

ПАРАДИГМИ СУЧАСНОЇ РАДІОБІОЛОГІЇ**Д. М. Гродзинський***Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України, Київ*

Розглянуто основні парадигми сучасної радіобіології як моделі уявлень про сутність радіобіологічних проблем та методів їх вирішення. Наголошується на беззаперечній евристичності цих висхідних концептуальних тверджень і їхньому сприянні подальшому розвитку експериментальної науки, що має конкретний прояв у вирішенні актуальних задач захисту людей від дії іонізуючого випромінювання.

Упродовж останніх років у радіобіологічних дослідженнях були отримані численні нові дані, що примушують переглядати деякі парадигми радіобіології й спонукають до формулювання нових парадигм. Особливо ж сприяли ревізії основних положень теоретичної радіобіології дослідження радіобіологічних ефектів хронічного опромінення широкого кола об'єктів живої природи. Звісно, що необхідність у глибокому і всебічному дослідженні саме ефектів хронічного опромінення при різних потужностях доз зобов'язана Чорнобильській катастрофі. Ця техногенна аварія обумовила як додаткове опромінення багатомільйонного населення в ряді країн Європи, так і підвищені рівні опромінення тварин, рослин, грибів, мікроорганізмів та вірусів у регіонах впливу радіонуклідного забруднення довкілля.

З виявлених порівняно недавно радіобіологічних ефектів, які впливають на зміст парадигм, відзначимо радіоадаптацію, індукцію геномної нестабільності, втрату здатності опромінених клітин адекватно сприймати позиційну інформацію, кумулятивність доз при хронічній дії радіації, нееквівалентність зовнішнього і внутрішнього опромінення. Оскільки віддзеркалення радіаційного ураження у формі тривалих епігенетичних змін або нагромаженні і відстроченні реалізації прихованих радіаційних пошкоджень у послідовності клітинних поколінь є переконливо доведеним фактом, окреслилась проблема розрахунків доз за умов хронічного опромінення. Справді, за цих умов нові організми формуються з клітин, які мають тавро опромінення відповідних батьківських індивідів.

Зазначимо, що уявлення класичної радіобіології формувались переважно на фактах, які здобуто в експериментах з гострим опроміненням у високих дозах, що давало змогу порівняно нескладно отримувати оцінку доз опромінення.

Умови, що склалися внаслідок безпрецедентного забруднення довкілля радіоактивними речовинами, викинутими в біосферу під час аварії на ЧАЕС, вимагають від радіобіологів з вичерпною повнотою оцінити очікувані наслідки перебування в місцевостях з підвищеним рівнем радіаційного фону як людей, так і біоти в цілому. Вирішення цього завдання є вкрай необхідним з огляду на те, що існує нагальна потреба в оцінках можливих ризиків віддалених наслідків дії хронічного опромінення та створення ефективних способів їх зменшення або ж повного відвернення. Тому уважний перегляд адекватності існуючих парадигм стосовно їх евристичності, а також формулювання додаткових парадигм, що торкаються нових виявлених радіобіологічних феноменів, здаються нам актуальною, дуже важливою й відповідальною справою. Власне, провідною метою даного симпозіуму і є наближення до аналізу парадигм сучасної радіобіології. Ще раз наголошуємо на важливості цього наукового підходу, бо саме завдяки йому можуть набувати більшої відповідності та цілеспрямованості подальші радіобіологічні дослідження.

Перелічимо парадигми, які, на нашу думку, мають підпасти уважному аналізу щодо їх адекватності сукупності відомих на цей час експериментальних матеріалів. Звісно, цей показаний далі перелік далеко не вичерпує всіх можливих і відомих парадигм і загально-визнаних положень радіобіології. Їх тут використано з метою продемонструвати їх значення та неповноту.

