

감마선 조사로 유도된 간세포와 조혈계 손상 마우스에서 퀘르세틴 투여 후의 방사선방호 효과

강정애^{1,2*} · 윤선휘^{1,3*} · 노종국¹ · 최대성¹ · 장범수^{1,3} · 박상현^{1,3}

¹한국원자력연구원 첨단방사선연구소

²충남대학교 식품영양학과

³한국과학기술연합대학원대학교 방사선동위원소 응용 및 생명공학

Radioprotective Effect of Quercetin Post-Treatment against γ -Irradiation-Induced Hepatocellular and Hematopoietic System Damage in Mice

Jung Ae Kang^{1,2*}, Seon Hye Yoon^{1,3*}, Jong Kook Rho¹, Dae Seong Choi¹,
Beom-Su Jang^{1,3}, and Sang Hyun Park^{1,3}

¹Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute

²Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

³Department of Radiation Biotechnology and Applied Radioisotope Science,
Korea University of Science and Technology

ABSTRACT This study was designed to evaluate the therapeutic effect of quercetin against radiation-induced hepatocellular and hematopoietic damage in BALB/c mice. Mice were exposed to 6 Gy of γ -radiation and orally administered quercetin (25, 50 mg/kg b.w.) for 7 consecutive days. γ -Irradiation caused marked elevation of serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase, levels as well as reduction of spleen index, thymus index, and the number of white blood cells. In addition, γ -irradiation induced significant elevation of lipid peroxidation as well as reduction of antioxidant enzyme activities, including superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase. However, post-treatment with quercetin resulted in a significant recovery of all of these parameters. These results suggest that quercetin acts as a potent radioprotector against irradiation-induced cellular damage in mice.

Key words: quercetin, γ -irradiation, radioprotector, cellular damage

서 론

방사선 및 방사성 동위원소는 의료분야에서 질병의 치료와 진단에 많이 활용되고 있으며, 식품의 살균과 같은 산업적 이용 등에 널리 이용되고 있다. 또한 원자력 발전소와 같은 핵시설의 증가, 우주방사선 및 자연방사선 등 방사선에 의한 인체의 노출 위험도가 증가하고 있다(1). 최근 일본 후쿠시마의 원자력 발전소 사고는 방사선 피폭의 위험성을 증폭시켜 방사선에 대한 인체장애나 인체방어에 대한 관심이 집중되고 있다(2-4). 방사선 치료는 암환자들의 암세포를 제거하거나 성장을 저해하는 목적으로 이용되나 정상적인 세포도 손상을 받게 된다(5). 방사선은 직접적인 조직손상과 체내 수분과 반응하여 과산화물 음이온(superoxid anion),

수산화 라디칼(hydroxyl radical) 그리고 과산화수소(hydrogen peroxide)와 같은 활성산소(reactive oxygen species, ROS)를 생성하는 간접손상을 유발한다. 이러한 활성산소는 생체 내 단백질의 thiol기나 DNA와 반응하여 화학결합의 절단이나 가교결합의 형성 등 생체 구성 분자의 구조적 변화를 야기할 뿐만 아니라 세포막을 구성하고 있는 지방산과 반응하여 지질과산화를 일으키며, 궁극적으로 세포사멸 및 암을 유도한다(6-8).

따라서 방사선에 의한 부작용 경감과 생체 손상을 보호하기 위해 방사선 보호제에 대한 연구가 진행되고 있다. 현재까지 많은 연구를 통해 WR2721(amifostine) 등의 thiol기를 갖고 있는 합성물질, 사이토카인(cytokines), 그리고 면역조절제(immunomodulator)가 방사선 보호제로 개발되어 있다. 그러나 이런 물질들은 방어효능과 함께 인체에 대한 독성과 부작용이 강하기 때문에 실제 임상적용이 어려운 실정이다. 그러므로 인체에 독성이 없고 부작용이 적은 천연소재를 활용한 방사선 보호제의 개발이 필요하다(9). 최근 천연물질 중에서 항산화 기능을 갖고 있는 플라보노이드(flavonoid)가 방사선 조사로 유도된 활성산소를 제

Received 4 March 2015; Accepted 30 March 2015

Corresponding author: Sang Hyun Park, Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup-si, Jeonbuk 580-185, Korea

E-mail: parksh@kaeri.re.kr, Phone: +82-63-570-3370

*These authors equally contributed to this study.

