczesny odczyn popromienny (typ II) występuje w czasie radioterapii i może się utrzymywać do kilku tygodni po napromienieniu. Miejscowy odczyn zapalny i obrzęk powoduje niszczenie komórek i dysfunkcji tkanki. Wystąpienie późnego odczynu popromiennego (typ III) może nastąpić po 6 miesiącach lub nawet 2-3 latach (lub więcej) po napromienieniu i jest to zwykle proces nieodwracalny, często zagrażający życiu. Skutkiem klinicznym mogą być, m.in. ograniczone teleangiektazje (uszkodzenie drobnych naczyń), zwłóknienie skóry właściwej i narządów (zwłóknienie nerki, marskość wątroby, martwica mózgu lub rdzenia kręgowego, niedrożność jelit). Do późnych powikłań popromiennych (typ IV – skutki stochastyczne), które mogą, ale nie muszą, ujawnić się 10-20 lat po radioterapii, można zaliczyć efekt teratogeny i karcynogenezę popromienną, oznaczającą wzrost ryzyka zachorowania na różnego typu nowotwory. Do skutków niepożądanych napromienienia typu V zalicza się uszkodzenie komórek, które nie były bezpośrednio ekspozowane na działanie promieniowania, powstałe w wyniku przekazywania sygnałów molekularnych między komórkami [33,35].

#### KLASYFIKACJA ZWIĄZKÓW O WŁAŚCIWOŚCIACH RADIOOCHRONNYCH

W ostatnich dziesięcioleciach przebadano kilkadziesiąt tysięcy związków pod kątem ich działania radioochronnego. Znalaziono wiele związków o takim działaniu, jednak większość z nich z powodu dużej toksyczności pozostała w fazie badań laboratoryjnych na zwierzętach. Kliniczne stosowanie radioprotektorów ma na celu zabezpieczanie niezmiennych nowotworowo tkanek przed uszkodzeniami, pojawiającymi się jako działanie niepożądane radioterapii. Przyjmuje się, że idealny radioprotektor powinien spełniać kilka kryteriów, m.in.

**Tabela 1.** Klasyfikacja skutków wywołanych działaniem promieniowania jonizującego w zależności od czasu wystąpienia i rodzaju tkanki [34]

Skutki promieniowania	Działanie na komórki/tkanki
Typ I – wczesny odczyn popromienny	programowana/nekrotyczna śmierć komórek szybko proliferujących
Typ II – wczesny odczyn popromienny	aktywacja genów odpowiedzialnych za poradiacyjną reakcję zapalną, wytwarzanie czynników wzrostu i cytokin, zwiększenie przepuszczalności naczyń krwionośnych, angiogenezę, hamowanie apoptozy /dysfunkcja puli komórek podścieliska łącznotkankowego (m.in. fibroblasty, komórki śródbłonna)
Typ III – późny odczyn popromienny	obrzęk, zwłóknienie i dezorganizacja tkanek, dysfunkcja narządów
Typ IV – skutki stochastyczne, prawdopodobieństwo wystąpienia jest wprost proporcjonalne do dawki	mutacje genomu napromienionych komórek somatycznych, nowotwory, m.in. komórek krwi (białaczki), nabłonka, tkanki łącznej
Typ V – działania niepożądane (bystander effects)	uszkodzenia komórek sąsiednich – nieekspozowanych na bezpośrednie działanie promieniowania

zapewniać skuteczną ochronę przed szkodliwym działaniem promieniowania, działać wybiórczo – chronić komórki prawidłowe, nie zmniejszając promienioczułości komórek nowotworowych, wpływać ochronnie na większość narządów, charakteryzować się odpowiednim profilem toksyczności i stabilności, wykazywać właściwości ochronne po podaniu doustnym lub domięśniowym oraz nie interferować z innymi lekami stosowanymi podczas terapii [34]. Ze względu na duże zróżnicowanie pod względem zarówno struktury, jak i mechanizmu działania, w literaturze można znaleźć różne klasyfikacje radioprotektorów.

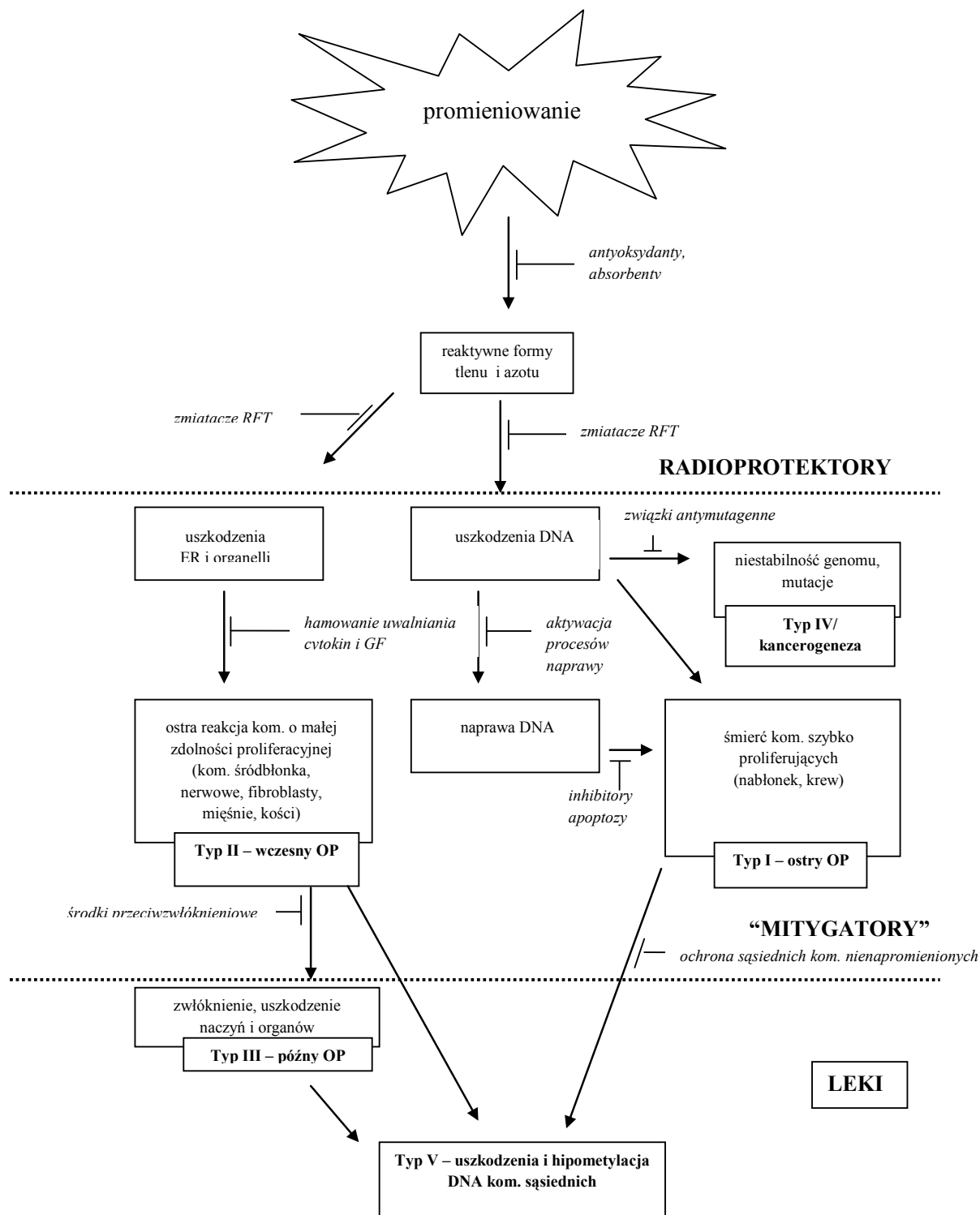
Związki mające zastosowanie w radioterapii w celu ochrony komórek nienowotworowych, w zależności od czasu ich podawania, można podzielić na trzy grupy: radioprotektory, środki o działaniu łagodzącym („mitygatory” – mitigators) oraz leki wspomagające (ryc. 1). W takim ujęciu do radioprotektorów są zaliczane związki, które podaje się przed lub w czasie napromieniania, aby zapobiec uszkodzeniom komórek prawidłowych. Środki łagodzące są stosowane w czasie lub bezpośrednio po zakończeniu napromieniania, w celu łagodzenia jego skutków. Leki podaje się natomiast po zakończonej radioterapii w celu poprawy jakości życia i ograniczenia dolegliwości towarzyszących leczeniu [10]. Promieniowanie indukuje zjawisko późnej toksyczności w tkankach prawidłowych przed wystąpieniem widocznych objawów klinicznych. „Mitygatory” mają łagodzić objawy późnej toksyczności, obejmujących stale zachodzącą mitotyczną śmierć komórek oraz aktywację kaskady cytokin, które mogą doprowadzić do uszkodzeń naczyń krwionośnych i niedotlenienia tkanek [10]. Grupa obejmuje substancje o bardzo zróżnicowanych mechanizmach działania farmakologicznego, w tym czynniki wzrostu, enzymy i różnorodne inhibitory aktywności enzymatycznej, związki modulujące szlaki przekazywania sygnałów oraz substancje o działaniu przeciwutleniającym. Jednym z przykładów środków łagodzących skutki radioterapii jest inhibitor proteazowy Bowmana-Birka, „mitygator” stymulujący procesy naprawy DNA, stosowany jako czynnik przeciwwłóknieniowy i chemioprewencyjny [14]. Natomiast substancje, takie jak celecoxib, kwas acetylosalicylowy i ibuprofen, zaliczane do niesteroidowych leków przeciwzapalnych, działają, jako „mitygatory” hamujące aktywność cyklooksygenazy 2 (COX-2) i ograniczające syntezę prostaglandyn po napromienianiu. Stosowane są m.in. w celu łagodzenia zapalenia błony śluzowej [19,54,61,63,74]. Natomiast „mitygatory”, takie jak kaptopryl, enalapril i ramipril wykazują aktywność inhibitorów konwertazy angiotensynowej (angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI). Związki te hamują tworzenie angiotensyny II z angiotensyny I, biorącej udział w regulacji objętości i ciśnienia krwi przez układ renina-angiotensyna-aldosteron. Stosowane są w celu zapobiegania wywołanej promieniowaniem nefropatii, neuropatii nerwu wzrokowego oraz zapalenia płuc [28,37,43,44]. Do „mitygatorów” wpływających na procesy detoksykacji i antyoksydacyjną ochronę organizmu należy oltipraz