Основні парадигми сучасної радіобіології

1. Принципи теорії мішені.
2. Відсутність порогу доз в негативних ефектах опромінення живих організмів.
3. Наявність ефектів соматичного гормезису.
4. Відносна біологічна ефективність (ВБЕ) відображає лише якість випромінювання, тобто значення лінійної передачі енергії.
5. Радіобіологічні реакції клітин розглядаються як реакції специфічні.
6. Стохастичні і детерміністичні ефекти є незалежними між собою проявами відповіді клітини на опромінення.
7. Наслідки одиночного влучення є неподільним.;
8. Відновлення клітин від радіаційного ураження, так само як і їх радіостійкість, контролюється репарацією ДНК.
9. Існують приховані (латентні) променеві ураження клітин.
10. Наявність "ефекту свідка" в прояві радіаційного ураження багатоклітинних систем.
11. Зовнішнє й внутрішнє опромінення є однаковими за своєю біологічною ефективністю.
12. Радіостійкість = 1 – радіочутливість.
13. Ефект потужності дози спостерігається лише в певному і досить вузькому інтервалі потужностей доз.

Зазначимо, що до принципів теорії мішені, серед яких головним є твердження, що влучення в мішень зумовлює ефект і такою мішенню є генетичний апарат, зосереджений у клітинному ядрі, виникли підстави припускати наявність не однієї, а, принаймні, чотирьох типів мішеней. Ці основні можливі мішені радіаційного впливу характеризуються наступними властивостями.

1. Хроматин клітинного ядра. Розміри (об'єм хромосом) варіюють в межах від 10^{-6} до 10^4 мкм³. Вихід молекулярних пошкоджень в середній за розміром клітині та її ядрі на 1 Гр становить: 40 двониткових розривів ДНК, 1000 одониткових розривів ДНК, 700 випадків утворення 8-гідроксиденину, 250 пошкоджень тимінового залишку.

2. Мембранна система клітини. Ця мішень представлена плазмалеомою, ендоплазматичним ретикулумом, ядерною мембраною, тонопластом. Об'єм мембранної системи в рідиннокристалічному стані варіює в межах від 7,5 до 9 % об'єму клітини. При цьому вихід молекулярних пошкоджень може бути дуже значним за рахунок ланцюгових реакцій окислення ліпідів.

3. Генетичний апарат мітохондрій. Розміри мітохондрій варіюють в межах від 0,25 до 5 мкм³ на одну клітину, а число мітохондрій у клітині становить від 150 до 500000 шт.

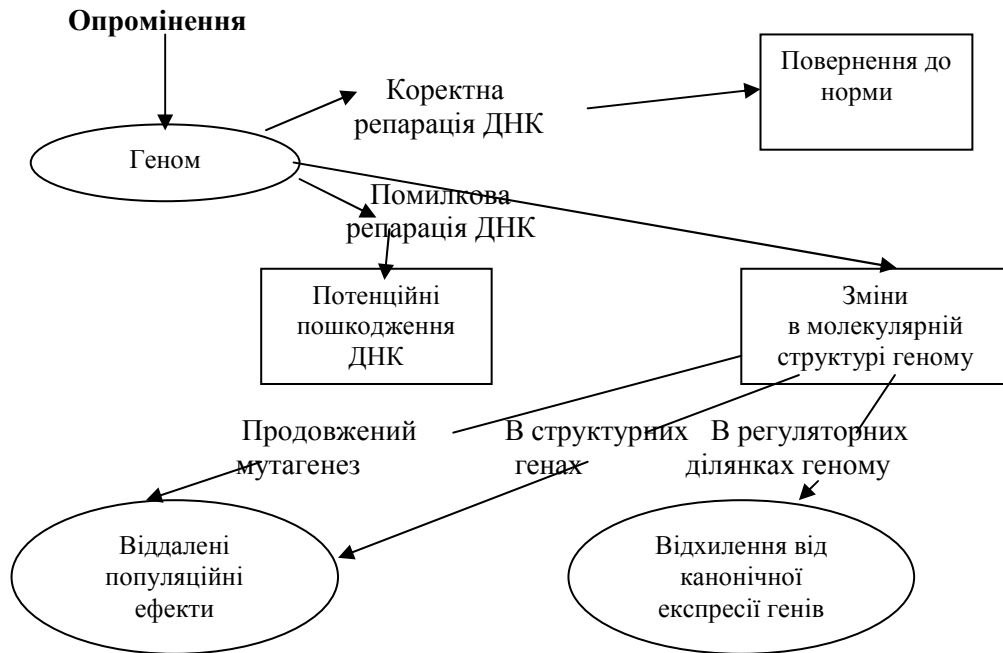
4. Надмолекулярні асоціати ("молекулярні машини") клітини. До цієї мішені відносять складні субодиничні ферменти, ультраструктури електрон-транспортного ланцюга, іонні канали, молекулярні угруповання, відповідальні за трансляцію тощо.