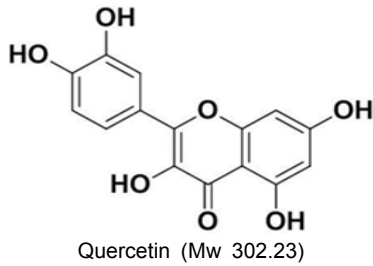


Fig. 1. Chemical structure of quercetin.

거하여 방사선에 의해 유도된 세포의 산화적 스트레스를 방지하는 것으로 보고하였다(1,10).

양파, 사과, 토마토와 같은 야채와 과일에 많이 함유된 퀘르세틴(quercetin, Mw 302.23 g/mol; Fig. 1)은 플라보노이드 중에 플라보놀(flavonol)에 속하며 루틴과 같은 글리코사이드(glycoside)에서 유래된 아글리콘(aglycone) 형태로 A와 C 탄소에 수산기가 붙어 있다(11,12). 퀘르세틴은 혈관 확장, 항산화, 항암, 항염증 효과 등의 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(13). 현재 퀘르세틴과 관련된 방사선 조사로 유도된 간세포와 조혈계 손상에 대한 보호 효과 연구가 아직 이루어져 있지 않다. 본 연구에서는 BALB/c 마우스에서 감마선 조사로 유도된 간세포와 조혈계 손상 회복에 대한 퀘르세틴 투여 후의 효과를 평가하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

퀘르세틴, CMC(carboxyl methyl cellulose), DNPH(2,4-dinitro phenylhydrazine), SDS(sodium dodecyl sulfate), BSA(bovine serum albumin), TCA(trichloroacetic acid), TBA(thiobarbituric acid), aspartate, alanine은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다.

실험동물

6주령(18.3±1 g)의 BALB/c 마우스 암컷을 오리엔트바이오(주)(Seoul, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 23±2°C의 온도, 55±5%의 습도, 12시간 단위의 명암주기로 유지되는 실험동물 사육장에서 1주일간 적응시켰으며, 고형사료와 물은 자유로이 공급하였다. 본 연구를 위한 동물실험은 한국원자력연구원 첨단방사선연구소의 동물실험 윤리위원회의 승인 하에 수행되었다.

감마선 조사

정상대조군을 제외한 BALB/c 마우스는 아크릴 상자에 넣고 ¹³⁷Cs선의 흡수선량이 6 Gy가 되도록 마우스 몸 전체에 조사하였다. 감마선 조사는 한국원자력연구원 첨단방사선연구소 내 Gammacell 40 exactor(MDS Nordion, Ottawa, Canada)를 사용하여 1.1 Gy/min의 선량율이 되게 조사하였다.

동물실험 수행

감마선 조사 후 퀘르세틴의 투여가 감마선 조사로 유도된 손상에 대한 회복 효과를 보기 위하여 BALB/c 마우스를 7마리씩 4개 그룹으로 나누어 실험을 진행하였으며, CMC를 제공한 정상대조군, 6 Gy의 감마선을 조사한 후 CMC를 제공한 감마선 조사군, 6 Gy의 감마선을 조사한 후 7일 동안 퀘르세틴 25, 50 mg/kg을 경구 투여한 군으로 나누었다. 감마선 조사 1시간 뒤 시료를 투여하였고, 1일 1회씩 7일 동안 존대(gastric tube)를 이용하여 식도 하단부까지 삽입하여 경구 투여하였으며 마지막 시료 투여 후 12시간 뒤에 분석시료를 채취하고 경추 탈골하여 희생하였다.

시료 채취

감마선 조사 후 퀘르세틴의 투여가 감마선 조사로 유도된 손상에 대한 회복 효과를 보기 위해 감마선 조사 후 7일이 지난 다음 12시간 절식시킨 후 BALB/c 마우스를 흡입마취제(2% isoflurane)로 전신 마취시켰다. 그 후 개복하여 하대정맥에서 혈액을 채취하고, 간, 비장, 흉선을 적출하여 냉 식염수로 세척한 후 건조시켜 무게를 측정하였다. 비장 및 흉선 지수는 (비장 및 흉선 무게/체중)×100에 의해 계산되었다.

