

## ÉVALUATION BIOCHIMIQUE DE LA PROPRIÉTÉ RADIOPROTECTRICE DU « SHIRKHESHT »

N. ROUHANIZADEH, Zh. KHALKALI \*

(Manuscrit reçu le 4 juin 1971)

### RÉSUMÉ

Dans le cadre de recherches sur l'action radioprotectrice du « Shirkhesht », substance naturelle non toxique, on a fait une évaluation biochimique du complexe DNP chez les animaux irradiés dont un lot a reçu le produit et l'autre n'en a pas reçu.

La sensibilité du complexe désoxyribonucléoprotéidique (complexe DNP) à l'irradiation a fait l'objet de recherches. Les résultats obtenus confirment :

- un changement considérable du complexe DNP dans les tissus irradiés,
- le pouvoir radioprotecteur, digne d'attention (25-30 %), du « Shirkhesht » qui présente le grand avantage d'être utilisable par voie orale.

### SUMMARY

In order to investigate the radioprotective action of " Shirkhesht ", a non toxic natural substance, a biochemical evaluation of the DNP complex in irradiated animals has been made both with and without administration of " Shirkhesht ".

The sensitivity of the DNP complex to irradiation has also been investigated. The results so far confirm :

- the considerable change of the DNP complex in the irradiated tissues,
- " Shirkhesht " appears to have quite a considerable radioprotective action (25-30 %) with the main advantage of being administrated orally.

### I - INTRODUCTION

Il est bien connu que beaucoup de produits chimiques, injectés 10 à 30 minutes avant exposition à des rayonnements, exercent une action radioprotectrice intéressante. Des études très étendues sur ce problème ont montré que des composés variés (tels des cyanures [1, 2], des nitriles [1, 3], des aminoacides soufrés [4, 5, 6], MEA, AET, MEG) fournissent dans beaucoup de cas une réelle radioprotection, mais présentent aussi de sérieux inconvénients :

- beaucoup sont toxiques et ne peuvent pas être administrés à de hautes doses;

\* Centre Nucléaire de l'Université de Téhéran, P.O. Box 2989, Tehran, Iran.

— à de plus faibles concentrations, leur efficacité peut décroître et devenir insuffisante.

Des études récentes sur une substance naturelle non toxique, le « Shirkhesht », ont montré que ce produit pouvait être utilisé comme agent radioprotecteur [7-8].

Dans le présent travail, on a réalisé une évaluation biochimique de l'action radioprotectrice possible de ce produit, en mesurant les variations du complexe DNP dans la rate d'animaux irradiés, les uns ayant reçu le produit et les autres n'en ayant pas reçu : la comparaison des résultats obtenus dans l'un et l'autre cas prouve l'action radioprotectrice du « Shirkhesht ».

## II - MATÉRIEL ET MÉTHODOLOGIE

### II.1. « SHIRKHESHT » :

Le « Shirkhesht » est l'une des plus importantes « Mannes » connues et utilisées en Iran : c'est un extrait de *Cotoneaster nummularia* et il se présente sous la forme de petits grains solubles dans l'eau. Il est surtout utilisé dans le traitement de la typhoïde, de la bronchite et de la rougeole et a, de plus, des propriétés laxatives.

La composition chimique de cette substance a fait l'objet de recherches; ses principaux constituants sont des protéines, des lipides, des aminoacides (environ 15 espèces) et des composés minéraux.

### II.2. MÉTHODOLOGIE :

La sensibilité du complexe DNP des tissus irradiés à l'action de polyanions, telle l'héparine, étudiée par SKALKA [9], constitue une méthode vraiment sensible pour les recherches de l'évolution de ce complexe dans les tissus irradiés. Dans le présent travail, on a suivi les changements de ce complexe dans les rates d'animaux irradiés, les uns ayant reçu du « Shirkhesht », les autres n'en ayant pas reçu.

Dans la première partie de l'expérimentation, on a irradié à l'hôpital Pahlavi des rats adultes Wistar (souche C.F.) grâce à une source de 2 000 curies de radio-cobalt. Les animaux ont été décapités, 2 à 25 heures avec exposition à 300 röntgens; les rates ont été immédiatement prélevées et pesées.

— La moitié de chacun des organes a été homogénéisée dans une solution 0,1 M de chlorure de sodium et, après centrifugation, on a estimé les polydésoxyribonucléotides dans le liquide surnageant, d'après la méthode de DISCH [7], utilisant la diphenylamine comme réactif. Le culot de centrifugation contenant le DNP a subi une incubation de 30 minutes avec une solution de chlorure de sodium contenant de l'héparine (60  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ) et on a centrifugé de nouveau. La teneur en ADN du liquide surnageant et du culot de centrifugation a été estimée par la méthode décrite antérieurement.

