

HORMEZA POPROMIENNA: AUTOFAGIA I INNE MECHANIZMY KOMÓRKOWE

Irena Szumiel



WSTĘP

Jeden z ojców radiobiologii, współautor pierwszego podręcznika (Fundamentals of radiobiology, Zénon M. Bacq i Peter Alexander, 1955 r.), prof. Peter Alexander udzielił pod koniec życia wywiadu, w którym sceptycznie ocenił

doświadczenia mające na celu ustalenie wyników działania bardzo niskich dawek promieniowania jonizującego na organizmy żywe. Powiedział wtedy, że **zamiast napromieniać tysiące myszy niskimi dawkami i wyciągać niepewne wnioski z niejednoznacznych wyników - należy bardzo dobrze poznać mechanizmy komórkowe odpowiedzi na dawki promieniowania jonizującego, które wywołują wyraźne skutki.**

Opinię tę, warto zastosować do hormezy radiacyjnej. Jak wiadomo, termin hormezy oznacza działanie pobudzające i/lub dobroczynne niskiej dawki czynnika, który w wyższej dawce jest toksyczny. W przypadku hormezy radiacyjnej zakłada się, że bardzo niskie dawki promieniowania mogą działać korzystnie zarówno na poziomie komórkowym, jak i na poziomie całego organizmu. Wśród mechanizmów komórkowych odpowiedzi na promieniowanie jonizujące należy zatem znaleźć takie, którym można by przypisać rolę w hormezy radiacyjnej. Istotnie, w określonych układach doświadczalnych na poziomie komórkowym można dopatrzeć się działania hormetycznego i – dzięki wielkiemu postępowi w dziedzinie biologii komórkowej, jaki nastąpił w ostatnich latach - wiadomo, jakie mechanizmy są za to odpowiedzialne. Trudno jednak zgodzić się z poglądem, że **przy obecnym stanie wiedzy** jest to podstawa do złagodzenia przepisów obowiązujących w ochronie radiologicznej i do przyjęcia założenia, że bardzo niskie dawki i moce dawek nigdy nie szkodzą i zawsze działają korzystnie. Prawidłowe jest natomiast założenie, że raz

szkodzą a raz nie; zależy to od bardzo wielu uwarunkowań. Obecnie nie można jeszcze skutecznie kontrolować przebiegu procesów komórkowych prowadzących do skutków zarówno pozytywnych, jak i negatywnych po ekspozycji na bardzo niskie dawki promieniowania. Ponadto, skutki ekspozycji na promieniowanie jonizujące są zawsze różnorodne, ujawniają się w różnym czasie po ekspozycji i w różnym stopniu w poszczególnych typach komórek. W konsekwencji – jednoznaczna ocena stopnia ich sumarycznej szkodliwości lub braku szkodliwości dla organizmu jest bardzo trudna. Dopóki wiedza o mechanizmach komórkowych działających w odpowiedzi na niskie dawki promieniowania jonizującego nie będzie pełniejsza, pozostają w mocy wnioski sformułowane przez Thayera i współpracowników w pracy o wymownym tytule "Fundamental flaws of hormesis for public health decisions" [1]. W dalszym tekście przytoczone zostaną dane, które to stanowisko uzasadniają.

ZJAWISKA „NIECELOWANE” W OBSZARZE BARDZO MAŁYCH DAWEK PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO

Czynnikiem komplikującym analizę zależności dawka-efekt w obszarze bardzo małych dawek promieniowania jonizującego jest występowanie w wyniku ekspozycji zjawisk „non-targeted” – niecelowanych (niekierowanych), które cechuje brak zależności od wielkości dawki. Są to: efekt sąsiedztwa (efekt widza) [2-6], odpowiedź radioadaptacyjna [5, 7-9] i niestabilność genetyczna [10]. Brak zależności od wielkości dawki uważa się za dowód, że bardzo niska dawka promieniowania wywołuje powstanie w komórce sygnału na zasadzie „wszystko albo nic”. Wiele wskazuje na epigenetyczny charakter przynajmniej niektórych zmian indukowanych przez bardzo niskie dawki promieniowania w sposób niezależny od wielkości dawki [10, 11]. Oznacza to zmiany w ekspresji genów, niezależne od

ich sekwencji nukleotydowej, zazwyczaj polegające na uniemożliwieniu transkrypcji w wyniku deacetylacji histonów lub metylacji DNA.

Wymienione rodzaje odpowiedzi na niskie dawki ujawniają się w różnym czasie po ekspozycji i mają przeciwstawne skutki. Ich znaczenie dla oceny ryzyka i przebiegu zależności dawka-efekt w obszarze niskich dawek jest przedmiotem sporów i dyskusji [4, 12-17].

REAKTYWNE POSTACIE TLENU GENEROWANE PRZEZ PROMIENIOWANIE JONIZUJĄCE – CZY ZAWSZE SZKODLIWE?

Reaktywne postacie tlenu (RPT; termin zalecany w „Postęпах Biochemii” przez profesora Bartosza) to tlen singletowy, nadtlenki, ponadtlenki, kwas podchloryny oraz rodniki: anionorodnik ponadtlenkowy i rodnik hydroksylowy. Niektóre z nich powstają w komórkowych procesach metabolicznych. Nie można jednak na tej podstawie sądzić, że nie są szkodliwe. Jest wiele doświadczeń na układach modelowych, które dowodzą, że istotnie RPT nie zawsze są szkodliwe, jednak zależy to od bardzo licznych, nie do końca rozpoznanych uwarunkowań. Przykłady takich danych czytelnik znajdzie w dalszym tekście. Tym niemniej, jest także bardzo wiele danych doświadczalnych pokazujących szkodliwe działanie RPT wytwarzanych w komórkach, które ekspozowano na czynniki wywołujące stres oksydacyjny, zaś uruchamiane w tej sytuacji procesy komórkowe zostały bardzo szczegółowo scharakteryzowane. Liczne niekorzystne następstwa działania RPT zostały niedawno opisane w specjalnych zeszytach „Postępów Biochemii” pod redakcją Grzegorza Bartosza (część I, 56, Nr 2/2010; część II, 56, Nr 3/2010) poświęconych różnym aspektom stresu oksydacyjnego. Sposób i miejsce generowania RPT mają duże znaczenie dla losu komórki. Promieniowanie jonizujące także wywołuje stres oksydacyjny, jednak – w odróżnieniu od niektórych czynników chemicznych – działa na wszystkie przedziały komórkowe. Powstające w napromienionej komórce uszkodzenia DNA w znacznym stopniu określają przebieg odpowiedzi komórkowej. Duży wpływ na ten przebieg ma moc dawki: moc bardzo niska (poniżej 5 mGy/h) [18] daje skutki zbliżone do naturalnego stresu oksydacyjnego, jaki występuje w każdej komórce oraz szansę do uruchomienia obronnych mechanizmów antyoksydacyjnych. Im wyższa moc dawki – tym mniejsza taka szansa i tym większe są uszkodzenia genomu i struktur komórkowych.