혈구 분석

채취한 혈액을 혈액응고 방지제인 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)가 처리된 튜브에 채취하여 혈액 내 백혈구(white blood cell, WBC) 수를 혈액학적 분석기(HEMAVET HV950, Drew Scientific, Inc., Dallas, TX, USA)를 이용하여 측정하였다.

생화학 분석

채취한 혈액을 혈액응고 방지제인 헤파린(heparin)이 처리된 튜브에 채취하여 3,000×g로 20분 동안 원심분리 하고 혈장을 분리하여 4°C에서 저장하였다. 혈장 중 AST(aspartate aminotransferase)와 ALT(alanine aminotransferase)의 측정은 Bergmeyer 등(14)의 방법에 따라 측정하였다. AST와 ALT 기질액 1.0 mL를 각각 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 혈장 0.2 mL를 넣고 잘 혼합한 후 37°C에서 반응시킨 뒤 DNPH 1 mL를 첨가하여 잘 혼합하고 실온에서 20분간 방치하여 반응을 종료시켰다. 마지막으로 0.4 M NaOH 용액을 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 약 10분간 방치하였다가 Multiskan FC microplate photometer(Thermo, Vantaa, Finland)를 이용하여 540 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

간 조직의 생화학 분석

간 조직은 인산염 완충액(0.1 M, pH 7.4)을 가한 후 균질화기기인 Precellys 24-dual(Bertin, Villeurbanne, France)을 이용하여 10% 균질화 용액으로 만들었으며, 4°C에서 10,000×g로 10분 동안 원심분리 시켜 상층액을 생화학적

분석에 사용하였다. 방사선 조사에 의한 생체조직의 지질과 산화를 알아보기 위해 Ohkawa 등(15)의 방법에 준하여 MDA(malondialdehyde)를 측정하였다. 상층액 100 μ L를 취하여 8.1% SDS lysis 용액 100 μ L, 20% TCA 용액 150 μ L, 0.8% TBA 용액 150 μ L를 넣고 100°C에서 1시간 동안 반응한 후, 상온에서 식혀 4°C에서 3,000 \times g로 10분 동안 원심분리 하였으며, 상층액 300 μ L와 n-butanol 300 μ L를 섞어 10,000 \times g로 5분 동안 원심분리 한 후 상층액 200 μ L를 취하여 Multiskan FC microplate photometer(Thermo)를 이용하여 540 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. SOD(superoxide dismutase), catalase, GPx(glutathione peroxidase)는 측정용 kit 시약(Biovision, Milpitas, CA, USA)으로 측정하였다. 간 조직의 단백질 함량 측정은 Bradford(16)의 방법에 따라 BSA(bovine serum albumin)를 표준품으로 사용하여 측정하였다.

통계분석

실험에서 얻어진 결과는 Statistical Package for Social Sciences(SPSS 18.0, IBM, Chicago, IL, USA)를 이용하였다. 방사선에 의해 유도된 손상에 대한 퀘르세틴의 동물실험 결과는 일차원 분산분석(one-way ANOVA)을 이용하여 수행되었고, 내부 군 비교는 Tukey 다중비교분석(Tukey's multiple comparison test)을 이용하여 수행되었다. 수치는 각 군의 7마리에 대하여 평균 \pm 표준편차로 표현되었다. $P<0.05$ 인 경우 유의한 것으로 고려되었다.

결과 및 고찰

비장 및 흉선 지수 변화

6.5 Gy의 방사선 조사 시 비장 및 흉선은 림프구의 괴사가 일어나 부피 및 중량이 감소하는 등 방사선에 민감한 조혈조직으로 알려져 있다(17). 본 연구에서는 정상대조군의 비장 지수가 0.436으로 나타났으며, 감마선 조사군의 비장 지수는 0.086으로 정상대조군보다 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 감마선을 조사한 후 퀘르세틴 50 mg/kg을 투여한 군은 감마선 조사군에 비해 유의적으로 비장 지수가 증가하였다($P<0.05$). 정상대조군의 흉선 지수는 0.356으로 나타났으며, 감마선 조사군의 흉선 지수는 0.037로 정상대조군보다 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 퀘르세틴 25, 50 mg/kg을 투여한 군은 감마선 조사군에 비해 유의적으로 흉선 지수가 증가하였다($P<0.05$). 방사선 조사 후 퀘르세틴의 투여가 방사선 조사에 의한 조혈 면역계 기관 손상에 대해 회복시키는 것을 확인하였다(Table 1).