— Les deuxièmes moitiés des rates ont été directement homogénéisées avec une solution de chlorure de sodium contenant de l'héparine, puis on a centrifugé. Les teneurs en ADN du liquide surnageant (polydésoxyribonucléotides et ADN libéré par action de l'héparine), d'une part, du culot de centrifugation, d'autre part, ont été mesurées. Les résultats sont portés dans la figure 1, la teneur en ADN de chaque fraction étant exprimée en pour cent de l'ADN contenu dans l'organe.

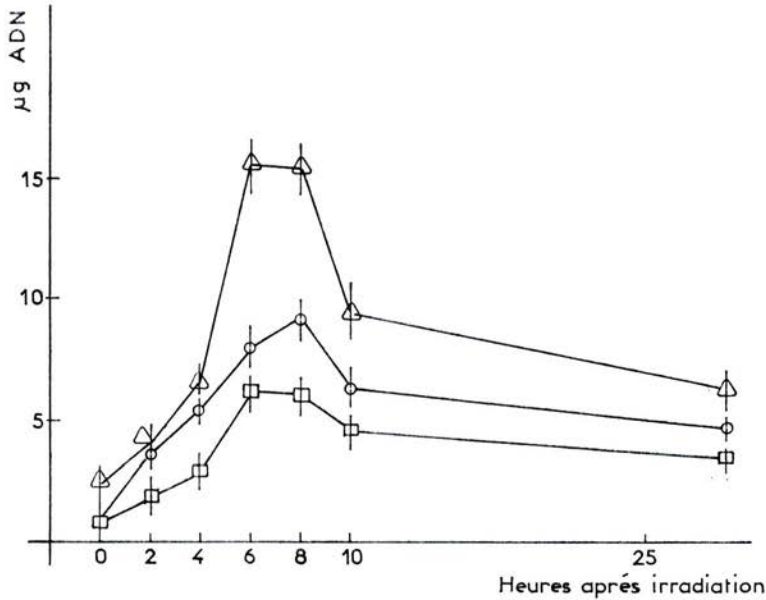


FIG. 1. — Libération de désoxyribopolynucléotides et d'ADN dans les tissus irradiés sans application du « Shirkhest ».

- △ — ADN libéré après homogénéisation du tissu avec une solution d'héparine.
- — ADN libéré après incubation du DNP avec l'héparine.
- — Désoxyribopolynucléotides après homogénéisation du tissu avec une solution de chlorure de sodium.

Dans la seconde partie de l'expérimentation, les rats ont reçu quotidiennement 1,5 g de « Shirkhesht », mélangé à leurs aliments et à leur eau de boisson, ceci, pendant les 10 jours précédant l'irradiation. Ils ont été exposés à 300 röntgens, puis l'expérimentation a été poursuivie comme dans la première partie. Les résultats sont représentés dans la figure 2.

## III - RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats relatifs à la première partie de l'expérimentation montrent que la liaison entre protéine et ADN des tissus irradiés devient très labile. Ceci se manifeste par la libération de désoxyribonucléotides peu de temps après l'irradiation. Comme cela est montré dans la figure 1, 2 heures après l'exposition au rayonnement, la quantité de polydésoxyribonucléotides et d'ADN libéré du fait de l'action de l'héparine augmente, atteint un maximum en 6 à 8 heures, puis diminue ensuite d'une manière identique. Ces résultats sont en plein accord avec ceux de SKALKA [10] et confirment l'élimination de polydésoxyribonucléotides et l'accroissement de la sensibilité du complexe ADN à l'action de l'héparine, ce complexe devenant 4 fois plus sensible que les tissus normaux.