(pochodna 1,2-ditiolo-3-tionu), działający jako jeden z induktorów enzymów II fazy. Chemioprewencyjne działanie tego związku obejmuje zwiększenie stężenia małych cząsteczkowych tioli w komórkach i stymulację ekspresji indukowalnej S-transferazy glutationowej oraz mikrosomalnej hydrolazy epoksydowej [31]. Izo-flawonoidy, takie jak genisteina to „mitygatory” o właściwościach inhibitorów kinaz tyrozynowych. Wykazują działanie antyoksydacyjne i chemioprewencyjne [38,55]. Inną grupą „mitygatorów” są statyny, działające jako inhibitory reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A (reduktaza HMG-CoA), które zahamowują kaskadę białka Rho (odpowiadające m.in. za reorganizację cytoszkieletu komórki i tworzenie połączeń międzykomórkowych)/CCN2 (białka międzykomórkowego przekazywania sygnałów)/macierz zewnątrzkomórkowa. Blokując przekazywanie sygnału tym szlakiem, statyny ograniczają występowanie enteropatii popromiennych i hamują proces zwłóknienia płuc [21,71,72]. „Mitygatorami” ograniczającymi procesy zwłóknienia są inhibitory szlaków zależnych od transformującego czynnika wzrostu (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ), takie jak halofuginon, 1D11 (przeciwciała anty-TGF- $\beta$ ) i SM16 (small molecule TGF- $\beta$  signalling inhibitor).

Nieco inna klasyfikacja związków radioochronnych obejmuje ich podział na radioprotektory, adaptogeny i absorbenty [41,45]. Adaptogeny to substancje naturalne, stymulujące radiooporność. Chronią organizm przed niskimi dawkami promieniowania jonizującego, wpływają normalizująco na ludzki organizm, nie blokując jego fizjologicznych funkcji. Przez oddziaływanie na układ neurokryny i endokryny, substancje te podnoszą odporność organizmu na bodźce fizyczne, chemiczne i biologiczne. Do substancji adaptogennych należą, m.in. saponozydy (saponiny) i flawonoidy [41,73]. Absorbenty są to natomiast leki chroniące organizm przed promieniowaniem jonizującym przez blokowanie włączenia jodu radioaktywnego przez gruczoł tarczowy i wchłanianie izotopów promieniotwórczych, takich jak cez  $^{137}\text{Cs}$  lub stront  $^{90}\text{Sr}$  [45].

Uwzględniając różne typy skutków wywołanych przez promieniowanie (tabela 1), radioprotektory można podzielić na pięć głównych grup, w których wyróżnia się podgrupy [34]. Są to radioprotektory:

1. Chroniące przed wszystkimi skutkami promieniowania:
  - zmniejszające zużycie tlenu,
  - zmiatające wolne rodniki (endogenne i egzogenne),
  - indukujące naprawy DNA.
2. Chroniące przed skutkami promieniowania typu I:
  - modulatory szlaku śmierci,
  - czynniki wzrostu.
3. Chroniące przed skutkami promieniowania typu II i III:
  - blokery procesów zapalnych i chemotaksji,
  - blokery szlaków autokryny/parakryny.



**Ryc. 1.** Schemat procesów indukowanych przez promieniowanie jonizujące i miejsca działania radioprotektorów [wg 32,45 - zmodyfikowano]. ER – retikulum endoplazmatyczne; OP – odczyn popromienny; GF – czynniki wzrostu



4. Chroniące przed skutkami promieniowania typu IV:  
 • związki antymutagenne (ochrona integralności genomu).

5. Chroniące przed skutkami promieniowania typu V.

#### Radioprotektory chroniące przed wszystkimi skutkami promieniowania

Jedynym jak dotąd radioprotektorem zatwierdzonym do użytku klinicznego przez amerykańską Agencję do Spraw Żywności i Leków (Food and Drug Administration, FDA) jest amifostyna. Amifostyna (2-[(3-amino-propyl) amino]ethylphosphorothioic amid, WR2721; ethiophos; Ethyol®) jest analogiem cystaminy, czyli najprostszego stabilnego aminotiolu, należącego do grupy 1 radioprotektorów. Wykazuje działanie cytoprotekcyjne, redukuje skutki niepożądane terapii przeciwnowotworowych. Mechanizm działania amifostyny jest związany z jej właściwościami przeciwutleniającymi, zdolnością do stabilizowania cząsteczki DNA i inaktywacji związków elektrofilowych oraz udziałem w naprawie DNA i w procesach apoptozy. Jest też związkiem, który po podaniu dożylnym zmniejsza zużycie tlenu, zmieniając metabolizm komórkowy w kierunku oddychania beztlenowego. Najistotniejszym działaniem niepożądanym amifostyny jest hipotensja, czyli spadek ciśnienia tętniczego (występuje prawie u 5% chorych). Rekomendowana dawka amifostyny w czasie radioterapii wynosi 200 mg/m<sup>2</sup>, podana 15-30 min przed każdą dawką radioterapii. Istnieją dane sugerujące, że amifostyna w istotny sposób zmniejsza częstość występowania ostrej i późnej kserostomii (suchość błony śluzowej jamy ustnej z powodu uszkodzenia ślinianek) wywołanej radioterapią u chorych na raka głowy i szyi, zapobiega nefrotoksyczności wywołanej przez platynę i zmniejsza neutropenię wywołaną lekami alkilującymi [18,41]. Po podaniu dożylnym, podczas transportu do komórki, amifostyna ulega defosforylacji, z udziałem błonowej fosfatazy alkalicznej, tworząc aktywną postać WR1065. Obserwowany niższy poziom WR1065 w komórkach nowotworowych, w porównaniu z komórkami prawidłowymi, jest związany z mniejszą aktywnością fosfatazy alkalicznej w tych komórkach. Selektywny transport WR1065 do komórek wpływa na różny mechanizm działania amifostyny w komórkach prawidłowych i nowotworowych. Mechanizm działania amifostyny jest związany z obecnością wolnej grupy -SH, stanowiącej miejsce aktywne cząsteczki i działającej jako czynnik usuwający wolne rodniki lub przekształcający je w mniej toksyczne cząsteczki stabilne. Metabolit amifostyny WR-1065 wykazuje właściwości redukujące, zwłaszcza w stosunku do rodnika hydroksylowego. Amifostyna zwiększa aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, wpływa na aktywność reduktazy i peroksydazy glutationowej oraz katalazy. Ze względu na obecność dodatnio naładowanej grupy aminowej (+2 w postaci tiolowej, +4 w postaci disiarczkowej) związek może się łączyć z ujemnie naładowanymi obszarami jądrowego i mitochondrialnego DNA, chroniąc go przed uszkodzeniami wolnorodnikowymi. Przyłączenie amifostyny stabilizuje

fragmety helisy DNA, niezwiązanej z histonami, co może się przyczynić do skuteczniejszej naprawy uszkodzeń DNA [18,41].