Badając działania promieniowania jonizującego w warunkach doświadczalnych stosuje się takie dawki, jakie pozwalają uzyskać wyraźny, dający się oznaczyć skutek. Założenie *a priori*, że takie same, tylko słabsze

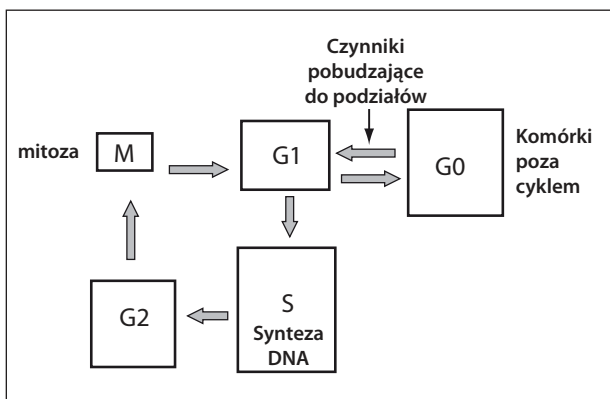
efekty wystąpią po obniżeniu dawki może prowadzić do błędnych wniosków. Po ekspozycji na bardzo niskie dawki otrzymanie statystycznie znamiennych wyników doświadczeń napotyka jednak na duże trudności wobec dużego rozrzutu danych, koniecznej wysokiej liczby powtórzeń i doboru odpowiednich grup kontrolnych, co znakomicie opisuje praca Hendry’ego i współpr. [19]. Nic dziwnego, że interpretacja doświadczeń lub badań epidemiologicznych mających rozstrzygnąć o występowaniu lub braku efektu hormetycznego po działaniu niskich dawek promieniowania jonizującego jest źródłem kontrowersji. Krytyczną ocenę interpretacji danych doświadczalnych dotyczących hormezy popromiennej zainteresowani czytelnicy znajdą w „Postępach Techniki Jądrowej” [6]. Jestem jej współautorką i podtrzymuję wyrażone w tym tekście opinie.

O ile w toksykologii efekty hormetyczne nie budzą wątpliwości, to w radiobiologii i ochronie radiologicznej niewiele tematów budzi tyle kontrowersji, co hormezy. Wielu autorów uważa jednak, że bardzo niskie dawki promieniowania jonizującego powodują korzystne dla człowieka i zwierząt pobudzenie podziałów komórkowych oraz naprawy DNA a także przeciwdziałanie starzeniu i przedłużenie życia [20-23]. Poniżej przedstawione zostały komentarze dotyczące tych rodzajów odpowiedzi hormetycznej.

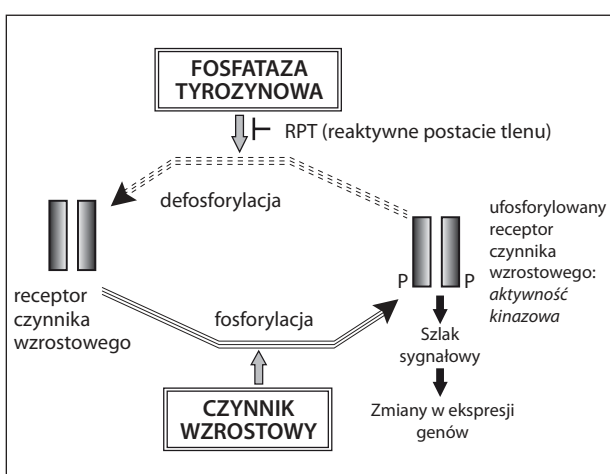
POBUDZENIE PODZIAŁÓW KOMÓRKOWYCH

Pobudzenie podziałów komórkowych pod wpływem bardzo niskich dawek promieniowania jonizującego jest często podawane jako przykład hormezy radiacyjnej. Istotnie, ma to miejsce i znamy mechanizm tego zjawiska.

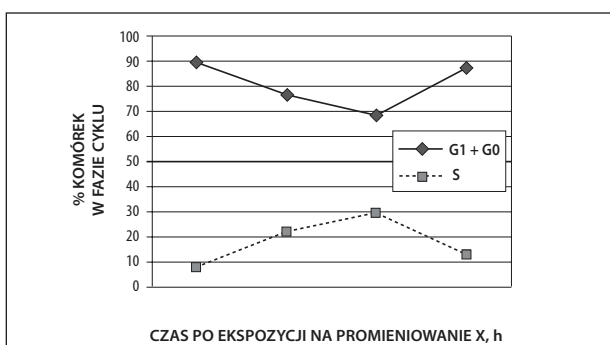
W populacji komórkowej istnieją zawsze 2 pule – komórek w fazie stacjonarnej G0 i komórek dzielących się, w pozostałych fazach cyklu (rys. 1). Bodźcem do wyjścia komórki z fazy G0 jest zadziałanie któregoś z czynników wzrostowych. Są to białka, których jest wiele rodzajów, swoistych dla różnych typów komórek. Regułą jest, że cząsteczka czynnika wzrostowego przyłącza się do receptora na powierzchni komórki. W uproszczeniu – powoduje to ufosforylowanie receptora i jego aktywację, co zapoczątkowuje sygnał odbierany w jądrze komórkowym. Wynikiem jest uruchomienie syntezy lub aktywacji „białek wykonawczych” i wejście komórki w fazę G1, a następnie w kolejne fazy cyklu komórkowego aż do fazy podziałowej, czyli mitozy. W rezultacie obserwujemy w populacji komórkowej więcej podziałów i przyrost liczby komórek.



Rys. 1. Schemat powiązań między subpopulacjami komórek w poszczególnych fazach cyklu komórkowego



Rys. 2. Przesunięcie się równowagi między postaciami ufosforylowaną (aktywną) i nieufosforylowaną (nieaktywną) receptora czynnika wzrostowego pod wpływem niskiej dawki promieniowania. W komórce podnosi się poziom RPT; następuje przesunięcie równowagi w kierunku postaci aktywnej, ponieważ utlenieniu ulegają reszty cysteinowe w miejscach aktywnych fosfataz tyrozynowych. Zaktywowany receptor jest źródłem sygnału, który uruchamia na przykład przechodzenie komórek z fazy G0 do fazy G1 cyklu komórkowego



Rys. 3. Przykład pobudzenia komórek do przechodzenia przez cykl komórkowy pod wpływem małej dawki promieniowania X. Komórki macierzyste izolowane ze szpiku szczurów Wistar napromieniono dawką 75 mGy przy mocy dawki 100 mGy/min. Dane z pracy Lianga i współprac. [26]