백혈구 수치 변화

감마선 조사 7일 후의 혈구 성분을 측정하였다. 방사선 조사 후에는 골수의 손상이 나타나 말초혈액 및 말초림프기관의 면역세포수가 급격히 감소한다(18). 감마선 조사군은

Table 1. Effect of post-treatment with quercetin on the status of spleen index and thymus index of control and experimental animals at day 7 after 6 Gy of γ -irradiation

Groups	Spleen index	Thymus index
Normal group	0.436 \pm 0.016	0.356 \pm 0.01
6 Gy irradiation	0.086 \pm 0.002	0.037 \pm 0.001
6 Gy irradiation+25 mg/kg QT	0.125 \pm 0.009	0.087 \pm 0.007*
6 Gy irradiation+50 mg/kg QT	0.137 \pm 0.008**	0.097 \pm 0.015**

Values are expressed as mean \pm SD for seven mice in each group. * $P<0.05$ and ** $P<0.01$ represent significant differences compared with 6 Gy of irradiation group.

정상대조군에 비해 백혈구 수치가 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 본 실험에서는 퀘르세틴 50 mg/kg을 투여한 군의 백혈구 수치가 감마선 조사군에 비해 유의적으로 증가하였다($P<0.05$, Fig. 2).

혈장의 생화학적 변화

간세포가 손상을 받았을 경우 AST와 ALT는 혈중으로 방출되어 활성이 증가되는 아미노기 전이효소로서 간독성 검사에 주로 사용되며, 특히 ALT는 대부분 간 조직에 분포하여 간 손상과 직접적으로 연결되는 것으로 알려져 있다(19). 또한 랫트에 감마선을 조사할 경우 혈중 AST와 ALT의 효소 활성이 급격히 증가됨을 보였다(20). 본 실험에서는 감마선 조사군의 혈장 중 AST와 ALT를 정상대조군과 비교하였을 때 유의적으로 증가하여 간독성이 나타남을 보여주었다($P<0.05$). 감마선 조사 후 퀘르세틴 25 mg/kg을 투여한 군에서는 ALT에서만 감마선 조사군에 비해 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 감마선 조사 후 퀘르세틴 50 mg/kg을 투여한 군에서는 감마선 조사군에 비해 ALT와 AST가 유의적으로 감소하였다($P<0.05$, Fig. 3). 따라서 방사선 조사 후 퀘르세틴의 투여가 방사선 조사에 의한 혈장 내 간 손상 지표 효소의 활성 상승을 유의적으로 억제하여 세포 손상을 억제하고 세포를 보호하는 것을 알 수 있다.

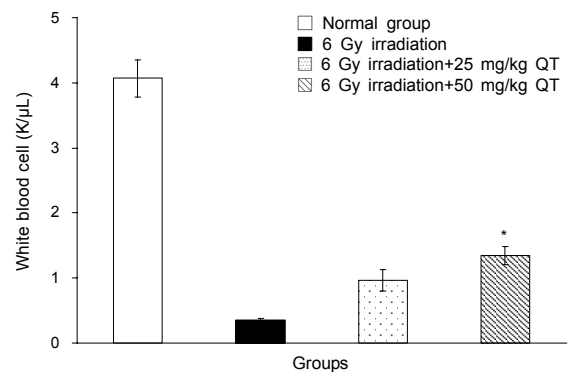


Fig. 2. Effect of post-treatment with quercetin on the status of WBC of control and experimental animals at day 7 after 6 Gy of γ -irradiation. Values are expressed as mean \pm SD for seven mice in each group. * $P<0.05$ represents significant differences compared with 6 Gy of irradiation group.