Do innych badanych obecnie związków zmniejszających zużycie tlenu można m.in. zaliczyć związki aktywujące czynniki transkrypcyjne HIF-1 $\alpha$  i HIF-2 $\alpha$  (hypoxia-inducible factors 1-alpha, 2-alpha), np. Tilorone, a także inhibitory hydroksylaz prolilowych (prolyl-hydroxylase, PHD), jednak związki te charakteryzują się stosunkowo dużą toksycznością. Czynniki zmiatającymi wolne rodniki, które są badane pod kątem działania radiochronnego są np. enzymy antyoksydacyjne: N-acetylocysteina, fulareny, nitroksydy. Natomiast przykładem radioprotektora, który działa przez aktywację procesów naprawy DNA może być resweratrol (3,4-trihydroxy-trans-stilben) [34].

#### Radioprotektory chroniące przed skutkami promieniowania typu I

Do grupy tej należą czynniki wzrostu działające bezpośrednio na tkankowe komórki macierzyste regenerujące tkankę nabłonkową lub hematopoetyczne komórki macierzyste regenerujące tkanki wywodzące się z mezodermy. Komórki te znajdują się zarówno w tkankach (np. komórki satelitarne w mięśniach, komórki hematopoetyczne w szpiku), jak i we krwi krążącej. Ich regeneracja jest inicjowana przez rozpuszczalne czynniki uwalniane z uszkodzonych tkanek (resztki komórek macierzy zewnątrzkomórkowej, cytokiny zapalne), które są sygnałem dla tkankowych komórek macierzystych do proliferacji oraz do rekrutacji komórek macierzystych ze szpiku. Krążące komórki macierzyste, dzięki gradientowi substancji uwalnianych z uszkodzenia, są kierowane do miejsc ubytku, gdzie następuje ich namnażanie i różnicowanie. Krwiotwórcze czynniki wzrostu, takie jak erytropoetyna (erythropoietin, EPO) lub czynnik stymulujący kolonie granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) są związkami stosowanymi w anemii i neutropenii po chemioterapii lub radiochemioterapii. GM-CSF może również odgrywać rolę w ostrym zapaleniu błony śluzowej spowodowanej promieniowaniem [45].

Innym radioprotektorem zaliczanym do grupy 2 jest bekaplermina, czyli rekombinowany ludzki płytkowy czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor, PDGF). Substancja istotnie wpływa na poprawę zdrowia pacjentów, prawdopodobnie odgrywa również ważną rolę w kościotworzeniu. Kolejnym czynnikiem wzrostu o właściwościach radioprotekcyjnych jest palifermina, rekombinowany ludzki czynnik wzrostu keratynocytów (keratinocyte growth factor, KGF), wytwarzany przez transformowane bakterie *Escherichia coli*. Palifermina jest stosowana w ciężkim zapaleniu błony śluzowej jamy ustnej, występującym po chemio- i radioterapii [16,40]. Ma na celu zmniejszenie częstości występowania, skrócenia czasu trwania oraz złagodzenia zapalenia błony śluzowej jamy ustnej u pacjentów z nowotworami układu

krwiotwórczego otrzymujących terapię mieloablacyjną. Lek jest stosowany jako radioprotektor, czyli przed rozpoczęciem leczenia – pierwsze trzy dawki podaje się przed rozpoczęciem terapii (ostatnia dawka 24-48 godzin przed rozpoczęciem leczenia) oraz jako „mitygator”, podawany po radioterapii [15,24,39]. Innymi przykładami związków należących do grupy modulatorów szlaku śmierci są analogi bakteryjnego białka flageliny, pochodzącego z *Salmonella enterica*. Podanie rekombinowanej flageliny CBLB502 powoduje jej wiązanie z receptorem Toll i hamowanie aktywacji czynnika NF- $\kappa$ B [34].

### Radioprotektory chroniące przed skutkami promieniowania typu II i III

Do grupy tej należy rekombinowane przeciwciało monoklonalne - Tocilizumab. Jest pierwszym i jak dotychczas jedynym w swojej klasie lekiem hamującym biologiczne działanie IL-6. Tocilizumab wiąże się swoiście zarówno z błonowym, jak i rozpuszczalnym receptorem IL-6, przez co hamuje jej biologiczne działanie. Ma silne działanie przeciwzapalne – blokuje adhezję leukocytów do komórek śródbłonna. Inny radioprotektor zaliczany do tej grupy - anakinra, jest lekiem immunosupresyjnym hamującym działanie IL-1. Związek jest rekombinowanym antagonistą receptora IL-1, zmniejszającym prozapalną aktywność tej cytokiny [45].

Przykładem radioprotektora należącego do grupy 3 jest prawastatyna – inhibitor reduktazy HMG-CoA. Ze względu na możliwość stosowania zarówno przed, jak i po radioterapii prawastatyna jest zaliczana do „mitygatorów”. Działa przeciwzapalnie w napromieniowanych komórkach śródbłonna, m.in. przez hamowanie nasilonej syntezy białka chemotaktycznego monocyto-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) i uwalniania prozapalnych cytokin IL-6 oraz IL-8 [6]. Funkcję radioprotektorów mogą także pełnić inhibitory szlaków przekazywania sygnału z udziałem przekaźników SMAD (Sma and Mad related proteins). Są to przekaźniki, takie jak SB203580 (inhibitor enzymów z grupy p38 MAPK - kinaz aktywowanych mitogenami, mitogen activated kinases) oraz dimerycznego analogu daunorubicyny -WP631. Wykazano, że związki te przeciwdziałają zwłóknieniu płuc przez hamowanie nadmiernej proliferacji fibroblastów wywołanej promieniowaniem [34].

### MECHANIZMY RADIOCHRONNEGO DZIAŁANIA ZWIĄZKÓW POCHODZENIA ROŚLINNEGO

Spśród wielu przebadanych związków chemicznych interesującymi substancjami o potencjalnych właściwościach radioprotekcyjnych są naturalne związki uzyskiwane z różnorodnych roślin jadalnych oraz ziół. Związki roślinne, w porównaniu z syntetycznymi radioprotektorami, m.in. tiolowymi, są bezpieczniejsze, mniej toksyczne i tańsze w pozyskiwaniu, a niejednokrotnie są to substancje powszechnie stosowane w medycynie tradycyjnej. Związki roślinne spełniają kryteria idealnych radioprotektorów ponieważ charakteryzują się różno-

rodnością mechanizmów działania chroniących przed niepożądanymi skutkami promieniowania. Wiele substancji pochodzenia roślinnego charakteryzuje także długi okres półtrwania oraz brak interakcji z innymi lekami podawanymi w czasie terapii klinicznej [4].

Jako główny mechanizm radioochronnego działania substancji roślinnych najczęściej wymienia się neutralizację RFT. Poza tym podawane w trakcie i/lub po ekspozycji organizmu na działanie promieniowania jonizującego, związki te są nie tylko przeciwutleniaczami zdolnymi do zmiatania wolnych rodników, ale wykazują wiele innych właściwości biologicznych, ważnych dla radioprotekcji i poprawiających komfort życia pacjentów poddanych radioterapii, takich jak działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwmutagenne, immunostymulacyjne, a także przeciwwymiotne (tabela 2) [4,27]. Dobrym przykładem związków roślinnych o plejotropowym działaniu, które wykazują właściwości radioochronne, są kwasy fenolowe (np. kwas kawowy) oraz flawonoidy, wśród których wyróżnia się flawony (np. luteolina), flawonole (np. kwercetyna, kempferol), flawanony (np. hesperydyna), flawanole (np. katechina, gallokatechina), izoflawony (np. genisteina), antocyjany (np. cyjanidyna), stilbeny (resweratrol) [25]. Związki te mogą wpływać na regulację różnych szlaków sygnalizacyjnych, a także działać na promienioczułość komórek nowotworowych [52].