На те, що мембранні системи клітини мають розглядатись як мішень впливу радіації, зверталась увага ще багато років тому (Б. М. Тарусов, О. Б. Бурлакова, О. М. Кузін). На роль мітохондріального геному в якості мішені для дії радіації на клітину вказує А. І. Газієв.

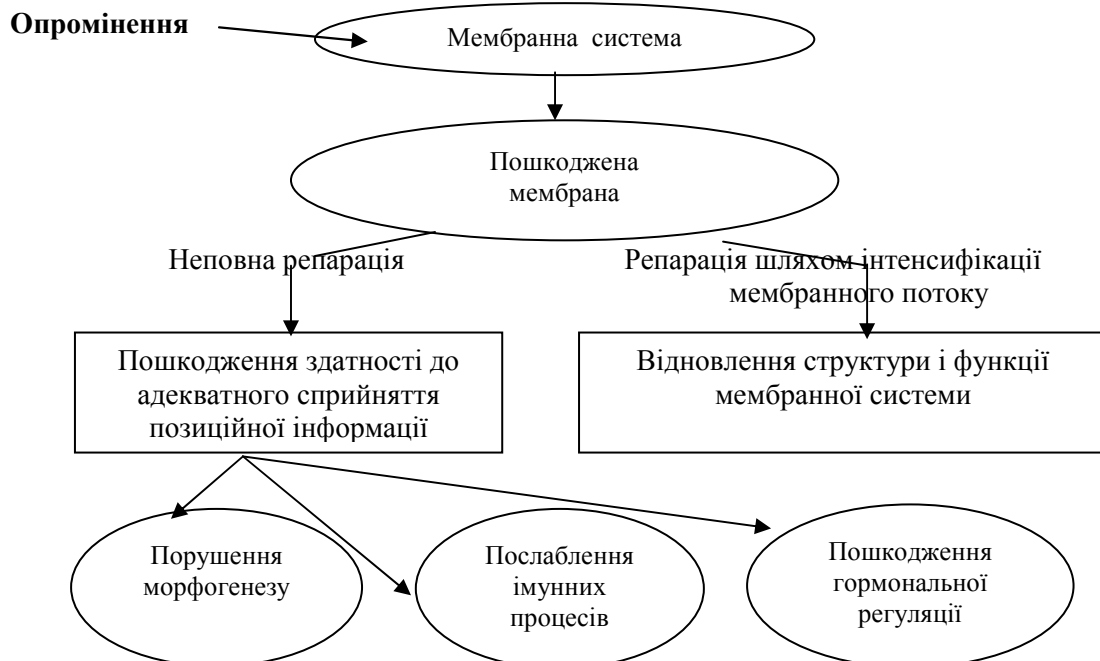
Безперечно, за унікальністю молекулярної структури генетичного апарату ядерний хроматин може відігравати провідну роль у формуванні радіаційного ураження клітин твірних тканин, хоча виявлення процесів репарації ДНК дещо послаблює переконливість твердження про незворотність пошкоджень молекул ДНК і їх матричної функції. Наявність репарації ДНК у деякій мірі пом'якшує суворі відмінності геному від інших відтворюваних молекул клітини. Поза тим, ініціація радіаційного ураження клітини може обумовлюватись пошкодженнями молекулярних структур, причетних до регуляторних систем, які зазнають змін при влученні у відповідні "мішені". При цьому вирішальною умовою є надзвичайно обмежений час здійснення реакції, за який біосинтетичні процеси не встигають відновити

пошкоджені молекули. Є підстави вважати, що наслідки опромінення різних мішеней неоднакові. Розглянемо ці наслідки на наведених схемах.

Наслідки опромінення ядерного геному (мішень № 1)



Наслідки опромінення мембранної системи клітини (мішень № 2)



Наслідки влучення в мітохондріальний геном реалізуються за тими ж механізмами, що й у випадку пошкодження ядерного геному. Відмінність полягає в тому, що пошкоджуються множинні генетичні структури, бо кількість геномів мітохондрій дорівнює числу останніх. Поза тим існує певний комплементарний зв'язок між геномами мітохондрій і ядра клітини, і тому влучення квантів у генетичний апарат мітохондрій може супроводжуватись специфічними реакціями. Оскільки жіночі статеві клітини зазвичай мають велику кількість мітохондрій, саме для цих клітин може виявитись вагомим променеве ушкодження мітохондріального геному. Слід також приймати до уваги можливу відсутність або суттєву ослабленість репарації ДНК у мітохондріях.