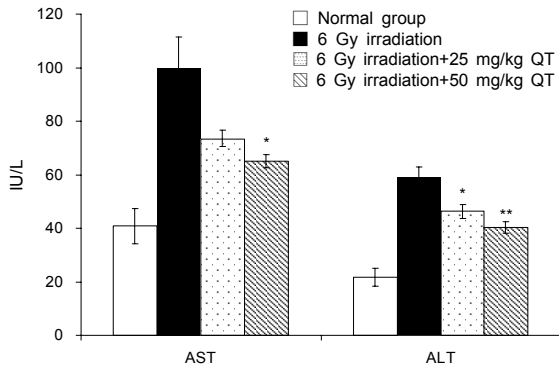


Fig. 3. Effect of post-treatment with quercetin on the status of AST and ALT of control and experimental animals at day 7 after 6 Gy of γ -irradiation. Values are expressed as mean \pm SD for seven mice in each group. * P <0.05 and ** P <0.01 represent significant differences compared with 6 Gy of irradiation group.

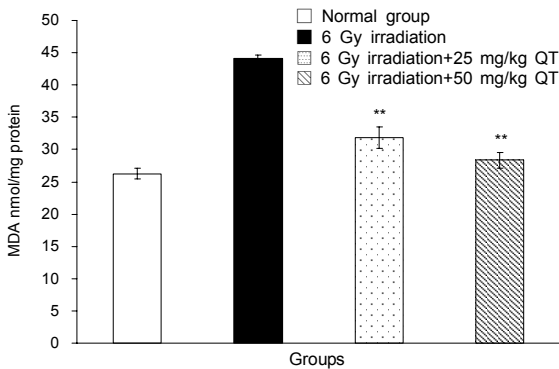


Fig. 4. Effect of post-treatment with quercetin on the status of Lipid peroxidation in the liver of control and experimental animals at day 7 after 6 Gy of γ -irradiation. Values are expressed as mean \pm SD for seven mice in each group. ** P <0.01 represents significant differences compared with 6 Gy of irradiation.

간 조직의 지질과산화 변화

지질과산화는 방사선 노출로 발생하는 산화적 스트레스의 지표가 된다. 이는 방사선 노출 시 생체막의 주성분인 지질이 활성산소에 의해 산화되어 지질과산화를 나타내는 MDA가 생성되기 때문이다(21). 본 실험에서는 감마선 조사 7일 후 감마선 조사군의 MDA는 정상대조군과 비교하였을 때 유의적으로 증가하였다(P <0.05). 감마선 조사 후 퀘르세틴 25, 50 mg/kg을 투여한 군에서 감마선 조사군에 비해 MDA가 유의적으로 감소하였다(P <0.05, Fig. 4). 따라서 퀘르세틴이 방사선 조사에 따른 간 조직 내 지질과산화 상승을 억제할 수 있었다.

간 조직의 항산화 효소

방사선에 의해 생성된 자유 라디칼은 생체 내에서 존재하는 항산화 물질이나 항산화 효소, 또는 섭취되는 항산화제에 의하여 제거된다(22). SOD는 O_2^- 를 H_2O_2 로 변환시키는 과정을 촉매하며 catalase와 GPx는 H_2O_2 를 제거하는 기능이