Działanie przeciwutleniające związków pochodzenia roślinnego obejmuje usuwanie wolnych rodników przez przejście przez rodnik elektronu odłączonego od przeciwutleniacza (mechanizm typu SET, single electron transfer) lub w wyniku reakcji, w której przeciwutleniacz jest donorem atomu wodoru (mechanizm HAT, hydrogen atom transfer). Ze względu na krótki czas półtrwania większości RFT, przeciwutleniacz musi być obecny w układzie biologicznym (w środowisku komórki) przed ekspozycją komórek na działanie promieniowania indukującego powstawanie wolnych rodników. Ustalono, że ochrona DNA przez naturalne związki roślinne polega głównie na zapobieganiu pośrednim skutkom promieniowania przez przechwytywanie rodnika hydroksylowego i innych RFT zanim dojdzie do zmian w strukturze DNA. Właściwości przeciwutleniające wykazuje wiele związków syntetyzowanych przez rośliny, są to m.in.: związki azotowe (alkaloidy, aminy, aminokwasy, peptydy), pochodne chlorofilu, związki fenolowe (kwasy fenolowe i flawonoidy), cukry (glukoza, mannitol, polisacharydy), lipidy i fosfolipidy, hormony (fitomelatonina) oraz witaminy np. hydrofobowe tokoferole i karotenoidy lub rozpuszczalny w wodzie kwas askorbinowy.

Odpowiednie stężenie zredukowanego glutationu (GSH) w komórkach pomaga utrzymać równowagę redoks, chroni komórki przed stresem oksydacyjnym i zapobiega uszkodzeniom głównych makromolekuł [27,41]. Niektóre związki roślinne, w tym powszechnie występujące polifenole, poza bezpośrednią interakcją z oksydantami, wspomagają komórkowy system ochrony antyoksyda-

cyjnej, przez zwiększanie syntezy GSH oraz ekspresji enzymów antyoksydacyjnych - transferaz S-glutationowych (GST), dysmutaz ponadtlenkowych (SOD), peroksydaz glutationowych (GSH-Px) oraz katalaz [4,25]. Innym przykładem tego typu działania jest likopen, należący do karotenoidów, który także wspomaga utrzymanie odpowiedniego stężenia GSH oraz podwyższa stężenie transferazy- $\gamma$ -glutamylowej w komórkach.

Antyoksydanty roślinne, takie jak flawonoidy, polisacharydy, a także kofeina zmniejszają liczbę uszkodzeń DNA (pęknięć jedno- i dwuniciowych oraz oksydacyjnych modyfikacji zasad azotowych) występujących po napromieniowaniu. Polifenole, które licznie występują w ziołach i roślinach leczniczych powodują też wzrost ekspresji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za naprawę DNA, m.in. glikozyłaz DNA, co zwiększa efektywność naprawy błędów, które wystąpiły na skutek działania promieniowania jonizującego [27]. Substancje pochodzenia roślinnego mogą również blokować ekspresję wybranych genów, m.in. cytochromu P-450, kinazy białkowej C (PKC), kinaz aktywowanych mitogenami (MAPK), biorących udział w powstawaniu uszkodzeń popromiennych [27]. Istotnym mechanizmem przeciwnie działającej aktywności substancji polifenolowych, np. kwercetyny, katechin, rutyny, luteoliny, czy mirycetyny, jest zdolność chelatowania jonów metali przejściowych. Zaobserwowano, że związki chelatujące jony żelaza mogą zmniejszać odsetek uszkodzeń DNA, a także modyfikacji oksydacyjnych białek i lipidów wywołanych promieniowaniem jonizującym [69].

#### **WŁAŚCIWOŚCI RADIOPROTEKCYJNE WYBRANYCH SUBSTANCJI POCHODZENIA ROŚLINNEGO**

Badanie epidemiologiczne przeprowadzone wśród mieszkańców Hiroszimy i Nagasaki, którzy przeżyli wybuch bomby jądrowej wykazały, że nawet po narażeniu na dużą dawkę promieniowania dieta bogata w warzywa i owoce istotnie zmniejszyła (nawet do 50%) ryzyko wystąpienia choroby nowotworowej [58]. Dieta bogata w antyoksydanty jest również zalecana pacjentom po radioterapii. Dostępne są liczne dane pochodzące zarówno z badań *in vitro*, jak *in vivo*, potwierdzające radioprotekcyjne właściwości różnorodnych związków roślinnych, należących do składników diety (warzywa, owoce, przyprawy), ziół oraz roślin leczniczych pochodzących z różnych regionów świata, wykorzystywanych, m.in. w medycynie chińskiej, czy ajurwedyjskiej [4,27,41,45,67,68]. Przykłady wybranych składników diety oraz fitozwiązków, stosowanych w postaci złożonych ekstraktów lub substancji wyizolowanych z roślin, o udowodnionym działaniu radioochronnym przedstawiono w tabeli 2 i 3.

Wykazano, że flawonoidy, m.in. genisteina, kwercetyna i luteolina, mogą zmniejszać częstość występowania retikulocytów zawierających mikrojądra w krwi obwodowej myszy poddanych działaniu promieniowania  $\gamma$  (1,5 Gy) [59]. Genisteina i kwercetyna chronią prawidłowe

komórki przed uszkodzeniami DNA, natomiast w komórkach nowotworowych działają genotoksycznie powodując zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M, przyspieszając ich apoptozę [25]. W modelu zwierzęcym genisteina działa jako immunomodulator i radioprotektant (zwiększa przeżywalność myszy przez pobudzenie neutrofilów, regenerację płytek krwi i ochronę komórek macierzystych układu krwiotwórczego. Chryzyna, epikatechina, kwercetyna, naryngina i trokserutyna zwiększają stabilność genetyczną komórek przez zapobieganie powstawaniu pęknięć nici plazmidowego DNA (zmiany w DNA jednoniciowym). Natomiast hesperedyna, kwercetyna, trokserutyna zmniejszają uszkodzenia genomu, chroniąc dwuniciowe DNA przed zmianami wywołanymi promieniowaniem jonizującym. Ponadto luteolina zapobiega peroksydacji lipidów w komórkach szpiku kostnego i śledziony u napromienianych myszy [69]. Inne flawonoidy, orientyna i wicenina, podawane dootrzewnowo myszom przed napromienieniem (11 Gy) zapewniały ochronę przed śmiercią spowodowaną uszkodzeniem szpiku kostnego [66]. Procyjanidyny otrzymanywane z ekstraktu pestek winogron wpływały ochronnie na myszy poddawane promieniowaniu X (0,48 Gy), zaobserwowano spadek częstości występowania mikrojąder retikulocytów w szpiku kostnym [9]. Badania z zastosowaniem resweratrolu, hydroksystilbenu obecnego, m.in. w winogronach, wykazały wyraźny wpływ ochronny tego związku - redukcję występowania aberracji chromosomowych, indukowanych promieniowaniem  $\gamma$  (3 Gy) w mysich komórkach szpiku kostnego [8]. Wyniki niedawnych badań wskazują, że resweratrol hamuje apoptozę komórek nerwowych wywołaną promieniowaniem w wyniku aktywacji sirtuiny 1, co może mieć istotne znaczenie w ochronie neuronów [39]. Ponadto, niektóre wyniki badań sugerują, że resweratrol może mieć właściwości radiouczulające komórki nowotworowe [53].