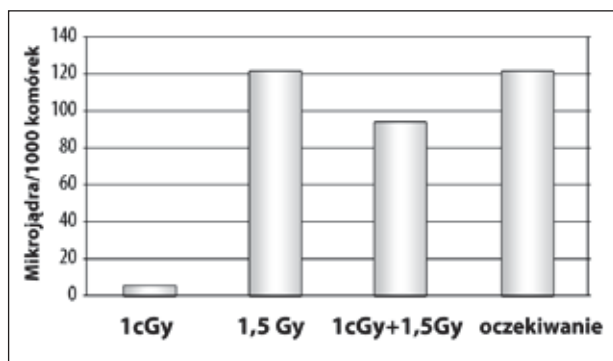
Receptory czynników wzrostowych podlegają też defosforylacji pod wpływem fosfataz, enzymów, których cechą charakterystyczną są bardzo wrażliwe na utlenienie reszty cysteinowe w miejscu katalitycznym [24, 25]. W komórce ustala się równowaga między postaciami ufosforylowaną (aktywną) i nieufosforylowaną (nieaktywną) receptora. Pod wpływem niskiej dawki promieniowania w komórce podnosi się poziom RPT; następuje przesunięcie równowagi w kierunku postaci aktywnej, ponieważ utlenieniu ulegają reszty cysteinowe w miejscu aktywnym fosfataz (rys. 2). W miarę upływu czasu po napromienieniu zmieniają się proporcje między subpopulacjami w poszczególnych fazach cyklu komórkowego. Przykład takiej zmiany [26] przedstawia rys. 3.

Jednocześnie na elektroforogramach białek wyodrębnionych z badanych komórek pojawiają się prążki ufosforylowanych kinaz białkowych, co świadczy o przekazywaniu sygnału od receptorów w błonie plazmatycznej przez kolejne kinazy białkowe. Sygnał dociera do jądra komórkowego i uruchamia transkrypcję różnych grup genów, między innymi – genów antyoksydacyjnych. Ich produkty białkowe skutecznie „sprzątają” nadmiar RPT i przywracają stan wyjściowy.

Takie pobudzenie podziałów komórkowych ma charakter krótkotrwały; w hodowli komórkowej zanika po 1-3 podziałach. **Nie ma podstaw sądzić, żeby tego rodzaju efekt przy ekspozycji długotrwałej był zawsze korzystny dla organizmu i przeważał nad skutkami negatywnymi. Należy dodać, że te szlaki sygnalizacyjne, które działają w odpowiedzi na czynniki wzrostowe, zwykle są pobudzone w komórkach nowotworowych i odpowiadają za ich niekontrolowany rozrost. Trudno zatem podzielić pogląd propagowany przez entuzjastów hormezy radiacyjnej, że namnażanie komórek układu immunologicznego jest zawsze korzystne dla organizmu.**

ODPOWIEŹ RADIOADAPTACYJNA

W radiobiologii jest to odpowiedź komórki poddanej działaniu słabego bodźca lub czynnika wywołującego stres (bardzo niska dawka promieniowania jonizującego lub ultrafioletowego, łagodna hipertermia, pole magnetyczne, czynniki utleniające, kwercetyna, wortmanina, estry forbolowe), a następnie potraktowanej dawką promieniowania jonizującego wywołującą uszkodzenie DNA, którego miarą na poziomie komórkowym jest częstość mutacji, mikrojąder, aberracji chromosomowych lub przeżywalność [9]. Wyniki typowego doświadczenia [27] przedstawia rys. 4. Często przyjmowany pogląd, że obniżony poziom uszkodzeń chromosomów wynika z pobudzenia proce-



Rys. 4. Przykład odpowiedzi adaptacyjnej w limfocytach ludzkich. Dane z pracy Wojewódzkiej i współpr. [27]

sów naprawy DNA ma słabe podstawy doświadczalne (por.[6]). Równie uprawniony jest pogląd, że odpowiedź radioadaptacyjna polega na zmniejszonym utrwaleniu uszkodzeń DNA [9].

W ostatnich latach ukazały się prace wskazujące na udział różnych szlaków sygnalizacyjnych w odpowiedzi radioadaptacyjnej, m.in. z udziałem tlenu azotu [28] i NF- κ B (*nuclear factor- κ B*, czynnik transkrypcyjny κ B) [29]. Według [30-32] najważniejszym przekaźnikiem jest czynnik nekrozy guza TNF α , który - wiążąc się do swojego receptora, uruchamia sygnalizację, powodującą aktywację transkrypcji genu SOD2. Koduje on mitochondrialną dysmutazę ponadtlenkową. Enzym ten stanowi ważny element obrony antyoksydacyjnej i jak się wydaje - chroni komórkę przed uszkodzeniami wywołanymi przez kolejną dawkę promieniowania. Co interesujące, nie tylko różnorodne bodźce wywołują odpowiedź radioadaptacyjną, ale cechuje ją znaczna zmienność wewnątrz- i międzypersonalna. Nasuwa to przypuszczenie, że mamy tu do czynienia z nieswoistą odpowiedzią na słabe bodźce wywołujące stres i jeden z elementów odpowiedzi powoduje zwiększoną oporność na promieniowanie jonizujące.

Odpowiedź radioadaptacyjna badana na układach modelowych wymaga ściśle zdefiniowanych warunków, innych dla każdego czynnika indukującego i typu komórek. Przykładem mogą tu być wyniki doświadczeń na fibroblastach ludzkich [7]. Stosowano w ich przypadku dawkę indukującą w zakresie od 1 do 500 mGy promieniowania *gamma* lub *beta* przy mocy dawki 1 – 3 mGy/min. Następnie komórki otrzymywały dawkę 4 Gy i oceniano częstość mikrojąder. Jej spadek w stosunku do jednorazowego efektu dawki 4 Gy + dawka indukująca był miarą odpowiedzi radioadaptacyjnej. Była ona identyczna w całym zakresie dawek i mocy dawek. Natomiast badając odpowiedź radioadaptacyjną limfocytów ludzkich stwierdzono, że im wyższa była dawka indukująca, tym niższa moc dawki była potrzebna do indukowania maksymalnej odpowiedzi (mierzonej

uszkodzeniami chromatyd) [8]. Na przykład przy dawce 0,5 Gy uzyskiwano odpowiedź przy mocy dawki 0,005 lub 0,01 Gy/min lecz nie przy 0,1, 0,2 lub 0,5 Gy/min. Z kolei indukcja pod wpływem 0,01Gy zachodziła przy mocy dawki 0,2 Gy/min lecz nie 0,005 Gy/min.