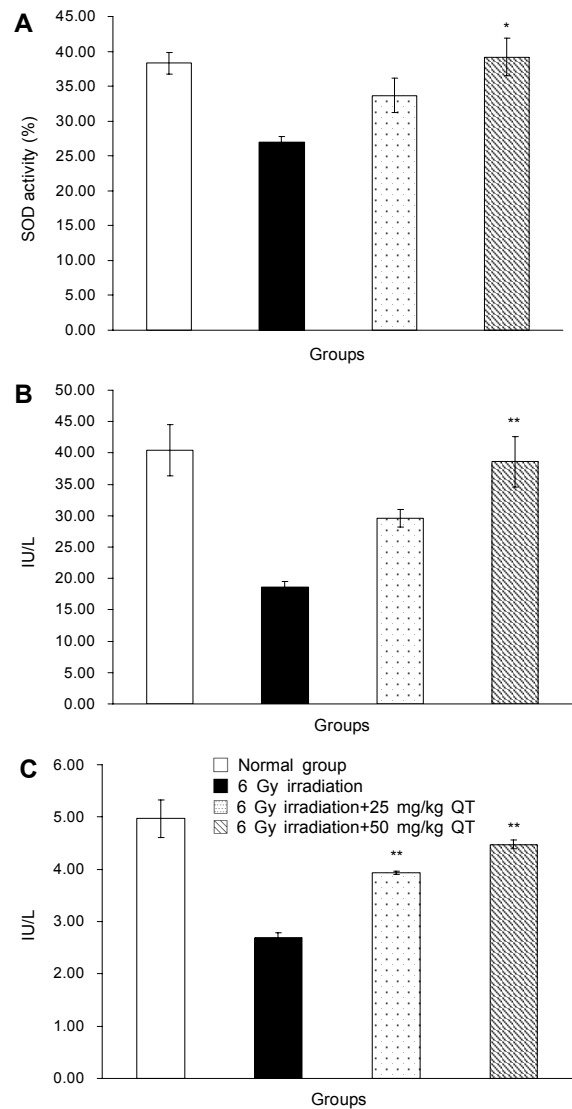


Fig. 5. Effect of post-treatment with quercetin on the status of SOD (A), catalase (B), and GPx (C) in the liver of control and experimental animals at day 7 after 6 Gy of γ -irradiation. Values are expressed as mean \pm SD for seven mice in each group. * P <0.05 and ** P <0.01 represent significant differences compared with 6 Gy of irradiation group.

있는 항산화 효소로 알려져 있다(23). 동물에 감마선을 조사할 경우 위와 같은 항산화 효소 활성의 감소가 나타나는 것으로 알려져 있다(20,24). 감마선 조사 7일 후 감마선 조사군의 SOD, catalase, GPx는 정상대조군에 비해 유의적으로 감소하였다(P <0.05). 감마선 조사 후 퀘르세틴 50 mg/kg을 투여한 군에서 SOD 활성과 catalase가 감마선 조사군에 비해 유의적으로 증가하였다(P <0.05). 감마선 조사 후 퀘르세틴 25, 50 mg/kg을 투여한 군에서 GPx가 감마선 조사군에 비해 유의적으로 증가하였다(P <0.05, Fig. 5). 따라서 퀘르세틴이 방사선 조사에 따른 간 조직 내 항산화 효소의 감소를 회복시킨 것을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구는 BALB/c 마우스에서 감마선 조사 후 퀘르세틴을 7일 동안 경구 투여하여 감마선 조사로 인한 조혈계 및 간세포 손상에 대한 방사선 회복 효과를 검토하였다. 퀘르세틴을 투여한 군은 감마선 조사군에 비해 비장 및 흉선 지수, 백혈구 수치가 증가하여 조혈 면역계 손상에 대해 보호 효과가 있음을 확인하였다. 또한 ALT와 AST의 활성도 감마선 조사군에 비해 유의적으로 감소하여 간세포 손상에 대한 보호 효과를 확인하였다. 방사선 조사에 의해 체내에서 생성된 자유라디칼은 생체물질과 결합하여 지질과산화물을 일으키고 산화적 스트레스를 유도하여 조직을 손상시킨다. 퀘르세틴을 투여한 군의 지질과산화는 감마선 조사군에 유의적으로 낮게 나타나 방사선에 의한 장애를 감소시켰으며, 항산화 효소도 감마선 조사군에 비해 유의적으로 증가하여 생체 내 항산화 활성도 회복시켰다. 이상의 결과를 통해 방사선 조사 후에 퀘르세틴의 투여는 방사선에 의한 조혈계 및 간세포 손상에 대해 회복 효과가 있어 방사선 보호제로 유용하게 사용될 수 있다.

감사의 글

이 연구는 미래창조과학부에서 시행하는 방사선기술개발사업(Grant No. 2012M2A2A601135)의 지원으로 수행되었습니다.