Radioochronne działanie wykazują polifenole zawarte w ekstraktach z zielonej herbaty, a także kurkumina, które mogą chronić komórki przed uszkodzeniami chromatyny wywołanymi działaniem promieniowania [51]. W badaniach *in vitro* na linii komórkowej jajnika chomika chińskiego (CHO-K1) poddawanej promieniowaniu  $\gamma$  (2,5 Gy) obecność kurkuminy obniżała częstość wystąpień aberracji chromosomowych [3]. Kurkumina ma również właściwości radiouczulające, które mogą wynikać ze zdolności do aktywacji genów odpowiedzialnych za śmierć komórkową [37]. Przeciwnowotworowe działanie kurkuminy zaobserwowano w badaniach z wykorzystaniem różnych linii komórkowych, takich jak np. linie raka stercza PC-3, linie komórek białaczki szpikowej, komórki raka okrężnicy HT29. Jako główny mechanizm antyproliferacyjnego działania kurkuminy wskazuje się zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie S/G2M. Wstępne prace badawcze *in vivo* wykazały, że podanie zwierzętom (myszy) kurkuminy (100 mg/kg masy ciała) przed ekspozycją na różne dawki promieniowania (2, 4, 6 lub 8 Gy), znacznie przyspieszało procesy gojenia się ran [1]. Zaobserwowano także rzadsze występowanie



**Tabela. 2.** Radioprotekcyjne właściwości biologiczne substancji pochodzenia roślinnego (wg [4,49])

Aktywność biologiczna/ właściwości	Działania radioochronne	Przykładowe substancje/źródła roślinnych radioprotektorów
Przeciwutleniająca	Neutralizacja rodnikowych i nierodnikowych RFT zapobiegająca uszkodzeniom ważnych makromolekuł, w tym DNA i składników błon biologicznych	Różnorodne fenole i polifenole, np. epikatechina i jej pochodne eugenol (terpen) genisteina (izoflawonoid) kurkumina (pochodna fenolokwasów) kwercetyna (flawonoid) luteolina (flawonoid) resweratrol (stilben)
Przeciwzapalne	Łagodzenie przebiegu procesów zapalnych wywołanych uszkodzeniem tkanek przez promieniowanie	Korzeń lukrecji gładkiej ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> ), liście aloesu zwyczajnego ( <i>Aloe vera</i> )
Immunostymulująca	Zwiększenie odporności organizmu	Korzeń żeń-szeń ( <i>Panax ginseng</i> ), owoce rokitnika zwyczajnego ( <i>Hippophae rhamnoides</i> ) pędy i liście jemioli pospolitej ( <i>Viscum album</i> ) ziele bazylii świętej ( <i>Ocimum sanctum</i> )
Przeciwmutagenne i przeciwnowotworowe	Zmniejszenie ryzyka wystąpienia nowotworów (skutki stochastyczne)	Taniny obecne w owocach aronii ( <i>Aronia melanocarpa</i> ) i tarniny ( <i>Prunus spinosa</i> ), resweratrol
Przeciwbakteryjne	Zapobieganie infekcjom bakteryjnym, szczególnie w wyniku zakażeń szczepami Gram-ujemnymi, migrującymi z układu pokarmowego, spowodowanym mielosupresją po radioterapii	Ziele bazylii świętej ( <i>Ocimum sanctum</i> ) ziele mięty polnej ( <i>Mentha arvensis</i> ) kwiatostany dziurawca zwyczajnego ( <i>Hypericum perforatum</i> )
Przeciwwymiotne	Łagodzenie działań niepożądanych radioterapii - nudności, wymiotów, braku apetytu	Ekstrakty z liści mięty pieprzowej ( <i>Mentha piperita</i> ) kłącze imbiru ( <i>Zingiber officinale</i> )

nie aberracji chromosomowych, stresu oksydacyjnego i związane z nim uszkodzenia hepatocytów oraz zwiększenie obrony antyoksydacyjnej (wzrost stężenia GSH i GSH-Px) w porównaniu z grupą zwierząt, którym nie podawano kurkuminy przed lub po napromienieniu [66]. Natomiast badania przeprowadzone przez Zhu i wsp. [75] wykazały, że galusan epigallockatechiny (EGCG), główny polifenol wchodzący w skład zielonej herbaty (*Camellia sinensis*), istotnie zwiększał procent przeżywalności (po 48-72 h) oraz zmniejszał apoptozę ludzkich keranocytów skóry (linia HaCaT), które były poddane działaniu promieniowania X. EGCG o stężeniu 50 µM dodawany do hodowli keratynocytów godzinę przed napromienieniem (20 Gy) zmniejszał indukowane promieniowaniem uszkodzenia mitochondriów, częściowo przez zwiększanie ekspresji mitochondrialnej dysmutazy ponadtlenkowej (SOD2). W keranocytach napromienionych w obecności EGCG zaobserwowano nadekspresję oksydazy hemowej 1 (HO-1), znanej także jako białko szoku cieplnego 32 (HSP32), któremu przypisuje się działanie cytoprotekcyjne. Zaobserwowano także zmniejszenie poziomu reaktywnych form tlenu w porównaniu z komórkami napromienianymi bez antyoksydantu. Wyniki innych doświadczeń przeprowadzone na myszach potwierdziły skuteczność radioprotekcyjną EGCG [13]. Ze względu

na to, że zaburzenie spermatogenezy jest częstym skutkiem niepożądanym ekspozycji zwierząt doświadczalnych na promieniowanie jonizujące, w przeprowadzonym doświadczeniu samce były napromieniane (2 Gy) po wcześniejszym podaniu dootrzewnowo EGCG (50 mg/kg m.c.), a następnie po napromienieniu leczenie za pomocą EGCG w sposób przerywany kontynuowano przez 24 dni. Zastosowanie EGCG istotnie zmniejszyło poziom stresu oksydacyjnego w jądrach napromienionych samców, w porównaniu z grupą napromienianą bez antyoksydantu i chroniło plemniki przed zniszczeniem przez promieniowanie, a długoterminowym skutkiem podawania EGCG okazała się stymulacja spermatogenezy.

Metyloksantyny - alkaloidy roślinne, kofeina, teofilina i teobromina, są antagonistami receptorów adenylozynowych, modulującymi odpowiedź komórek na promieniowanie. Stosując plazmidowy DNA (pBR322) stwierdzono, że np. kofeina może ograniczać powstawanie jednoniciowych pęknięć kwasu nukleinowego, wywołanych ekspozycją na promieniowanie gamma w dawce 1,20 Gy/min. Doświadczenia z zastosowaniem nadtlenu wodoru, anionorodnika ponadtlenkowego oraz rodnika deoksyrobozy wykazały, że obserwowane działanie ochronne

**Tabela 3.** Wybrane składniki diety zawierające substancje radioochronne [17]

Ekstrakty/ napary/ jadalne części roślin	Działanie ochronne przed promieniowaniem $\gamma$ i długoterminowymi skutkami napromienienia
Czosnek ( <i>Allium L.</i> )	Podawany doustnie szczurom kilka dni przed napromienieniem (2 Gy) istotnie zmniejszał częstość występowania w szpiku kostnym erytrocytów polichromatycznych zawierających mikrojądra [60]; występująca w czosnku allicyna ma właściwości antymutagenne i może zwiększać odsetek przeżycia napromieniowanych zwierząt [28,32], organiczne związki siarki i selenu – hamują ekspresję genów i przez to aktywację NF- $\kappa$ B, ERK 1/2, JNK 1/2 i AKT, przejawiając działanie przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne i przeciwzakrzepowe oraz zapobiegając chorobom układu sercowo-naczyniowego [17]
Zielona herbata ( <i>Camellia sinensis</i> )	Epitatchina, główny składnik polifenolowy herbaty, podana przed napromienieniem (5Gy) chroniła wątrobę i jądra myszy przed uszkodzeniami oksydacyjnymi [12]
Kłącze imbiru ( <i>Zingiber officinale</i> )	Składnik wielu środków leczniczych, głównie o działaniu przeciwzapalnym i przeciwwymiotnym. Napój z imbiru - polecany składnik diety pacjentów poddawanych chemo- i radioterapii, łagodzący nudności towarzyszące leczeniu. Wyniki badań wskazują na ochronne działanie ekstraktu z imbiru na organizm myszy eksponowanych na promieniowanie (10 Gy) – wzrost przeżywalności badanych zwierząt (o ponad 30%), zmniejsza stopień uszkodzenia układu pokarmowego i krwiotwórczego [5]
Jabłka, aronia i owoce cytrusowe, m. in. pomarańcza, grejpfrut ( <i>Malus Mill, Aronia melanocarpa, Citrus L</i> )	Liczne zawarte w nich polifenole (flawonole, katechiny, antocyjaniny, izoflawonoidy) to silne antyoksydanty o działaniu przeciwzapalnym, antykarcynogennym, antyproliferacyjnym. Zwiększają ekspresję endotelialnej syntazy tlenu azotu, i endoteliny 1 [17]. Ekstrakt z <i>Citrus aurantium</i> var. <i>amara</i> wstrzyknięty dootrzewnowo myszom – redukcja klastogennego skutku promieniowania (1,5 Gy) w szpiku kostnym [26]
Rośliny krzyżowe ( <i>Cruciferae/ Brassicaceae</i> ) m. in. kapusty, brokuły	Zawierają glukozynolany – indukcja enzymów II fazy, GST, reduktazy chinonowej, UDP-glukuronozylotransferazy (chemioprewencja nowotworów płuc, żołądka, jelita, odbytu) [17,22]
Soja ( <i>Glycine</i> Willd.) i jej produkty	Zawiera m.in. genisteinę, która jest silnym inhibitorem topozomerazy typu II. Może również hamować płytkowy i epidermalny czynnik wzrostu, indukując mitogenezę i inicjując syntezę DNA [25]
Owoce wiśni ( <i>Cerasus Mill.</i> )	W porównaniu z innymi owocami zawierają najwięcej melatoniny – hormonu, wytwarzanego przez szyszynkę u zwierząt [54], antyoksydantu i zmiatacza wolnych rodników powstających podczas napromieniania [29]; melatonina podawana przed napromienieniem (8 i 15 Gy) zwiększała odsetek przeżycia myszy [69]