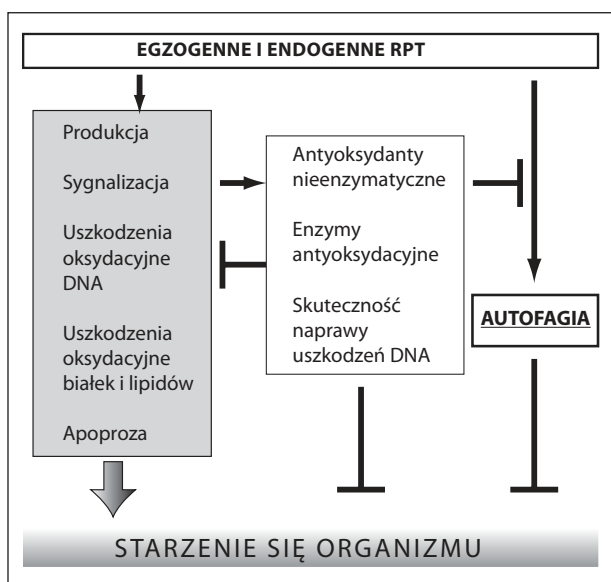
Trudno się więc spodziewać, żeby u każdego człowieka narażonego na promieniowanie jonizujące o niskiej mocy dawki zostały dotrzymane wymienione powyżej dość restrykcyjne warunki, niezbędne do wywołania odpowiedzi radioadaptacyjnej. **Istotnie, założenie, że ciągła ekspozycja na bardzo niskie dawki promieniowania wpływa na naprawę DNA u ludzi nie zostało potwierdzone po awarii elektrowni jądrowej w Czarnobylu.** Ukazało się wiele publikacji na temat promieniowrażliwości i zdolności do odpowiedzi adaptacyjnej limfocytów pobranych od ludzi z okolic skażonych w różnym stopniu radionuklidami. Między innymi, badano ją u ludzi z okolic Briańska, gdzie występował podwyższony poziom radionuklidów [33, 34]. Ekspozycja limfocytów *in vitro* na promieniowanie X lub *gamma* indukowała mikrojądra z jednakową częstością u tych osób i u ludzi z terenów „kontrolnych” (obwodu moskiewskiego). W limfocytach osób dorosłych i dzieci z terenów skażonych (Rosji, Białorusi i Ukrainy) częściej nie udawało się indukować odpowiedzi radioadaptacyjnej, bądź była ona słabsza, niż w grupie kontrolnej [33-35]. Odnotowano także przypadki promieniouczulenia przez dawkę adaptacyjną, których nie było w grupie kontrolnej [36]. Nie stwierdzono także różnic w naprawie DNA w limfocytach pobranych od dzieci z grupy narażonej i kontrolnej [33, 34, 37, 38]. Biorąc pod uwagę te doniesienia należy uznać, że pogląd o zwiększaniu promieniooporności u ludzi narażonych na chroniczne działanie niskich dawek promieniowania dzięki indukowaniu odpowiedzi radioadaptacyjnej jest nieuzasadniony. Z wymienionymi wynikami negatywnymi kontrastują jednak pozytywne – uzyskane dla limfocytów ludzi żyjących na terenach o podwyższonym promieniowaniu tła (Ramsar, Indie) [39, 40]. Trzeba jednak dodać, że w ich limfocytach oznaczone metodą kometową uszkodzenia DNA były wyższe niż u ludzi z terenów o niższym promieniowaniu tła [41].

HORMEZA RADIACYJNA A PROCESY STARZENIA

Niedawno ukazał się doskonały artykuł przeglądowy Krzysztofa Książka podsumowujący stan wiedzy o stresie oksydacyjnym jako przyczynie starzenia się organizmów na różnych szczeblach rozwoju ewolucyjnego [42]. Przytoczono w nim wiele danych doświadczalnych, pokazujących wielokierunkowe działanie RPT.

RPT w organizmach żywych nie tylko mogą powstawać pod wpływem promieniowania jonizującego generowanego w środowisku ze źródeł naturalnych, ale także tworzą się w normalnych procesach komórkowych. W komórkach ssaków RPT powstają w 3 miejscach: w mitochondriach, w cytoplazmie (w wyniku działania oksydaz NADPH) oraz w retikulum endoplazmatycznym (RE; w tzw. odpowiedzi na białka błędnie sfałdowane). Mitochondria są wrażliwe na RPT i reagują na ich nadmiar zwiększoną produkcją RPT wskutek dysfunkcji łańcucha oddechowego. Oksydazy NADPH są przez RPT aktywowane. W skrajnej sytuacji, wskutek takiego sprzężenia zwrotnego dodatniego może dojść do uszkodzeń składników komórki, jeżeli obrona antyoksydacyjna jest zbyt słaba. W starzejącym się organizmie dochodzi do wzrostu uszkodzeń DNA; także mitochondria ulegają uszkodzeniom, co powoduje dalszy wzrost RPT i wywoływanych przez nie uszkodzeń oraz eliminację uszkodzonych komórek w procesie apoptozy.

Komórki dysponują mechanizmami obronnymi. Rys. 5 pokazuje schematycznie zmiany w komórce następujące pod wpływem endo- i egzogennych RPT. Od ich zrównoważenia zależy los komórki. Antyoksydanty nieenzymatyczne oraz enzymy antyoksydacyjne, których poziom w miarę potrzeby jest szybko uzupełniany przez aktywację transkrypcji odpowiednich genów, radzą sobie z nadmiarem RPT w warunkach umiarkowanego stresu oksydacyjnego i powstrzymują zmiany prowadzące między innymi do starzenia ko-



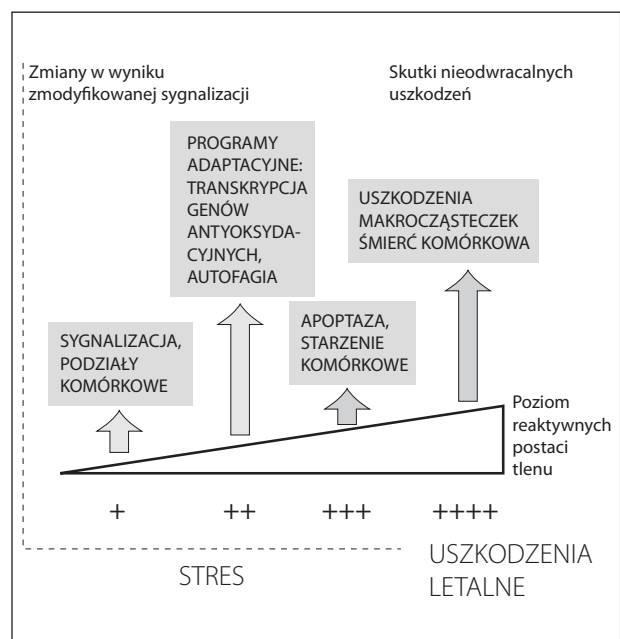
Rys. 5. Dodatni i ujemny wpływ RPT na starzenie komórki. Uszkodzenia wywołane przez RPT są przyczyną starzenia, natomiast indukowana przez RPT autofagia przeciwdziała starzeniu, usuwając uszkodzone mitochondria

mórkowego i starzenia się organizmu.