Парадигма, яка стосується відсутності порогу доз, що викликають розвиток негативної реакції клітини або багатоклітинного організму, у своїй основі має припущення, що репарація ДНК частково здійснюється шляхом помилкової репарації. Окрім того опромінення в малих дозах може викликати активну реакцію клітин на нього як на сигнальний чинник. З цією парадигмою тісно пов'язане питання про те, чи можлива лінійна екстраполяція кривих залежностей радіобіологічних ефектів від значення дози з області високих доз в область низьких доз. Власне ще й досі не досягнуто взаєморозуміння щодо науково обґрунтованого способу екстраполяції кривих залежностей інтенсивності прояву радіобіологічних ефектів від дози. Висловлені пропозиції можуть дуже відрізнятися: від визнання можливості лінійної екстраполяції залежностей радіобіологічних ефектів від дози і до припущень про повну відмінність механізмів дії малих і великих доз іонізуючої радіації. Не виключено, що реакція клітини й багатоклітинного організму на вплив малої дози складається з кількох компонентів, серед яких є й така, відносно якої можлива лінійна екстраполяція. Окреслена тут проблема має дуже велике значення. Зокрема, від її вирішення залежить і чітко визначення що є "малою" або "великою" дозою опромінення.

Певно, при дії малих доз іонізуючого випромінювання значну, якщо не визначальну роль відіграє індукована опроміненням зміна функціонування регуляторних систем клітини внаслідок того, що організм може сприймати дію малої дози як сигнал неблагополуччя стосовно до цитогенетичної загрози з боку середовища існування. Є підстави вважати, що на дію цього сигналу, який називають "сигналом тривоги", організм реагує різними видами адаптаційних реакцій. Серед таких пристосувань можна вирізнити онтогенетичну і філогенетичну адаптації. Перша з них проявляється формуванням радіоадаптації, друга пов'язана з більш складними явищами, які в своїй сукупності мають призводити до зростання генетичної мінливості в поколіннях. Аби зростала генетична мінливість в популяції, повинні збільшуватись частоти генетичних транслокацій, помилкової репарації та гетерозиготності. Водночас повинна зростати роль гаплонтного і диплонтного клітинних відборів. Гіпотезу сприйняття малої дози опромінення як сигналу тривоги показано на схемі.

Ця схема підтверджується численними експериментальними даними. Наприклад, на поліхетах показано, що під впливом радіонуклідного забруднення мулів у водоймах, де мешкають ці істоти, помітно зростає частота статевого розмноження при одночасному зменшенні, притаманному звичайним умовам вегетативного галушення (Г. Г. Полікарпов).

Сприйняття малої дози як сигналу тривоги



На користь сформульованої гіпотези свідчать такі радіобіологічні ефекти:
індукція геномної нестабільності під впливом хронічного опромінення;
зміни норми реакції, яка спостерігається у рослин на забруднених радіонуклідами територіях;
зростання спектра фенотипів у опромінених популяцій рослин;
зміни тривалості онтогенезу у рослин, що підпадають під хронічне опромінення;
збільшення частот мітотичних кросинговерів у рослин за умов хронічного опромінення;
сенсibiliзація клітин до дії цитотоксичних агентів.

Необхідно зауважити, що радіоадаптація не є специфічною реакцією і не залежить від природи чинників, які її викликають. Так, було показано, що радіоадаптація розвивається у відповідь на дію ультрафіолетових променів (О. О. Данильченко, Д. М. Гродзинський).

Статистичним доказом збільшення темпів мінливості в популяціях є зростання значень дисперсії, розрахованих для кількісних ознак рослин (Д. М. Гродзинський).

Очевидно, парадигма, котра стосується радіаційної індукції геномної нестабільності, має безпосереднє відношення до механізмів регуляції темпів мінливості. Мета останньої полягає в забезпеченні ефективного природного добору більш радіостійкої видової популяції. Принагідно зазначимо, що подібних явищ слід очікувати на межі ареалів виду або ж за умов, коли в середовищі існування виду починають діяти стресові чинники будь-якої природи.

