

**DRUŠTVO ZA ZAŠTITU OD ZRAČENJA
SRBIJE I CRNE GORE**

ZBORNİK RADOVA

**XXIII SIMPOZIJUM DZZSCG
Donji Milanovac 2005,
26 – 28. septembar**

**Beograd
2005.**

ZBORNIK RADOVA

XXIII SIMPOZIJUM DZZSCG

26 – 28. septembar, 2005.

Izdavači:

Institut za nuklearne nauke „Vinča“

Društvo za zaštitu od zračenja Srbije i Crne Gore

Za izvršnog izdavača:

Dr Zlatko Rakočević

Urednik:

Mr Milojko Kovačević

ISBN 86-7306-075-3

© Institut za nuklearne nauke „Vinča“

Tehnička obrada: **Zoran Hadžić**

Štampa: Štamparija Instituta za nuklearne nauke „Vinča“, Beograd

Tiraž: 120 primeraka

Štampa završena septembra 2005.

XXIII SIMPOZIJUM DRUŠTVA
ZA ZAŠTITU OD ZRAČENJA
SRBIJE I CRNE GORE
Donji Milanovac, 26 – 28. septembar 2005.

Organizatori:

DRUŠTVO ZA ZAŠTITU OD ZRAČENJA SRBIJE I CRNE GORE

INSTITUT ZA NUKLEARNE NAUKE „VINČA“

Laboratorija za zaštitu od zračenja i zaštitu životne sredine „Zaštita“

Organizacioni odbor:

Predsednik: Milojko Kovačević

Članovi:

Gordana Pantelić
Snežana Milačić
Dragana Todorović
Olivera Marinković
Tomislav Anđelić
Željka Ilić
Olivera Ciraj
Radoman Benderać
Sprko Marković
Dragoslav Nikezić

Redakcioni odbor:

Dr Gordana Joksić
Dr Ranko Kljajić
Dr Milan Orlić

Organizaciju su pomogli:

Ministarstvo za nauku i zaštitu životne sredine Republike Srbije

Ministarstvo zdravlja Republike Srbije

AMETEK-AMT (ranije: ORTEC)

Institut za nuklearne nauke "Vinča"

Ovaj Zbornik je zbirka radova saopštenih na XXIII Simpozijumu Društva za zaštitu od zračenja Srbije i Crne Gore koji je održan od 26 – 28. septembra 2005. godine u Donjem Milanovcu. Radovi su razvrstani po sekcijama. Mada su svi radovi u Zborniku recenzirani od strane Redakcionog odbora za sve iznesene tvrdnje i rezultate odgovorni su sami autori.

Organizacioni odbor se zahvaljuje svim autorima radova na uloženom trudu. Posebno se zahvaljujemo sponzorima koji su pomogli održavanje Simpozijuma i štampanje Zbornika.

Organizacioni odbor

PROTEKTIVNI EFEKTI: *IN VITRO-IN VIVO*

G. Joksić, N. Ilić¹, V. Spasojević-Tišma, A. Leskovac
Institut za Nuklearne nauke "Vinča",
¹ Biofarm, Beograd

SADRŽAJ

U radu su prikazani rezultati ispitivanja nutraceutika Gonebazola ("Bofarm" Beograd). Gonebazol sadrži vitamine (A, E, C, B3, B6) ekstrakt Echincea purpurea, polen, propolis, Ca, Mg, i aminokiseline u medu. Preparat je ispitan in vitro na ozračenim humanim limfocitima i in vivo na grupi volontera, zdravstvenih radnika, kojima je zbog hematološkog i nalaza hromozomskih aberacija stavljena privremena zabrana rada u zoni jonizujućeg zračenja. U in vitro uslovima smanjena je učestalost mikronukleusa za 69%, stepen lipidne peroksidacije za 50%, pri čemu je 25% ozračenih leukocita eliminisano apoptozom. In vivo ispitivanja su pokazala veliku sličnost sa in vitro efektima: vreme za regeneraciju kostne srži i perzistencija hromozomskih aberacija u limfocitima periferne krvi značajno je smanjeno. Iako preliminarni, rezultati in vivo ispitivanja su veoma ohrabrujući jer značajno smanjuju posledice kumulativnog efekta jonizujućeg zračenja.