W ten obraz został niedawno wpisany jeszcze jeden proces - autofagia. Jest to proces adaptacji do różnych warunków stresowych, takich jak brak składników pokarmowych, uszkodzenia oksydacyjne, stres RE spowodowany błędnym sfałdowaniem białek, konieczność usunięcia uszkodzonych organelli komórkowych. Autofagia polega na otoczeniu makrocząstek, pęcherzyków endosomowych lub organelli błoną z wytworzeniem pęcherzyka (autofagosomu), który następnie ulega fuzji z lizosomem, tworząc autolizosom. Tam następuje degradacja zawartości do składników niskocząsteczkowych, które mogą być przez komórkę wykorzystane do syntezy potrzebnych makrocząstek. Jest to proces bardzo złożony; w drożdżach zidentyfikowano 31 genów ATG (skrót z ang. *AuTophagy related genes*). U człowieka scharakteryzowano dotychczas białka kodowane przez 16 genów, bardzo podobnych do genów drożdży.

Okazało się, że autofagia może być indukowana przez RPT a hamowana przez antyoksydanty [43-45]. Od 2001 r. wiadomo już, że także promieniowanie jonizujące indukuje autofagię [46-48], a ponadto czynniki chemiczne wywołujące autofagię działają promienioochronnie [49]. W 2011 r. po raz pierwszy wskazano na autofagię jako na mechanizm popromiennych efektów hormetycznych [50].

Brak niektórych genów autofagii powoduje, że ograniczenie kaloryczne, przedłużające życie na niemal wszystkich szczeblach rozwoju ewolucyjnego nie jest

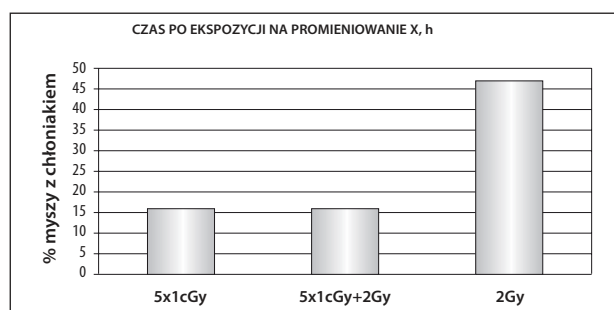


Rys. 6. Skutki powodowane w komórce przez wzrastający stres oksydacyjny (rysunek zaadaptowany z [53])

skuteczne. Kluczową rolą autofagii w procesie starzenia wydaje się być usuwanie uszkodzonych (dysfunkcyjnych) mitochondriów, które są źródłem RPT [51, 52]. Jest to spójne z najbardziej popularną teorią starzenia (por. m.in. [51-53]), w której rolę głównego sprawcy przypisuje się mitochondriom z dysfunkcją łańcucha oddechowego, będącym źródłem RPT. Zatem w prawidłowo funkcjonującej komórce nadmiar RPT pobudza autofagię, dzięki czemu mitochondria z defektem zostają usunięte. Trudno jest jednak zdefiniować owo prawidłowe funkcjonowanie i określić, jaki poziom RPT jest bezpieczny. Prosty schemat [53] (rys. 6), ilustrujący skutki powodowane przez wzrastający stres oksydacyjny ma tę wadę, że liczby plusów nie dają się przy obecnym stanie wiedzy przełożyć na ilości i lokalizację wewnątrzkomórkowe poszczególnych rodzajów RPT. Dodatkową komplikacją jest zdolność RPT do indukowania śmierci komórkowej przez apoptozę, zaś szlaki sygnalizacyjne apoptozy i autofagii krzyżują się [45]. Wskutek tego równowaga między tymi procesami jest obwarowana bardzo licznymi, nie do końca jeszcze zdefiniowanymi warunkami. W dodatku – wbrew obiegowym opiniom – **nadmiar antyoksydantów w pożywieniu nie zawsze musi być korzystny dla opóźniania procesów starzenia, skoro hamowanie przez nie autofagii sprzyja pozostawianiu w komórce dysfunkcyjnych mitochondriów.**

HORMEZA RADIACYJNA A CHOROBY NOWOTWOROWE

Wielu autorów zajmujących się hormezą radiacyjną wyraża przekonanie, że niskie dawki promieniowania chronią przed chorobami nowotworowymi. Podstawą do takiej opinii są doświadczenia na modelach zwierzęcych, w których niskie dawki promieniowania poprzedzające wyższą dawkę, indukującą nowotwór, obniżają zachorowalność lub spowalniają rozwój choroby no-

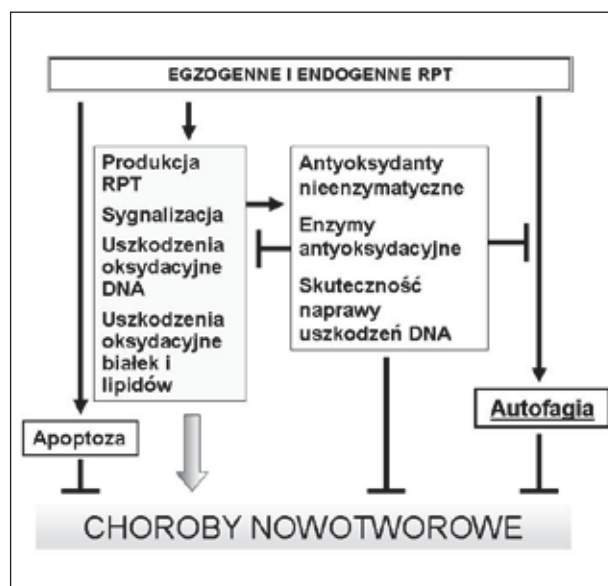


Rys. 7. Przykład doświadczenia na modelu zwierzęcym, pokazujący wpływ bardzo małych dawek na odpowiedź na kolejną (wyższą) dawkę indukującą chłoniak grasicy u myszy Swiss. Dane z pracy [54]

wotworowej. Przykładem może być doświadczenie wykonane na myszach szczepu Swiss, u których promieniowanie *gamma* indukuje w blisko połowie badanych zwierząt chłoniak grasicy. Pięciokrotne napromienienie dawką 1 cGy poprzedzające dawkę indukującą nowotwór – 2 Gy – powodowało, że częstość zachorowań, oceniana 240-340 dni później, spadała dramatycznie, co ilustruje rys. 7 [54].

Ten i podobne wyniki doświadczalne interpretowano dotychczas jako świadczące o odpowiedzi adaptacyjnej. Bardziej prawdopodobna wydaje się jednak inna interpretacja: podobnie jak w przypadku starzenia komórkowego, usuwanie nadmiaru RPT w wyniku autofagii dysfunkcyjnych mitochondriów może skutecznie przeciwdziałać procesom nowotworzenia. Trzeba jednak podkreślić, że w tych doświadczeniach badano zwierzęta o dość szczególnych cechach genetycznych, powodujących, że promieniowanie wywoływało nowotwór w wysokim procencie.

Wbrew oczekiwaniom, obfitość antyoksydantów w diecie wcale nie zapobiega zapadaniu na nowotwory. Badania przeprowadzone pod tym kątem na bardzo licznych grupach ludzi (np >250 000; [55]) i różnych typach nowotworów wykazały, że antyoksydanty takie jak *beta*-karoten, retinol, tokoferol, związki selenu, kwas askorbinowy nie tylko nie obniżyły częstości zachorowań, ale w niektórych przypadkach nawet ją podwyższyły [56-58]. Można się spodziewać, że podobnie, jak w procesach starzenia, także i w tym przypadku niekorzystny dla organizmu jest zarówno nadmiar, jak i niedomiar antyoksydantów (rys. 8).