Індуковані малими дозами радіації процеси, що ведуть до філогенетичної адаптації, можна стисло викласти у формі наступної схеми.

Численні морфологічні аномалії у формі гігантизму або ж карликовості органів, які спостерігались у рослин, що ростуть у зоні відчуження ЧАЕС, не можуть бути віднесені до радіоморфозів. Справді, причиною утворення радіоморфозів є проліферативна загибель окре-

Віддалені ефекти сприйняття малої дози як сигналу тривоги



мих клітин, статистично розсіяних у твірних тканинах. Втрата у цих клітин здатності до поділів унеможлиблює нормальне формотворення, і внаслідок виниклих обмежень у просторовому нагромадженні нових клітин виникають потворні форми органів - радіоморфози. При дії ж малих доз у режимі хронічного опромінення спостерігаються зовсім інші явища: у рослин виникають різко відмінні від норми органи, що мають цілком регулярну й багато разів одноманітно відтворювану форму. При цьому регулярні за структурою змінені органи утворюються за правилом "все або нічого", і на одній і тій же рослині є як звичайні за розміром, так і групи, скажімо, гігантського листа. Така особливість аномального морфогенезу свідчить про статистичну природу цього радіобіологічного ефекту, пов'язаного з влученням фотонів радіації в певну клітинну мішень. Прикладами зазначеного явища є гігантизм голок у ялини звичайної, що підпадає під хронічне опромінення. У цієї ялини також може спостерігатись зміна числа голок на пагонах за рахунок того, що катафіли, з яких звичайно розвиваються лусочки, не зупиняються в своєму рості і перетворюються в гігантські додаткові голки. Гігантизм листа спостерігали також у дуба, липи, робінії і у трав'янистих рослин. Появу регулярних за структурою органів можна пояснювати тим, що під впливом іонізуючого випромінювання змінюється здатність клітин сприймати позиційну інформацію. Крім явища гігантизму доказами радіаційних порушень сприйняття позиційної інформації є послаблення апікального домінування, яке спричиняє надлишкове галуження рослин, гальмування у сприйнятті гравістимулів, втрату здатності до формотворення культури тканин з рослин, що зазнали хронічного опромінення, повну втрату контролю над закладенням бічних бруньок тощо.

Розкриттю молекулярних механізмів інактивації здатності клітин адекватно реагувати на позиційну інформацію слід приділити велику увагу, бо не виключено, що не тільки у рослин, але і у тварин певні аномалії розвитку, зміни в експресії окремих генів та пошкодженні системи клітинного імунітету можуть зумовлюватись саме цією первинною реакцією на хронічне опромінення.

Парадигма однакової біологічної ефективності зовнішнього й внутрішнього опромінення також вимагає перегляду. Нагромаджено чимало експериментальних даних, які свідчать про те, що внутрішнє опромінення в такій самій дозі, як і зовнішнє, спричиняє більш інтенсивний прояв радіобіологічних ефектів. Отож, поняття ВБЕ має стосуватись не лише різних типів радіації, але й внутрішнього й зовнішнього опромінення. При цьому причинами відмінностей у значеннях ВБЕ можуть бути неоднаковість мікродозиметричних характеристик опромінення при внутрішньому опроміненні, яка зумовлена нерівномірним розподілом радіонуклідів поміж ультраструктурами клітини. Показано концентрування деяких радіонуклідів у ділянках ядерної оболонки (О. Д. Коломієць, Д. М. Гродзинський). Якщо ж радіонуклід входить до складу біологічно важливих молекул (це насамперед ^3H , ^{14}C , ^{35}S та ряд інших радіоізотопів), то може мати прояв трансмутація атомів, унаслідок якої відбувається розрив ковалентних зв'язків у молекулах.

Не виключено, що в деяких випадках розбіжність у дії зовнішнього й внутрішнього опромінення може бути хибною внаслідок помилок у розрахунках доз, коли не береться до уваги те, що при депонуванні ^{137}Cs в клітинах останні зазнають насамперед впливу бета-випромінювання, а не гамма-радіації, яку випромінює дочірній ізотоп ^{137}Ba .