NF- $\kappa$ B – jądrowy czynnik transkrypcyjny  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B), ERK 1/2 – zewnątrzkomórkowe kinazy RFT-zależne (ROS-dependent extracellular regulated kinases), JNK 1/2 – kinazy c-Jun N-terminalne (c-Jun N-terminal kinases), AKT – kinaza serynowo/treoninowa (serine/threonine kinase)

jest związane z właściwościami antyoksydacyjnymi kofeiny [35]. Wykazano, że niektóre gatunki owoców jagodowych (aronia, tarnina) charakteryzujące się dużą zawartością tanin, głównie skondensowanych (oligomery proantocyjanidyn, Pycnogenol®, czy leukocyjanidyny), mogą mieć silne właściwości antymutagenne [49].

Dostępne są również dane wskazujące na radioprotekcyjne właściwości roślinnych kwasów fenolowych z grupy kwasów cynamonowych (kwas *trans*-cynamonowy, kawowy oraz rozmarynowy), a także pochodnych kwasu benzoowego (kwas galusowy) [20]. Wymienione kwasy cynamonowe mogą znacząco zredukować liczbę dwuniciowych pęknięć DNA w ludzkich keratynocytach (badania *in vitro*). Ochronne właściwości kwasu galusowego potwierdzone są już badaniami *in vivo*. Zastosowanie fenolokwasu w dawce 100 mg/kg m.c., podawanego z pokarmem, godzinę przed ekspozycją myszy na promieniowanie  $\gamma$  (2-8 Gy) istotnie zredukowało m.in. poziom uszkodzeń DNA w leukocytach krwi obwodowej, splenocytach oraz komórkach szpiku. Stwierdzono ponadto, że kwas galusowy wspomagał u napromienionych myszy obronę antyoksydacyjną –

przeciwdziałał spadkowi aktywności peroksydazy glutationowej oraz ubytkowi zredukowanego glutationu. W grupie myszy poddanych działaniu letalnej dawki promieniowania (10 Gy) zaobserwowano także, że podanie kwasu galusowego znacząco obniża utratę masy oraz śmiertelność [46].

W ciągu ostatniej dekady zebrano imponującą liczbę danych doświadczalnych, w których potwierdzono, głównie na modelach komórkowych i zwierzętach, radioochronne działanie różnorodnych związków pochodzenia roślinnego. Opisano wiele substancji roślinnych, w postaci złożonej – ekstraktów bądź bardziej jednorodnych, oczyszczonych związków, które mogą być skuteczne w ochronie i leczeniu powikłań ostrej, wczesnej i późnej toksyczności po napromienieniu, a także w zmniejszaniu ryzyka karcynogenezy po ekspozycji na terapeutyczne lub diagnostyczne dawki promieniowania jonizującego. W najnowszej literaturze pojawiają się doniesienia potwierdzające ochronne właściwości oraz bezpieczeństwo stosowania fitozwiązków u pacjentów w trakcie terapii antynowotworowej, obejmującego radioterapię. Bezpieczeństwo stosowania roślinnego

radioprotektora potwierdzono m.in. w badaniach Nexrutine® - preparatu z korkowca amurskiego (*Phellodendron amurense*). Mimo wysokiej dawki (500 mg, 3 razy dziennie, przez 1-2 miesiące) preparat był dobrze tolerowany u pacjentów z rakiem stercza, poddawanych leczeniu operacyjnemu lub radioterapii [65]. Przeprowadzono także randomizowane badania kliniczne porównujące radioprotekcyjne działanie produktu ziołowego zawierającego ekstrakt z dwóch gatunków ślazu *Malva sylvestris* oraz *Alcea digitata* i komercyjnego, syntetycznego preparatu Hypozalix. Badaniem objęto 62 pacjentów, u których zdiagnozowano nowotwory głowy lub szyi, a ocenie poddano ich skuteczność w kserostomii (suchość w jamie ustnej), jednego z działań niepożądanych radioterapii. Preparat zawierający ekstrakty ślazu stosowano przez 4 tygodnie - redukcję stopnia suchości w ustach stwierdzono w grupie pacjentów przyjmujących mieszaninę ekstraktów ze ślazu, natomiast skutku łagodzącego te dolegliwości nie stwierdzono u osób przyjmujących Hypozalix [2]. Pacjentów z nowotworami głowy lub szyi objęto także wstępnym badaniem skuteczności kremu o nazwie Vicco® TURMERIC CREAM, zawierającego ekstrakt z kurkumy (*Curcuma longa*) oraz olejek z sandałowca (*Santalum L.*), jako preparatu redukującego miejscowo stany zapalne skóry po radioterapii. Wstępne wyniki badań są bardzo obiecujące

i wskazują, że stosowanie kremu może redukować stan zapalny skóry wywołany ekspozycją na promieniowanie, konieczne jest jednak przeprowadzenie badań klinicznych z udziałem większej grupy pacjentów [50]. Podobne założenia zastosowano w badaniu prospektywnym obejmującym ocenę radioochronnego działania roślinnego preparatu Capilen® CREAM u chorych na raka sutka, poddawanych radioterapii adiuwantowej. Wykazano, że stosowanie badanego kremu ogranicza nasilenie stanów zapalnych skóry wywołanych radioterapią [64]. Pojawiły się też dane wskazujące na pozytywne efekty stosowania kannabiodów jako związków redukujących wiele działań niepożądanych radio- i chemioterapii, takich jak brak apetytu, mdłości i wymioty, utrata tkanki kostnej czy nefrotoksyczność [48].

Głównym czynnikiem ograniczającym prowadzenie badań klinicznych substancji lub ekstraktów roślinnych są trudności z określeniem pełnego składu i/lub struktury badanych związków, ich standaryzacji, a także nie do końca poznane mechanizmy działania i toksyczność. Mimo wielu ograniczeń, roślinne radioprotektory stanowią interesujący kierunek badań, jako obiecujące uzupełnienie działania syntetycznych środków farmakologicznych w celu łagodzenia niepożądanych skutków radioterapii.