UVOD

Dugi niz godina sintetišu se hemijska jedinjenja namenjena zaštiti od jonizujućeg zračenja. Prepoznaju se po skraćenici WR, pri čemu različiti hemijski oblici nose različite brojeve, npr WR-2721 (amifostin, hemijsko ime 1,2 aminopropil, aminoetil cisteamin). Sintetski radioprotektori najčešće su derivati amino kiseline L-cistein ili derivati amina L-cisteina=cisteamina. Mehanizam radioprotektivnog svojstva ogleda se u sposobnosti tiolnih (SH) grupa da apsorbuju elektrone. Zbog neurotoksičnih metabolita (jedan od njih spada u grupu bojnih otrova CS₂-ugljendisulfid) sintetski radioprotektori se retko koriste. Zato se za ublažavanje efekata zračenja, često koriste vitamini, najčešće C i E. Mehanizam njihovog dejstva zasniva se na sakupljanju slobodnih radikala, a u naučnoj javnosti još uvek su podeljenja mišljenja o dozama i kombinacijama vitamina koje treba koristiti [1].

Naša istraživanja usmerena su na iznalaženju efikasnijih protektora od tiolnih jedinjenja i vitamina. Mnogi kompleksi organskih niskomolekulskih jedinjenja biljnog porekla imaju sposobnost da apsorbuju elektrone, ne daju toksične metabolite, poseduju komponente sa antioksidativnim svojstvima i deluju kao dezmutageni [2]. Takva jedinjenja uklanjaju i epoksidne metabolite koji dnevno nastaju u organizmu metabolizmom ksenobiotika. Dosadašnja ispitivanja obuhvatila su nekoliko desetina ekstrakata lekovitog bilja kao što je zečji trn, uva, breza, lincura, glog dren, kantarion, gavez, dinjica, žalfija. Ispitivani su flavonoidi groždja, pčelinji otrov, propolis i složeni dijetetski proizvodi koji se koriste kao nutraceutici. Ispitivanja su najčešće obavljena *in vitro*, a iz dobijenih rezultata mogli smo da zaključimo da su žalfija, breza i uva samo antioksidanti, gavez i zečji trn toksični [3], dok su glog, list dreva i lincura odlični radioprotektori [4]. Utvrdili smo da

ozračene ćelije bolje preživljavaju u prisustvu pčelinjeg otrova, dok je o efektima propolisa i kantariona teško dati konačni zaključak jer su njihove aktivne komponente nerastvorne u vodi, što predstavlja posebnu teškoću za naš eksperimentalni sistem. Dugogodšnje iskustvo, analiza hromozomskih aberacija i mikronukleusa kod profesionalno izloženih lica pokazala da hronična izloženost jonizujućem zračenju u sulovima profesionalne ekspozicije remeti fiziološke procese u ćeliji: indukuje hromozomske aberacije, povećava nekrozu leukocita i smanjuje apoptozu [5]. U ovom radu prikazani su rezultati ispitivanja složenog nutraceutika iz programa "Biofarm" koji su u *in vitro* ispitivanjima pokazali izvanredna radioprotektivna svojstva i visok stepen apoptoze ozračenih leukocita. U ispitivanju *in vivo* efekata preparata dobrovoljno je učestovalo je 10 medicinskih radnika, zaposlenih na odeljenju radiološke dijagnostike jedne naše bolnice, kod kojih je na rutinskom zdravstvenom pregledu ustanovljena povećana učestalost hromozomskih aberacija.

MATERIJAL I METODE

Rutinskom analizom hromozomskih aberacija zaposlenih u zoni jonizujućeg zračenja, od pregledanih 47 izdvojeno je 10 osoba: kod 6 učestalost hromozomskih aberacija je bila iznad maksimalno dozvoljenih vrednosti za profesionalno izložena lica, zbog čega im je preporučena pauza sa radom u zoni zračenja; dok je kod 4 osobe učestalost aberacija bila na gornjoj granici dozvoljenih vrednosti za profesionalno izložena lica.

Preparat su uzimali 20 dana. Prva kontrola urađena je nakon 10, a druga posle 20 dana. Kontrola se sastojala u lekarskom pregledu, određivanju osnovnih hematoloških parametara (krvna slika i leukocitarna formula), analizi hromozomskih aberacija i mikronukleusa. Rezultati su predstavljeni na Tabeli 1.