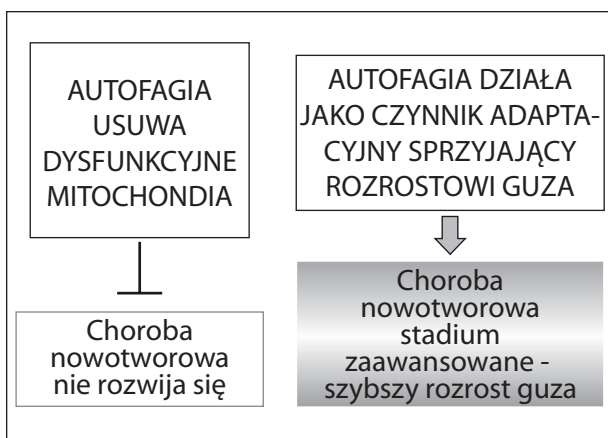
Rys. 8. Dodatni i ujemny wpływ RPT na rozwój choroby nowotworowej. Uszkodzenia wywoływane przez RPT są przyczyną nowotworów, natomiast indukowane przez RPT procesy apoptozy i autofagii przeciwdziałają zachorowaniu

Analiza roli autofagii [59] doprowadziła do wniosku, że o ile jest ona korzystna dla organizmu, przeciwdziałając powstaniu komórek nowotworowych, to – jeżeli guz już powstanie, autofagia działa jako mechanizm adaptacyjny sprzyjający jego rozrostowi (rys. 9). W tym kontekście wydaje się znamienne, że na obszarach o podwyższonym tle promieniowania oceniano zapadalność na choroby nowotworowe (i uzyskiwano wyniki wskazujące na jej obniżenie, jakkolwiek znamienność statystyczna tych wyników jest dyskusyjna – m. in. ze względu na trudność dobrania odpowiedniej grupy kontrolnej). Nie oceniano natomiast przebiegu chorób; w świetle badań nad autofagią można by się spodziewać ich cięższego przebiegu. Ze względów etycznych tego rodzaju oceny nie da się jednak przeprowadzić na populacji ludzkiej.

Trudność z dobraniem grupy kontrolnej omija praca wykonana w Iranie w prowincji Babol [60]. Zachorowalność na nowotwory w okresie pięcioletnim próbowano na tym obszarze skorelować z lokalnymi zróżnicowanymi poziomami promieniowania. Najniższa zapadalność na choroby nowotworowe była w średnim zakresie, tj. 65-80 nSv/h, współczynnik korelacji nie był jednak znamienny statystycznie (-0.43 ($p < 0.01$)).

Można zatem uznać, że brak jest rozstrzygających dowodów na efekt hormetyczny niskich dawek promieniowania w przypadku chorób nowotworowych. Przeciwnie, w niedawno opublikowanej analizie zależności dawka-efekt w przypadku zachorowań na nowotwory, Little [4] stwierdził liniową zależność od dawki nawet w zakresie bardzo małych dawek.

UWAGI KOŃCOWE



Rys. 9. Autofagia jest ona korzystna dla organizmu, przeciwdziałając powstaniu komórek nowotworowych (Rys. 8), ale jeżeli guz już powstanie, to autofagia działa jako mechanizm adaptacyjny sprzyjający jego rozrostowi, utrudnia także skuteczną chemo- i radioterapię, hamując apoptozę.

Postęp w dziedzinie biologii komórkowej, szczególnie zaś odkrycie i scharakteryzowanie autofagii jako procesu związanego z adaptacją do warunków środowiskowych, starzeniem komórkowym, przedłużeniem życia i zapadalnością na choroby nowotworowe pozwala zrozumieć niektóre mechanizmy komórkowe hormezy radiacyjnej obserwowanej w modelowych układach doświadczalnych. Nie oznacza to jeszcze możliwości przełożenia tej wiedzy na działania praktyczne, natomiast wskazuje na konieczność dalszych, daleko szerzej zakrojonych badań i pozwala na sformułowanie następujących wniosków:

- (1) Prognozowanie odpowiedzi organizmu ludzkiego na promieniowanie jonizujące na podstawie wyników badań hormezy radiacyjnej w układach modelowych jest - przy obecnym stanie wiedzy - obarczone dużym poziomem niepewności;
- (2) Dodatkowe czynniki utrudniające, to uwarunkowana genetycznie zmienność osobnicza, znaczna różnorodność odpowiedzi poszczególnych tkanek, wpływ na odpowiedź trudnych do oceny ilościowej czynników, takich jak sposób odżywiania, nałogi, obecność czynników toksycznych w środowisku;
- (3) Na obecnym etapie badań nieuzasadnione byłoby przenoszenie wniosków z badań modelowych na przepisy w ochronie radiologicznej.

*prof. dr hab. Irena Szumiel,
Centrum Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej,
Instytut Chemii i Techniki Jądrowej,
Warszawa*

Prof. Irena Szumiel należy do grona najwybitniejszych europejskich radiobiologów. W latach 1990-2007 była kierowniczką Zakładu Radiobiologii i Ochrony Zdrowia ICHTJ. Jest laureatką wielu nagród i wyróżnień polskich i międzynarodowych.

Nagrody i wyróżnienia obejmują: dwukrotnie nagrodę Rady ds. Atomistyki za badania w dziedzinie radiobiologii (lata 1973, 1979), sześciokrotnie nagrodę w dziedzinie radiobiologii komórkowej (lata 1976, 1982, 1986, 2001, 2004, 2007), trzy nagrody im. B. Skarżyńskiego za najlepszy artykuł przeglądowy w Postępkach Biochemii (lata 1963, 1966, 1970), medal Marii Skłodowskiej-Curie Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych (1998), medal Hansa Langendorffa przyznany przez Niemieckie Towarzystwo Medyczne Ochrony Radiologicznej (2001), medal Bacq'a i Alexandra przyznany przez Europejskie Towarzystwo Badań Radiacyjnych (2007), Krzyż Kawalerski Orderu Odrodzenia Polski - za wybitne zasługi w pracy naukowej i badawczej na rzecz gospodarki narodowej (2005), dyplom za tworzenie piękna przyznany przez kapitułę ruchu „Piękniejsza Polska„ (2006).