## PISMIENICTWO

- [1] Akpolat M., Kanter M., Uzal M.C.: Protective effects of curcumin against g radiation-induced ileal mucosal damage. Arch. Toxicol., 2009; 83: 609-617
- [2] Ameri A., Heydarirad G., Rezaeizadeh H., Choopani R., Ghobadi A., Gachkar L.: Evaluation of efficacy of an herbal compound on dry mouth in patients with head and neck cancers: a randomized clinical trial. J. Evid. Based Complementary Altern. Med., 2016; 21: 30-33
- [3] Araujo M.C., Dias F.L., Takahashi C.S.: Potentiation by turmeric and curcumin of g-radiation-induced chromosome aberrations in Chinese hamster ovary cells. Teratog. Carcinog. Mutagen., 1999; 19: 9-18
- [4] Arora R., Gupta D., Chawla R., Sagar R., Sharma A., Kumar R., Prasad J., Singh S., Samanta N., Sharma R.K.: Radioprotection by plant products: present status and future prospects. Phytother. Res., 2005; 19: 1-22
- [5] Baliga M.S., Haniadka R., Pereira M.M., Thilakchand K.R., Rao S., Arora R.: Radioprotective effects of Zingiber officinale Roscoe (ginger): past, present and future. Food Funct., 2012; 3: 714-723
- [6] Beskow C., Agren-Cronqvist A.K., Lewensohn R., Toma-Dasu I.: Biological effective dose evaluation and assessment of rectal and bladder complications for cervical cancer treated with radiotherapy and surgery. J. Contemp. Brachytherapy, 2012; 4: 205-212
- [7] Billen D.: Spontaneous DNA damage and its significance for the „negligible dose” controversy in radiation protection. Radiat. Res., 1990; 124: 242-245
- [8] Carsten R.E., Bachand A.M., Bailey S.M., Ullrich R.L.: Resveratrol reduces radiation-induced chromosome aberration frequencies in mouse bone marrow cells. Radiat. Res., 2008; 169: 633-638
- [9] Castillo J., Benavente-Garcia O., Lorente J., Alcaraz M., Redondo A., Ortuno A., Del Rio J.A.: Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced in vivo by X-rays of flavan-3-ols (Procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds. J. Agric. Food Chem., 2000; 48: 1738-1745
- [10] Citrin D., Cotrim A.P., Hyodo F., Baum B.J., Krishna M.C., Mitchell J.B.: Radioprotectors and mitigators of radiation-induced normal tissue injury. Oncologist, 2010; 15: 360-371
- [11] Das D., Sinha M., Khan A., Das K., Manna K., Dey S.: Radiation protection by major tea polyphenol, epicatechin. Int. J. Hum. Genet., 2013; 13: 59-64
- [12] Davies M.J., Fu S., Wang H., Dean R.T.: Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. Free Radic. Biol. Med., 1999; 27: 1151-1163
- [13] Ding J., Wang H., Wu Z.B., Zhao J., Zhang S., Li W.: Protection of murine spermatogenesis against ionizing radiation-induced testicular injury by a green tea polyphenol. Biol. Reprod., 2015; 92: 1-13
- [14] Dittmann K., Toulany M., Classen J., Heinrich V., Milas L., Rode mann H.P.: Selective radioprotection of normal tissues by Bowman-Birk proteinase inhibitor (BBI) in mice. Strahlenther. Onkol., 2005; 181: 191-196
- [15] Dobrzyński L.: Biologiczne skutki promieniowania jonizującego, Postępy Techniki Jądrowej, 2001; 44: 14-29
- [16] Finch P.W., Rubin J.S.: Keratinocyte growth factor/fibroblast growth factor 7, a homeostatic factor with therapeutic potential for epithelial protection and repair. Adv. Cancer Res., 2004; 91: 69-136
- [17] Giardi M.T., Touloupakis E., Bertolotto D., Mascetti G.: Preventive or potential therapeutic value of nutraceuticals against ionizing radiation-induced oxidative stress in exposed subjects and frequent fliers. Int. J. Mol. Sci., 2013; 14: 17168-17192

- [18] Gloc E., Błasiak J.: Charakterystyka farmakologiczna i molekularna amifostyny. *J. Oncol.*, 2004; 54: 273-280
- [19] Guadagni F., Ferroni P., Palmirotta R., Del Monte G., Formica V., Roselli M.: Non-steroidal anti-inflammatory drugs in cancer prevention and therapy. *Anticancer. Res.*, 2007; 27: 3147-3162
- [20] Hakkim F.L., Miura M., Matsuda N., Alharassi A.S., Guillemain G., Yamauchi M., Arivazhagan G., Song H.: An *in vitro* evidence for caffeic acid, rosmarinic acid and trans cinnamic acid as a skin protectant against  $\gamma$ -radiation. *Int. J. Low Radiation*, 2014; 9: 305-316
- [21] Haydont V., Bourgier C., Pocard M., Lusinchi A., Aigueperse J., Mathé D., Bourhis J., Vozenin-Brottons M.C.: Pravastatin inhibits the Rho/CCN2/extracellular matrix cascade in human fibrosis explants and improves radiation-induced intestinal fibrosis in rats. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 5331-5340
- [22] Hayes J.D., Kelleher M.O., Eggelston I.M.: The cancer chemoprotective actions of phytochemicals derived from glucosinolates. *Eur. J. Nutr.*, 2008; 47, Suppl. 2: 73-88
- [23] Headlam H.A., Davies M.J.:  $\beta$ -scission of side-chain alkoxy radicals on peptides and proteins results in the loss of side-chains as aldehydes and ketones. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002; 32: 1171-1184
- [24] Hensley M.L., Hagerty K.L., Kewalramani T., Green D.M., Meropol N.J., Wasserman T.H., Cohen G.I., Emami B., Gradishar W.J., Mitchell R.B., Thigpen J.T., Trotti A. 3rd, von Hoff D., Schuchter L.M.: American Society of Clinical Oncology 2008 clinical practice guideline update: use of chemotherapy and radiation therapy protectants. *J. Clin. Oncol.*, 2009; 27: 127-145
- [25] Hosseinimehr S.J.: Flavonoids and genomic instability induced by ionizing radiation. *Drug Discov. Today*, 2010; 15: 907-918
- [26] Hosseinimehr S.J., Tavakoli H., Pourheidari G., Sobhani A., Shafiee A.: Radioprotective effects of citrus extract against g-irradiation in mouse bone marrow cells. *J. Radiat. Res.*, 2003; 44: 237-241
- [27] Jagetia G.C.: Radioprotective potential of plants and herbs against the effects of ionizing radiation. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 2007; 40: 74-81
- [28] Jaiswal S.K., Bordia A.: Radio-protective effect of garlic *Allium sativum* Linn. in albino rats. *Indian J. Med. Sci.*, 1996; 50: 231-233
- [29] Karbownik M., Reiter R.J.: Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 2000; 225: 9-22
- [30] Kempner E.S.: Effects of high-energy electrons and g rays directly on protein molecules. *J. Pharm. Sci.*, 2001; 90: 1637-1646
- [31] Kim S.G., Nam S.Y., Kim C.W.: *In vivo* radioprotective effects of oltipraz in g-irradiated mice. *Biochem. Pharmacol.*, 1998; 55: 1585-1590
- [32] Knasmuller S., de Martin R., Domjan G., Szakmary A.: Studies on the antimutagenic activities of garlic extract. *Environ. Mol. Mutagen.*, 1989, 13: 357-365
- [33] Konopacka M.: Niestabilność genetyczna i efekt sąsiedztwa indukowane przez promieniowanie jonizujące. *J. Oncol.*, 2007; 57: 313-318
- [34] Koukourakis M.I.: Radiation damage and radioprotectants: new concepts in the era of molecular medicine. *Br. J. Radiol.*, 2012; 85: 313-330
- [35] Krześlak A.: Kinaza Akt: kluczowy regulator metabolizmu i progresji nowotworów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 490-503
- [36] Kumar S.S., Devasagayam T.P., Jayashree B., Kesavan P.C.: Mechanism of protection against radiation-induced DNA damage in plasmid pBR322 by caffeine. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2001; 77: 617-623
- [37] Kunnumakkara A.B., Diagaradjane P., Guha S., Deorukhkar A., Shentu S., Aggarwal B.B., Krishnan S.: Curcumin sensitizes human colorectal cancer xenografts in nude mice to g-radiation by targeting nuclear factor- $\kappa$ B-regulated gene products. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 2128-2136
- [38] Landauer M.R., Srinivasan V., Seed T.M.: Genistein treatment protects mice from ionizing radiation injury. *J. Appl. Toxicol.*, 2003; 23: 379-385
- [39] Li J., Feng L., Xing Y., Wang Y., Du L., Xu C., Cao J., Wang Q., Fan S., Liu Q., Fan F.: Radioprotective and antioxidant effect of resveratrol in hippocampus by activating sirt1. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014; 15: 5928-5939
- [40] Lombaert I.M., Brunsting J.F., Wierenga P.K., Kampinga H.H., de Haan G., Coppes R.P.: Keratinocyte growth factor prevents radiation damage to salivary glands by expansion of the stem/progenitor pool. *Stem Cells*, 2008; 26: 2595-2601
- [41] Maurya D.K., Devasagayam T.P., Nair C.K.: Some novel approaches for radioprotection and the beneficial effect of natural products. *Indian J. Exp. Biol.*, 2006; 44: 93-114
- [42] Meyn R.E., Milas L., Ang K.K.: The role of apoptosis in radiation oncology. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2009; 85: 107-115
- [43] Moulder J.E., Cohen E.P.: Future strategies for mitigation and treatment of chronic radiation-induced normal tissue injury. *Semin. Radiat. Oncol.*, 2007; 17: 141-148
- [44] Moulder J.E., Fish B.L., Cohen E.P., Bonsib S.M.: Angiotensin II receptor antagonists in the prevention of radiation nephropathy. *Radiat. Res.*, 1996; 146: 106-110
- [45] Nair C.K., Parida D.K., Nomura T.: Radioprotectors in radiotherapy. *J. Radiat. Res.*, 2001; 42: 21-37
- [46] Nair G.G., Nair C.K.: Radioprotective effects of gallic acid in mice. *Biomed Res. Int.*, 2013, 2013: 953079
- [47] O'Neill P., Wardman P.: Radiation chemistry comes before radiation biology. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2009; 85: 9-25
- [48] Ostadhadi S., Rahmatollahi M., Dehpour A.R., Rahimian R.: Therapeutic potential of cannabinoids in counteracting chemotherapy-induced adverse effects: an exploratory review. *Phytother. Res.*, 2015; 29: 332-338
- [49] Oszmiański J., Lamer-Zarawska E.: Substancje naturalne w profilaktyce chorób nowotworowych. *Wiad. Ziel.*, 1996; 38: 9-11
- [50] Palatty P.L., Azmidah A., Rao S., Jayachander D., Thilakchand K.R., Rai M.P., Haniadka R., Simon P., Ravi R., Jimmy R., D'souza P.F., Fayad R., Baliga M.S.: Topical application of a sandal wood oil and turmeric based cream prevents radiodermatitis in head and neck cancer patients undergoing external beam radiotherapy: a pilot study. *Br. J. Radiol.*, 2014; 87: 20130490
- [51] Parshad R., Sanford K.K., Price F.M., Steele V.E., Tarone R.E., Kelloff G.J., Boone C.W.: Protective action of plant polyphenols on radiation-induced chromatid breaks in cultured human cells. *Anticancer Res.*, 1998; 18: 3263-3266
- [52] Raviraj J., Bokkasam V.K., Kumar V.S., Reddy U.S., Suman V.: Radiosensitizers, radioprotectors, and radiation mitigators. *Indian J. Dent. Res.*, 2014; 25: 83-90
- [53] Reagan-Shaw S., Mukhtar H., Ahmad N.: Resveratrol imparts photoprotection of normal cells and enhances the efficacy of radiation therapy in cancer cells. *Photochem. Photobiol.*, 2008; 84: 415-421
- [54] Reiter R.J., Tan D.X.: Melatonin: an antioxidant in edible plants. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2002; 957: 341-344
- [55] Roszkowski K., Błaszczak P.: Oksydacyjne uszkodzenia DNA jako potencjalne markery skuteczności radioterapii. *Współczesna Onkol.*, 2009; 13: 125-128
- [56] Roszkowski K., Foksiński M.: Wpływ promieniowania jonizującego na DNA komórki. *Współczesna Onkol.*, 2005; 9: 284-286
- [57] Ryan J.L.: Ionizing radiation: the good, the bad, and the ugly. *J. Invest. Dermatol.*, 2012; 132: 985-993
- [58] Sauvaget C., Kasagi F., Waldren C.A.: Dietary factors and cancer mortality among atomic bomb survivors. *Mutat. Res.*, 2004; 551: 145-152