Gonebazol sadrži vitamin A, E, C, B3, B6, ekstrakt echinacea purpurea, polen, propolis, Ca, Mg, i aminokiseline u medu.

Rezultati su statistički analizirani t-testom i Sperman-runk korelacionim testom. Statistički značajno je snižen broj granulocita na poslednjoj kontroli u odnosu na početne vrednosti, postoji pozitivna, statistički značajna korelacija između ukupnog broja leukocita i granulocita na početku i kraju uzimanja Gonebazola ($r=0.98$, $p<0.05$); negativna statistički značajna korelacija između apsolutnog broja limfocita i učestalosti hromozomskih aberacija na prvoj kontroli posle 10 dana ($r=-.78$, $p<0.05$) i pozitivna statistički značajna korelacija između ukupnog broja leukocita i učestalosti mikronukleusa na kontroli posle 20 dana ($r=0.80$, $p<0.05$).

DISKUSIJA

Iako *in vitro* ispitivanja predstavljaju najbrži način ispitivanja osnovnih karakteristika mnogih jedinjenja, ne može se sa sigurnošću proceniti efekat koji će se postići *in vivo*. Preparat je u *in vitro* uslovima pokazao izvanredna protektivna svojstva, smanjujući incidencu indukovanih mikronukleusa za 69% i lipidnu peroksidaciju za 50%.

Tabela 1: hematološki parametri, hromozomske aberacije i mikronukleusi kod radnika u zoni jonizujućeg zračenja

Br.	Broj leukocita	Limfociti		Granulociti		Monociti		Učestalost		Indeks promene
		%	Aps. br.	%	Aps. br.	%	Aps. br.	hr. prekida po ćeliji	MN/ćeliji	
1. *	4000	35	2365	54	2160	10	400	0.02	-	
	8400	24.5	2996	67.1	5636.4	5.44	456.96	0	0.024	
2. *	11300	20	3205.8	73	8249	6	678	0.03	-	
	13000	22.5	2314.6	69.5	9035	5.52	717.6	0.015	0.020	
3. *	5500	43	1982.2	44	2420	11	605	0.025	-	-22%
	5600	53.5	932.1	36.5	2044	7.46	417.76	0.03	0.036	
	5400	54.4	1631.7	34.4	1857.6	8.76	473.04	0.025	0.028	
4. *	7800	41.1	2155.2	54.7	4266.6	4.2	327.6	0.035	-	-3%
	7100	32.6	2639.1	54.1	3841.1	10	710	0.015	0.039	
	5500	23.5	2492	61.2	3366	11.2	616	0	0.038	
5.	5300	37.4	2146.2	56	2968	6.6	349.8	0.015	-	-69,6%
	3900	23.9	2692.4	58.4	2277.6	10.4	405.6	0.03	0.023	
	4900	33.3	2672.6	52.2	2557.8	9.06	443.94	0.01	0.007	
6. *	4800	44.9	3199.5	50.9	2443.2	4.2	201.6	0.015	-	-58,1%
	5700	46.3	3618	43	2451	6.2	353.4	0.01	0.043	
	5600	44.5	3172	44.7	2503.2	7.11	398.16	0.005	0.018	
7. *	4200	51.1	1321.6	43.8	1839.6	5.1	214.2	0.015	-	+50%
	5300	50.8	1397.4	38.9	2061.7	8.45	447.85	0.035	0.041	
	4600	58.1	1367.1	34	1564	5.85	269.1	0	0.011	
8.	7900	40.5	2584.4	55.7	4400.3	3.8	300.2	0.01	-	
	7700	34	2029.2	56	4312			0.015	0.017	
	7700	41.2	1679	46.8	3603.6	5.79	445.83	0.005	0.034	
9.	2800	47.2	2365	48.4	1355.2	4.4	123.2	0.015	-	-59,3%
	3400	41.1	2996	48.8	1659.2	7.92	269.28	0	0.027	
	3100	44.1	2937.6	43.9	1360.9	8.74	270.94	0	0.011	
10.	7100	36.4	3205.8	60.1	4267.1	3.5	248.5	0.025	-	-8,7%
	8900	22.8	2314.6	68.9	6132.1	6.47	575.83	0	0.023	
	4600	36.5	1298	51.1	2350.6	8.49	390.54	0	0.021	