Literatura

1. K.A. Thayer, R. Melnick, K. Burns, D. Davis, J. Huff. *Fundamental flaws of hormesis for public health decisions*, Environ Health Perspect. 113 (2005) 1271-1276.
2. N. Hamada, H. Matsumoto, T. Hara, Y. Kobayashi. *Intercellular and intracellular signaling pathways mediating ionizing radiation-induced bystander effects*, J Radiat. Res (Tokyo). 48 (2007) 87-95.
3. T.K. Hei, H. Zhou, V.N. Ivanov, M. Hong, H.B. Lieberman, D. J. Brenner, S.A. Amundson, C. R. Geard. *Mechanism of radiation-induced bystander effects: a unifying model*, J Pharm. Pharmacol. 60 (2008) 943-950.
4. M.P. Little. *Do non-targeted effects increase or decrease low dose risk in relation to the linear-non-threshold (LNT) model?*, Mutat. Res. 687 (2010) 17-27.
5. C. Mothersill, C. Seymour. *Radiation-induced bystander effects and adaptive responses--the Yin and Yang of low dose radiobiology?*, Mutat. Res. 568 (2004) 121-128.
6. A. Wojcik, I. Szumiel, J. Liniecki. *Hormeza czy to zjawisko powszechne i powszechnie nieznane?*, „Postępy Techniki Jądrowej”, (2006) 34-39.
7. E.J. Broome, D.L. Brown, R.E. Mitchel. *Dose responses for adaption to low doses of (60)Co gamma rays and (3)H beta particles in normal human fibroblasts*, Radiat. Res. 158 (2002) s. 181-186.
8. J. D. Shadley, J. K. Wiencke. *Induction of the adaptive response by X-rays is dependent on radiation intensity*, Int. J Radiat. Biol. 56 (1989) 107-118.
9. I. Szumiel. *Adaptive response: stimulated DNA repair or decreased damage fixation?*, Int. J Radiat. Biol. 81 (2005) 233-241.
10. U. Aypar, W. F. Morgan, J. E. Baulch. *Radiation-induced genomic instability: are epigenetic mechanisms the missing link?*, Int. J Radiat. Biol. 87 (2011) 179-191.
11. O. Kovalchuk, J. E. Baulch. *Epigenetic changes and nontargeted radiation effects--is there a link?*, Environ Mol. Mutagen. 49 (2008) 16-25.
12. J. B. Little. Lauriston S. *Taylor lecture: nontargeted effects of radiation: implications for low-dose exposures*, Health Phys. 91 (2006) 416-426.
13. W. F. Morgan. *Is there a common mechanism underlying genomic instability, bystander effects and other nontargeted effects of exposure to ionizing radiation?*, Oncogene. 22 (2003) 7094-7099.
14. W.F.Morgan, M.B.Sowa. *Non-targeted effects of ionizing radiation: implications for risk assessment and the radiation dose response profile*, Health Phys. 97 (2009) 426-432.
15. D. Averbek. *Non-targeted effects as a paradigm breaking evidence*, Mutat. Res. 687 (2010) 7-12.
16. D.T. Goodhead. *New radiobiological, radiation risk and radiation protection paradigms*, Mutat. Res. 687 (2010) 13-16.
17. D.T.Goodhead. *Panel discussion: Do non-targeted effects impact the relation between microdosimetry and risk?*, Radiat. Prot. Dosimetry. 143 (2011) 554-556.
18. R.Wakeford, E.J.Tawn. *The meaning of low dose and low dose-rate*, J Radiol. Prot. 30 (2010) 1-3.
19. J.H.Hendry, S.L.Simon, A.Wojcik, M.Sohrabi, W.Burkart, E.Cardis, D.Laurier, M.Tirmarche, I.Hayata. *Human exposure to high natural background radiation: what can it teach us about radiation risks?*, J Radiol. Prot. 29 (2009) A29-A42.
20. Z.Jaworowski. *Radiation hormesis - a remedy for fear*, Hum. Exp. Toxicol. 29 (2010) 263-270.
21. L.E.Feinendegen. *Reactive oxygen species in cell responses to toxic agents*, Hum. Exp. Toxicol. 21 (2002) 85-90.
22. S.Z. Liu. *Biological effects of low level exposures to ionizing radiation: theory and practice*, Hum. Exp. Toxicol. 29 (2010) 275-281.
23. A. M. Vaiserman. *Radiation hormesis: historical perspective and implications for low-dose cancer risk assessment*, Dose Response. 8 (2010) 172-191.
24. Madeo, N. Tavernarakis, G. Kroemer. *Can autophagy promote longevity?*, Nat. Cell Biol. 12 (2010) 842-846.
25. R.L.van Montfort, M. Congreve, D.Tisi, R.Carr, H.Jhoti. *Oxidation state of the active-site cysteine in protein tyrosine phosphatase 1B*, Nature. 423 (2003) 773-777.
26. X.Liang, Y.H.So, J.Cui, K.Ma, X.Xu, Y.Zhao, L.Cai, W.Li. *The low-dose ionizing radiation stimulates cell proliferation via activation of the MAPK/ERK pathway in rat cultured mesenchymal stem cells*, J. Radiat. Res (Tokyo). 52 (2011) 380-386.
27. M.Wojewódzka, M.Kruszewski, I.Szumiel. *Effect of signal transduction inhibition in adapted lymphocytes: micronuclei frequency and DNA repair*, Int. J Radiat. Biol. 71 (1997) 245-252.
28. H.Matsumoto, A.Takahashi, T.Ohnishi. *Nitric oxide radicals choreograph a radioadaptive response*, Cancer Res. 67 (2007) 8574-8579.
29. K.M.Ahmed, D.Nantajit, M.Fan, J.S.Murley, D.J.Grdina, J.J.Li. *Coactivation of ATM/ERK/NF-kappaB in the low-dose radiation-induced radioadaptive response in human skin keratinocytes*, Free Radic. Biol. Med. 46 (2009) 1543-1550.
30. M.Fan, K.M.Ahmed, M.C.Coleman, D.R.Spitz, J.J.Li. *Nuclear factor-kappaB and manganese superoxide dismutase mediate adaptive radioresistance in low-dose irradiated mouse skin epithelial cells*, Cancer Res. 67 (2007) 3220-3228.
31. J.S.Murley, K.L.Baker, R.C.Miller, T.E.Darga, R.R.Weichselbaum, D.J.Grdina. *SOD2-mediated adaptive responses induced by low-dose ionizing radiation via TNF signaling and amifostine*, Free Radic. Biol Med. 51 (2011) 1918-1925.
32. J.S.Murley, Y.Kataoka, R.C.Miller, J.J.Li, G.Woloschak, D.J.Grdina. *SOD2-mediated effects induced by WR1065 and low-dose ionizing radiation on micronucleus formation in RKO human colon carcinoma cells*, Radiat. Res. 175 (2011) 57-65.
33. I.I.Pelevina, V.I.Gotlib, O.V.Kudriashova, A.M.Serebrianyi, G.G.Afanasev. *[Genomic instability after exposure to radiation at low doses (in the 10-kilometer zone of the accident at the Chernobyl Atomic Electric Power Station and under laboratory conditions)]*, Radiat. Biol Radioecol. 36 (1996) 546-560.