REFERENCES

- Pradeep K, Park SH, Ko KC. 2008. Hesperidin a flavanoglycone protects against gamma-irradiation induced hepatocellular damage and oxidative stress in Sprague-Dawley rats. *Eur J Pharmacol* 587: 273-280.
- Hosoda M, Tokonami S, Sorimachi A, Monzen S, Osanai M, Yamada M, Kashiwakura I, Akiba S. 2011. The time variation of dose rate artificially increased by the Fukushima nuclear crisis. *Sci Rep* 1: 87.
- Hosoda M, Tokonami S, Tazoe H, Sorimachi A, Monzen S, Osanai M, Akata N, Kakiuchi H, Omori Y, Ishikawa T, Sahoo SK, Kovács T, Yamada M, Nakata A, Yoshida M, Yoshino H, Mariya Y, Kashiwakura I. 2013. Activity concentrations of environmental samples collected in Fukushima Prefecture immediately after the Fukushima nuclear accident. *Sci Rep* 3: 2283.
- Morino Y, Ohara T, Watanabe M, Hayashi S, Nishizawa M. 2013. Episode analysis of deposition of radiocesium from the Fukushima Daiichi nuclear power plant accident. *Environ Sci Technol* 47: 2314-2322.
- Cardis E, Gilbert ES, Carpenter L, Howe G, Kato I, Armstrong BK, Beral V, Cowper G, Douglas A, Fix J, Fry SA, Kaldor J, Lavé C, Salmon L, Smith PG, Voelz GL, Wiggs LD. 1995. Effects of low doses and low dose rates of external ionizing radiation: cancer mortality among nuclear industry workers in three countries. *Radiat Res* 142: 117-132.
- Bansal P, Paul P, Kunwar A, Jayakumar S, Nayak PG, Priyadarsini KI, Unnikrishnan MK. 2012. Radioprotection by quercetin-3-O-rutinoside, a flavonoid glycoside—A cellular and mechanistic approach. *J Funct Foods* 4: 924-932.
- Bolus NE. 2014. Basic review of radiation biology and terminology. *J Nucl Med Technol* 29: 67-73.
- Vijayalaxmi, Reiter RJ, Tan DX, Herman TS, Thomas CR Jr. 2004. Melatonin as a radioprotective agent: a review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 59: 639-653.
- Hosseinimehr SJ. 2007. Trends in the development of radioprotective agents. *Drug Discov Today* 12: 794-805.
- Kang KA, Lee IK, Zhang R, Piao MJ, Kim KC, Kim SY, Shin T, Kim BJ, Lee NH, Hyun JW. 2011. Radioprotective effect of geraniin via the inhibition of apoptosis triggered by γ -radiation-induced oxidative stress. *Cell Biol Toxicol* 27: 83-94.
- Hopia A, Heinonen M. 1999. Antioxidant activity of flavonoid aglycones and their glycosides in methyl linoleate. *J Am Oil Chem Soc* 76: 139-144.
- Kim GN, Kwon YI, Jang HD. 2011. Protective mechanism of quercetin and rutin on 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride or Cu^{2+} -induced oxidative stress in HepG2 cells. *Toxicol In Vitro* 25: 138-144.
- Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Bilotto S, Russo GL. 2012. The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. *Biochem Pharmacol* 83: 6-15.
- Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. 1978. Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin Chem* 24: 58-73.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi A. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
- Gough GR, Boggs SS, Schwartz GN. 1977. Changes in thymus size observed radiographically during the course of spontaneous lymphoma in the AKR/J mouse. *Lab Anim Sci* 27: 627-634.
- Patchen ML, MacVittie TJ, Williams JL, Schwartz GN, Souza LM. 1991. Administration of interleukin-6 stimulates multilineage hematopoiesis and accelerates recovery from radiation-induced hematopoietic depression. *Blood* 77: 472-480.
- Recknagel RO, Glende EA Jr, Dolak JA, Waller RL. 1989. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther* 43: 139-154.
- Pradeep K, Ko KC, Choi MH, Kang JA, Chung YJ, Park SH. 2012. Protective effect of hesperidin, a citrus flavanoglycone, against γ -radiation-induced tissue damage in Sprague-Dawley rats. *J Med Food* 15: 419-427.
- Emerit J, Edeas M, Bricaire F. 2003. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomed Pharmacother* 58: 39-46.
- Fridovich I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys* 247: 1-11.
- De Freitas RB, Augusti PR, De Andrade ER, Rother FC, Rovani BT, Quatrin A, Alves NM, Emanuell T, Bauermann LF. 2014. Black grape juice protects spleen from lipid oxidation induced by gamma radiation in rats. *J Food Biochem* 38: 119-127.
- Pratheeshkumar P, Kuttan G. 2011. Protective role of *Vernonia cinerea* L. against gamma radiation-induced immunosuppression and oxidative stress in mice. *Hum Exp Toxicol* 30: 1022-1038.