* osobe koje su imale zabranu za rad u zoni jonizujućeg zračenja

Pod tim uslovima više od 25% ozračenih leukocita eliminisano je apoptozom. U *in vivo* uslovima, nakon 10 dana zapaža se povećana ekspulziju limfocita sa hromozomskim aberacijama iz kostne srži u periferiju, smanjenje apsolutnog broja granulocita i povećanje broja monocita. Nakon 20 dana učestalost hromozomskih aberacija je značajno smanjena u 9 osoba; izrazito smanjena kod 4 osobe. Apoptoza leukocita nije merena. Iako preliminarni, rezultati ispitivanja su ohrabrujući, jer postoji velika sličnost između *in vitro* i *in vivo* efekata. Značajno je smanjeno vreme za regeneraciju kostne srži i brzo su eliminisane oštećene ćelije. Budući da pri profesionalnoj izloženosti jonizujućem zračenju najveći problem predstavljaju kumulativni efekti, eliminacija oštećenih ćelija bez zapaljenja i nekroze, fiziološkim mehanizmima održavanja homeostaze je izuzetno značajna. Neophodno je što pre sprovesti klinička ispitivanja ne samo osoba profesionalno izloženim jonizujućem zračenju, već i pacijenta na radioterapiji, kako bi preparat bio dostupan onima kojima je najpotrebniji.

LITERATURA

- [1] Fenech M. The Genome Health Clinic and Genome Health Nutrigenomics concepts: diagnosis and nutritional treatment of genome and epigenome damage on an individual basis. *Mutagenesis* 2005; 20: 255-69

- [2] Fenech M, Baghurst P, Luderer W, Turner J, Record S, Ceppi M, Bonassi S (2005) Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, β -carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability – results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. *Carcinogenesis* 2005; 26: 991-9.
- [3] G.Joksić, M Stanković, A. Novak. (2003) Medicinal plants, *Equseti herba*, *Ononidis radix* and *Uvae ursi* modulate induction of micronuclei in human lymphocytes irradiated *in vitro*. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, Vol 20,1:286-292.
- [4] A. Leskovac, T. Momic, T. Jankovic, G. Joksic, (2004), The radioprotective properties of polyphenols on human lymphocytes, Proceedings of the 7th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, "Physical Chemistry 2004", Sept. 21-23, 2004, Belgrade, Serbia and Montenegro, E-26-P, pp. 410-412.
- [5] Joksić G Petrović, S (2004) Lack of adaptive response of human lymphocytes exposed *in vivo* to low doses of ionizing radiation. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, Vol 23,3:195-206.

ABSTRACT

RADIOPROTECTIVE EFFECTS: IN VITRO-IN VIVO

G. Joksić, N. Ilić¹, V. Spasojević-Tišma,
INS VINČA
¹ Biofarm, Beograd

The results of investigation of beneficial radioprotective properties of nutraceutical Gonebazol-«Biofarm» Belgrade are presented in this study. Gonebazol is consisted of propolis, extracts of *Phaseophycea digitata* Khorbi, *Ecninacea purpurea pulvis*, Ca^{++} , Mg^{++} , vitamins B3, B6, A, E and C, amino acids, all conserved in honey.

Nutraceutical was examined *in vitro*, on human irradiated lymphocytes, as well as *in vivo* on volunteers, radiation technicians occupationally overexposed to ionizing radiation. *In vitro* investigations have shown remarkable radioprotective effects of Gonebazol: yield of radiation-induced micronuclei was reduced for 69%, which as followed with reduction of (MDA) for 50% and enhancement of apoptosis of leukocytes up to 25%. Although preliminary, results obtained *in vivo* have shown a great extent of similarity with *in vitro* effects: the incidence of chromosomal aberrations was lowered for less than 3 weeks. Baseline level of micronuclei was significantly reduced. Obtained results confirmed that supplementation with these carefully selected vitamins and minerals significantly improve genomic stability, which could used to avoid adverse effects of ionizing radiation.