- [59] Shimoi, K., Masuda S., Furugori M., Esaki S., Kinae N.: Radioprotective effect of antioxidative flavonoids in g-ray irradiated mice. *Carcinogenesis*, 1994; 15: 2669-2672
- [60] Singh S.P., Abraham S.K., Kesavan P.C.: In vivo radioprotection with garlic extract. *Mutat. Res.*, 1995; 345: 147-153
- [61] Sminia P., Kuipers G., Geldof A., Lafleur V., Slotman B.: COX-2 inhibitors act as radiosensitizer in tumor treatment. *Biomed. Pharmacother.*, 2005; 59: S272-S275
- [62] Spitz D.R., Azzam E.I., Li J.J., Gius D.: Metabolic oxidation/reduction reactions and cellular responses to ionizing radiation: A unifying concept in stress response biology. *Cancer Metastasis Rev.*, 2004; 23: 311-322
- [63] Stalińska L., Ferenc T.: Rola TGF- $\beta$  w regulacji cyklu komórkowego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 441-449
- [64] Stefanelli A., Forte L., Medoro S., Sgualdo A., Lombardo D., Zini G., Maronta D., Rainieri E., Pascale G., Bagnolatti P., Colella M., Princivale S., Fiorica F.: Topical use of phytotherapeutic cream (Capilen® cream) to prevent radiodermatitis in breast cancer: a prospective historically controlled clinical study. *G. Ital. Dermatol. Venereol.*, 2014; 149: 107-113
- [65] Swanson G.P., Jones W.E., Ha C.S., Jenkins C.A., Kumar A.P., Basler J.: Tolerance of *Phellodendron amurense* bark extract (Nextrutine®) in patients with human prostate cancer. *Phytother. Res.*, 2015; 29: 40-42
- [66] Tawfik S.S., Abouelella A.M., Shahein Y.E.: Curcumin protection activities against  $\gamma$ -Rays-induced molecular and biochemical lesions. *B.M.C. Res. Notes*, 2013; 6: 375
- [67] Uma Devi P., Agrawala Paban K.: Normal tissue protectors against radiation injury. *Defence Sci. J.*, 2011; 61:105-112
- [68] Uma Devi P., Ganasoundari A., Rao B.S., Srinivasan K.K.: In vivo radioprotection by ocimum flavonoids: survival of mice. *Radiat. Res.*, 1999; 151: 74-78
- [69] Venkatchalam S.R., Chattopadhyay S.: Natural radioprotective agents: an overview. *Curr. Org. Chem.*, 2005; 9: 389-404
- [70] Vijayalaxmi M., Meltz L., Reiter R.J., Herman T.S., Kumar K.S.: Melatonin and protection from whole-body irradiation: survival studies in mice. *Mutat. Res.*, 1999; 425: 21-27
- [71] Wang J., Boerma M., Fu Q., Kulkarni A., Fink L.M., Hauer-Jensen M.: Simvastatin ameliorates radiation enteropathy development after localized, fractionated irradiation by a protein C-independent mechanism. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2007; 68: 1483-1490
- [72] Williams J.P., Hernady E., Johnston C.J., Reed C.M., Fenton B., Okunieff P., Finkelstein J.N.: Effect of administration of lovastatin on the development of late pulmonary effects after whole-lung irradiation in a murine model. *Radiat. Res.*, 2004; 161: 560-567
- [73] Wolski T., Baj T., Ludwiczuk A., Sałata M., Głowniak K.: Surowce roślinne o działaniu adaptogennym oraz ocena zawartości adaptogenów w ekstraktach i preparatach otrzymanych z rodzaju *Panax*. *Post. Fitoter.*, 2009; 2: 77-97
- [74] Yeoh A., Gibson R., Yeoh E., Bowen J., Stringer A., Giam K., Logan R., Keefe D.: Radiation therapy-induced mucositis: Relationships between fractionated radiation, NF- $\kappa$ B, COX-1, and COX-2. *Cancer Treat. Rev.*, 2006; 32: 645-651
- [75] Zhu W., Xu J., Ge Y., Cao H., Ge X., Luo J., Xue J., Yang H., Zhang S., Cao J.: Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) protects skin cells from ionizing radiation via heme oxygenase-1 (HO-1) overexpression. *J. Radiat. Res.*, 2014; 55: 1056-1065

---

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.