Проблема можливої нееквівалентності зовнішнього й внутрішнього опромінення є вкрай важливою хоча б тому, що нормування припустимих радіаційних навантажень ґрунтується на парадигмі еквівалентності внутрішнього й зовнішнього опромінення.

У формуванні віддалених наслідків опромінення можуть відігравати істотну роль популяційні ефекти, що обумовлюються мікроеволюційними процесами. У зв'язку з цим окреслюється ще одна парадигма: важливу роль у формуванні віддалених наслідків опромінення можуть відігравати генетично-популяційні явища. Залежно від тривалості онтогенезу й швидкості репродуктивного процесу, інтенсивності мутагенезу час, коли розпочнеться реалізація популяційних ефектів, виявляється різним. Слід підкреслити, що ці ефекти мають залежати від чисельності популяцій, які підпадають під хронічне опромінення, – чим більша популяція, тим вище ймовірність прояву генетично-популяційних ефектів. Такі ефекти встановлено у швидко обновлюваних популяціях стеблової іржі злаків, у яких в зоні відчуження ЧАЕС з часом зростала розмаїтість рас (О. П. Дмитрієв, Д. М. Гродзинський). Спостерігається зростання мінливості у вірусів (А. Л. Бойко). При допомозі методу RAPD PCR виявлено зростання філогенетичних відстаней між особинами сосни звичайної, яка росте на території, забрудненій радіонуклідами (Б. В. Сорочинський).

Оскільки після аварії минуло 19 років, необхідно встановити стеження над можливими генетично популяційними змінами, деякі з яких можуть мати певну загрозу як для флори і фауни в зоні відчуження ЧАЕС, так і для здоров'я людини. Найбільш імовірно, що особливо несприятливими можуть бути мікроеволюційні процеси в популяціях організмів - носіїв інфекцій. Найближчим часом необхідно буде опрацювати й запровадити моніторинг генетично популяційних процесів у видових популяціях у зоні підвищеного рівня опромінення, щоб завчасно упереджувати їх можливі негативні наслідки.

Є певні підстави сформулювати ще одну парадигму: як у ранніх, так і у більш віддалених наслідках опромінення віддзеркалюються зміни формотворчих, регуляторних, цитогенетичних і метаболічних процесів, які виявляються не стільки результатом реалізації безпосередніх пошкоджень клітинних ультраструктур, скільки проявом активної відповіді клітин і багатоклітинних систем організму у формах реалізації певної стратегії адаптації до несприятливих умов життєдіяльності. Така активна протидія розвитку негативних наслідків опромінення з більшою виразністю спостерігається при дії хронічного опромінення. При цьому визначальними процесами є ті, що пов'язані із збереженням не індивідуума, а виду. Іншими словами, в активних реакціях рослин на хронічне опромінення знаходить прояв філогенетична адаптація та упередження нагромадження генетичних дефектів у популяціях.

Як раніше зазначалось, за умов дії цитотоксичних чинників розпочинаються процеси вилучення завантажених надмірними генетичними пошкодженнями клітин з клітинного компартменту, який може призводити до формування репродуктивних клітин. Ці процеси здійснюються шляхом гаплонтного й диплонтного клітинних відборів. Гаплонтний відбір має місце завдяки тому, що гаплоїдні гамети, які є носіями рецесивних леталей, нежиттєздатні. Очевидно, цей механізм не може мати належної ефективності у поліплоїдів. Варто було б окремо дослідити долю поліплоїдних рослин за умов тривалої хронічної дії радіації, бо у них не здійснюється очищувальна роль гаплонтного відбору. Диплонтний відбір забезпечується активацією апоптозу або ж самоіндукцією проліферативної загибелі меристемних клітин, завдяки чому з процесу підтримки клітинних потоків у твірних тканинах вилучаються клітини з генетичним вантажем.

Поміж парадигмами радіобіології існує щільний зв'язок, а тому і їх розгляд має здійснюватись у рамках єдиної задачі. Гармонізація парадигм забезпечить подальший прогрес досліджень хронічної дії іонізуючої радіації на біологічні об'єкти різної складності - від субклітинних структур до складних багатовидових угруповань, що вкрай важливо для успішного вирішення численних радіобіологічних, радіологічних і радіоекологічних проблем сьогодення.