34. I.I.Pelevina, V.A.Nikolaev, V.I.Gotlib, G.G.Afanas'ev, L.E.Kozlova, A.M.Serebrianyi, D.G.Tereshchenko, V.A.Tronov, E.A.Khramtsova. [The adaptive reaction of the blood lymphocytes in persons subjected to chronic radiation exposure at low doses], *Radiats. Biol Radioecol.* 34 (1994) 805-817.
35. N.I.Riabchenko, M.M.Antoshchina, V.A.Nasonova, E.V.Fesenko. [The cytogenetic analysis of the adaptive response in the lymphocytes of donors living in areas with different levels of radioactive contamination.], *Radiats. Biol Radioecol.* 35 (1995) 670-675.
36. G.P.Makedonov, L.V.Tskhovrebova, S.V.Unzhakov, A.N. Semiachkina, I.M. Vasil'eva, G.D. Zasukhina. [Radioadaptive response in lymphocytes of children living in territories polluted by radionuclides as a result of the accident at the Chernobyl power plant], *Radiats. Biol. Radioecol.* 37 (1997) 640-644.
37. S.V. Unzhakov, I.M. Vasil'eva, I.A. Meliksetova, A.N. Semiachkina, L.S. Baleva, L.Z. Kazantseva, G.D. Zasukhina. [The formation of an adaptive response in children exposed to the effect of low doses of radiation as a result of the accident at the Chernobyl Atomic Electric Power Station], *Radiats. Biol. Radioecol.* 34 (1994) 827-831.
38. S.V.Unzhakov, G.N.L'vova, V.V.Chekova, A.N.Semiachkina, L.S.Baleva, G.D.Zasukhina, L.Z.Kazantseva. [Dna repair activity in children exposed to small doses of ionizing radiation as a result of the accident at the Chernobyl nuclear power station], *Genetika.* 31 (1995) 1433-1437.
39. M. Ghiassi-Nejad, S.M. Mortazavi SM, J.R. Cameron, A. Niroomand-rad, P.A. Karam. *Very high background radiation areas of Ramsar, Iran: preliminary biological studies*, *Health Phys.* 82 (2002) 87-93.
40. S. Mohammadi, M. Taghavi-Dehaghani, M.R. Gharaati, R. Masoomi, M. Ghiassi-Nejad. *Adaptive response of blood lymphocytes of inhabitants residing in high background radiation areas of Ramsar- micronuclei, apoptosis and comet assays*, *J Radiat Res (Tokyo)* 47 (2006) 279-285.
41. J.R.Masoomi, S.Mohammadi, M.Amini, M.Ghiassi-Nejad. *High background radiation areas of Ramsar in Iran: evaluation of DNA damage by alkaline single cell gel electrophoresis (SCGE)*, *J Environ Radioact.* 86 (2006) 176-186.
42. K. Książek. *Stres oksydacyjny jako uniwersalna przyczyna starzenia się: od somatycznych komórek człowieka do jednokomórkowych drożdży i prokariotycznych komórek bakteryjnych*, „*Postępy Biochem.*” 56 (2010) 260-268.
43. G.Kroemer, G.Marino, B.Levine. *Autophagy and the integrated stress response*, *Mol. Cell.* 40 (2010) 280-293.
44. R.Scherz-Shouval, Z.Elazar. *Regulation of autophagy by ROS: physiology and pathology*, *Trends Biochem. Sci.* 36 (2011) 30-38.
45. I.Szumiel. *Autophagy, reactive oxygen species and the fate of mammalian cells*, *Free Radic. Res.* 45 (2011) 253-265.
46. S.Paglin, T.Hollister, T.Delohery, N.Hackett, M.McMahill, E.Sphicas, D.Domingo, J.Yahalom. *A novel response of cancer cells to radiation involves autophagy and formation of acidic vesicles*, *Cancer Res.* 61 (2001) 439-444.
47. S.Paglin, N.Y.Lee, C.Nakar, M.Fitzgerald, J.Plotkin, B.Deuel, N.Hackett, M.McMahill, E.Sphicas, N.Lampen, J.Yahalom. *Rapamycin sensitive pathway regulates mitochondrial membrane potential, autophagy, and survival in irradiated MCF-7 cells*, *Cancer Res.* 65 (2005) 11061-11070.
48. S.Paglin, J.Yahalom. *Pathways that regulate autophagy and their role in mediating tumor response to treatment*, *Autophagy.* 2 (2006) 291-293.
49. H.Kim, M.E.Bernard, J.Flickinger, M.W.Epperly, H.Wang, T.M.Dixon, D.Shields, F.Houghton, X.Zhang, J.S.Greenberger. *The autophagy-inducing drug carbamazepine is a radiation protector and mitigator*, *Int. J Radiat. Biol.* 87 (2011) 1052-1060.
50. I.Martins, L.Galluzzi, G.Kroemer. *Hormesis, cell death and aging*, *Aging (Albany, NY).* 3 (2011) 821-828.
51. R.S.Balaban, S.Nemoto, T.Finkel. *Mitochondria, oxidants, and aging*, *Cell.* 120 (2005) 483-495.
52. R.A.Gottlieb, R.S.Carreira. *Autophagy in health and disease. 5. Mitophagy as a way of life*, *Am. J Physiol Cell Physiol.* 299 (2010) C203-C210.
53. R.B.Hamanaka, N.S.Chandel. *Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes*, *Trends Biochem. Sci.* 35 (2010) 505-513.
54. D.Bhattacharjee. *Role of radioadaptation on radiation-induced thymic lymphoma in mice*, *Mutat. Res.* 358 (1996) 231-235.
55. G.D.Lundberg. *Antioxidant supplements found not to improve human survival*, *Medscape. J Med.* 10 (2008) 222.
56. G.Bjelakovic, D.Nikolova, L.L.Gluud, R.G.Simonetti, C.Gluud. *Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases*, *Cochrane Database Syst. Rev.* (2008) CD007176.
57. G.Bjelakovic, D.Nikolova, R.G.Simonetti, C.Gluud. *Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers*, *Cochrane Database Syst. Rev.* (2008) CD004183.
58. N.Druesne-Pecollo, P.Latino-Martel, T.Norat, E.Barrandon, S.Bertrais, P.Galan, S.Hercberg. *Beta-carotene supplementation and cancer risk: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials*, *Int. J Cancer.* 127 (2010) 172-184.
59. M.Dewaele, H.Maes, P.Agostinis. *ROS-mediated mechanisms of autophagy stimulation and their relevance in cancer therapy*, *Autophagy.* 6 (2010) 838-854.
60. A.S.Monfared, K.Hajian, R.Hosseini, A.Nasir. *Association between Local External Gamma Rays and Frequency of Cancer in Babol-Iran*, *Dose Response.* 8 (2010) 368-377.

„Postępy Biochemii” numer specjalny pod redakcją Grzegorza Bartosza. Temat numeru - reaktywne pochodne tlenu, stres oksydacyjny, antyoksydacyjny - część I, 56, Nr 2/2010; część II, 56, Nr 3/2010