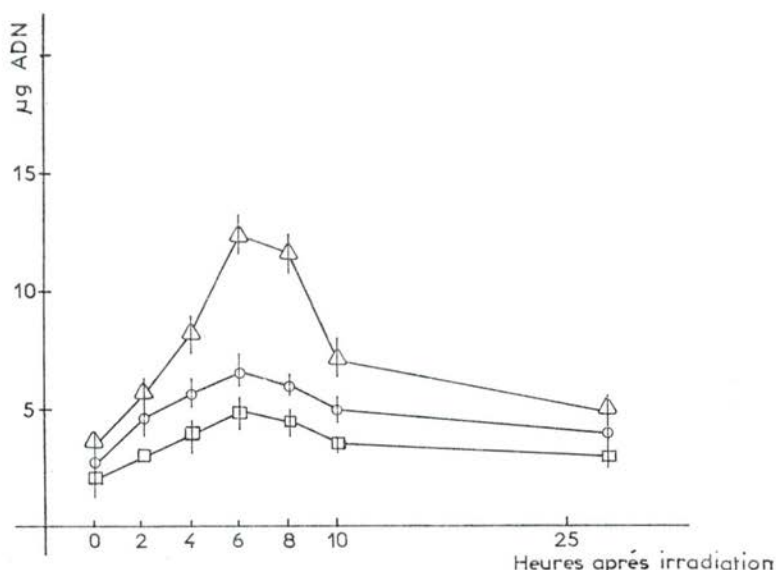


FIG. 2. — Libération de désoxyribopolynucléotides et d'ADN dans les tissus irradiés après application du « Shirkhest ».

- △ — △ ADN libéré après homogénéisation du tissu avec une solution d'héparine.
- — ○ ADN libéré après incubation du DNP avec l'héparine.
- — □ Désoxyribopolynucléotides après homogénéisation du tissu avec une solution de chlorure de sodium.

Dans la deuxième partie (fig. 2), la libération de polydésoxyribonucléotides et d'ADN en présence de « Shirkhesht » est manifestement plus faible. Deux à quatre heures après irradiation, il n'y a presque pas de variation dans la quantité



d'ADN libéré, en comparaison avec ce qu'on observe avec des animaux irradiés, mais non traités. L'efficacité de l'effet radioprotecteur du « Shirkhesht » a été évaluée à environ 20 à 30 %, ce qui est significatif pour une substance naturelle non toxique, dont la fraction active n'a d'ailleurs pas été encore trouvée.

La prochaine partie du projet de recherche comporte l'analyse de la substance. Il est possible d'accroître l'efficacité de la protection par une application directe du principe actif et, ainsi, de mettre en évidence le mécanisme de l'action radioprotectrice de la substance. SKALKA [10] pense que l'accroissement de la fragilité de la liaison entre ADN et protéine est due à une libération d'enzymes après irradiation. Ceci est confirmé par le travail de YERMOLAYEVA [11] et de VENDERLY [12] sur le DNP du thymus de veau. S'il en est réellement ainsi dans le cas des tissus, le « Shirkhesht » agirait probablement sur les enzymes, ce qui devra faire l'objet des recherches ultérieures.

#### Remerciements :

Ce travail constitue une partie du projet de recherches effectuées sous les auspices et avec la subvention de l'Agence Internationale de l'Energie Atomique à Vienne, à laquelle les auteurs tiennent à exprimer leur gratitude. La partie expérimentale a été réalisée au Centre Nucléaire de l'Université de Téhéran. Ils remercient également le Docteur S. SKALKA pour ses utiles conseils et ses encouragements.

#### RÉFÉRENCES

- [1] A. HERVÉ, Z.M. BACQ. *C.R. Soc. Biol.*, 143, (1949), 888, 1158.
- [2] M. BACQ, A. HERVÉ. *Brit. J. Radiol.*, 24, (1951), 617.
- [3] H.M. PATT, E.B. TYREE, R.L. STRAUBE and D.E. SMITH. *Science*, 110 (1949), 213.
- [4] P. ALEXANDER *et alii*. *Radiation Research*, 2 (1955), 392.
- [5] Z.M. BACQ, P. ALEXANDER. *Fundamentals of Radiology* (1st ed., Butterworths, London, 1966).
- [6] R. SHAPIRA, D.G. DOHERTY and W.T. BURNETT, Jr. *Rad. Research*, 7 (1957), 22.
- [7] N. ROUHANIZADEH. *Rapport CEA-R-3412*, 1967.
- [8] G. MARBLE, N. ROUHANIZADEH. *Radioprotection*, 2 (3), (1967), 195.
- [9] M. SKALKA, J. MATYASOVA. *Nature*, 212 (1966), 1253.
- [10] M. SKALKA, J. MATYASOVA. *Int. J. Rad. Biology*, 11 (1966), 193.
- [11] N.V. YERMOLAYEVA. *Radiobiology*, Moscow, 1 (1961), 670.
- [12] R. VENDERLY. *The Nucleohistones* (Edited by J. BONNER and P. T'so, San Francisco, 1964).