

MARTA DEPERAS-KAMIŃSKA^{2,3}, IRENA SZUMIEL¹, ANDRZEJ WÓJCIK^{1,3}

¹*Zakład Radiobiologii i Ochrony Zdrowia, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej,
Dorodna 16, 03-195 Warszawa*

²*Zjednoczony Instytut Badań Jądrowych
Joliot-Curie 6, 141980 Dubna, Okręg Moskiewski, Rosja*

³*Zakład Radiobiologii i Immunologii, Akademia Świętokrzyska
Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce*

e-mail: marta-deperas@wp.pl

izasz@ichtj.waw.pl

awojcik@gmx.net

ELEMENTY RADIOBIOLOGII DLA PILOTA PIRXA

WSTĘP

Pilot Pirx, ogólnie znany nawigator statków kosmicznych, niezmiennie lubiany za skromność, prawość i intuicję, z jaką rozwiązywał najtrudniejsze problemy, nigdy się nie chwalił znajomością radiobiologii. Jeśli spodziewał się napotkać coś w przestrzeni kosmicznej, to były to raczej krążące w niej śmiecie, wyrzucane przez niechłujne załogi statków międzyplanetarnych. Nawet doświadczonym czytelnikom „Opowieści o pilocie Pirxie” określenia kojarzące się najczęściej z przestrzenią kosmiczną to pustka,

próżnia. Tymczasem ta przestrzeń jest pusta tylko dla nieuzbrojonego ludzkiego oka. W rzeczywistości jest ona wypełniona różnego rodzaju promieniowaniem korpuskularnym i elektromagnetycznym (NCRP 1989, BADHWAR 1997). Przestrzeń tę przemierzają pędzące z ogromną prędkością cząstki elementarne zwane promieniowaniem kosmicznym. W skład materii kosmicznej wchodzi wszystkie jądra atomowe pierwiastków układu okresowego, jednak w zależności od obszaru Galaktyki ich gęstość jest różna.

HISTORIA ODKRYCIA PROMIENIOWANIA KOSMICZNEGO

Odkrycie promieni kosmicznych, podobnie jak większość wielkich odkryć w nauce, było dziełem przypadku. Na początku XX w. uwagę fizyków przykuwało zjawisko samoistnego rozładowywania elektroskopów naładowanych elektrycznie (takim elektroskopem posługiwała się jeszcze Maria Skłodowska-Curie, ale już nie pilot Pirx – ten korzystał z tykających liczników Geigera-Müllera). Pierwotnie zakładano, że źródłem jonizacji odpowiedzialnej za rozładowanie elektroskopu jest promieniowanie pochodzące z rozpadów naturalnych pierwiastków promieniotwórczych w skorupie ziemskiej. W 1912 r. Victor Hess wykonał szereg eksperymentalnych lotów balonem w celu weryfikacji tej hipotezy. Oczekiwał on, że wraz z wysokością przewodnictwo powietrza będzie maleć. Tymczasem wynik okazał się zaskakujący: w miarę wznoszenia się do coraz wyższych warstw atmosfery rosła szybkość, z jaką rozładowywał się elektroskop. Wszystko jedno czy loty odbywały się w dzień czy w nocy. Wniosek był jeden – powietrze atmosferyczne ulega jonizacji przez „coś”, co dociera z Kosmosu – stąd nazwa promieniowanie kosmiczne.

Odkrycie promieni kosmicznych, podobnie jak większość wielkich odkryć w nauce, było dziełem przypadku. Na początku XX w. uwagę fizyków przykuwało zjawisko samoistnego rozładowywania elektroskopów naładowanych elektrycznie (takim elektroskopem posługiwała się jeszcze Maria Skłodowska-Curie, ale już nie pilot Pirx – ten korzystał z tykających liczników Geigera-Müllera). Pierwotnie zakładano, że źródłem jonizacji odpowiedzialnej za rozładowanie elektroskopu jest promieniowanie pochodzące z rozpadów naturalnych pierwiastków promieniotwórczych w skorupie ziemskiej. W 1912 r. Victor Hess wykonał szereg eksperymentalnych lotów balonem w celu weryfikacji tej hipotezy. Oczekiwał on, że wraz z wysokością przewodnictwo powietrza będzie maleć. Tymczasem wynik okazał się zaskakujący: w miarę wznoszenia się do coraz wyższych warstw atmosfery rosła szybkość, z jaką rozładowywał się elektroskop. Wszystko jedno czy loty odbywały się w dzień czy w nocy. Wniosek był jeden – powietrze atmosferyczne ulega jonizacji przez „coś”, co dociera z Kosmosu – stąd nazwa promieniowanie kosmiczne.

SKŁAD PROMIENIOWANIA KOSMICZNEGO

Dzisiaj składową korpuskularną promieniowania bombardującego zewnętrzną warstwę ziemskiej atmosfery nadal określa się mianem „promieniowanie kosmiczne”. Przed lawiną naładowanych cząstek promieniowania pochodzącego ze Słońca i Galaktyki chroni nas na powierzchni naszej planety gruba warstwa atmosfery. Natomiast poza tą strefą ochronną natężenie promieniowania gwałtownie wzrasta. Do górnych warstw atmosfery dociera tzw. promieniowanie pierwotne o bardzo zróżnicowanym składzie: 87% stanowią protony, 11% cząstki alfa, pozostałe 2% to elektrony oraz jądra pierwiastków cięższych od Be do Fe (NCRP 1989).

Spoza Układu Słonecznego docierają jony stanowiące tzw. składową galaktyczną promieniowania kosmicznego (GPK). Zawiera ona wszystkie jądra, od protonów po jądra uranu, w zakresie energii od kilku MeV/nukleon do prawie 10^{15} MeV/nukleon; jednakże wodór, hel, węgiel, tlen, krzem i żelazo stanowią większość pochłoniętej dawki. Przepływ cząstek GPK jest kształtowany w wyniku zmian aktywności słonecznej; jest mniejszy podczas maksimum aktywności słonecznej i większy w trakcie jego minimum (BADHWAR 1997).

Cząstki GPK powstają w wyniku eksplozji supernowych (TOWNSEND 2005). Jądra powstałe w wyniku wybuchów supernowych i przyśpieszane w ciągu milionów lat przemierzają naszą Galaktykę z prędkością zbliżoną do prędkości światła, uwięzione w jej polu magnetycznym. Warto dodać, że oprócz wybuchów supernowych źródłami GPK są rozbłyski gwiazdowe, gwiazdowe koronalne wyrzuty materii, wybuchy gwiazd nowych, pulsary i akreujące czarne dziury.

Obserwacje przeprowadzone za pomocą satelity ROSAT wskazują, że pozostałości supernowych rzeczywiście są obszarami intensywnego przyspieszania cząstek. Jednocześnie są one silnymi źródłami promieniowania rentgenowskiego, emitowanego jako promieniowanie synchrotronowe w wyniku hamowania przyspieszonych elektronów. Na skutek zderzeń z materią wypełniającą międzygwiazdową przestrzeń rozpędzone cząstki dodatkowo emitują promieniowanie gamma, które przenika Drogę Mleczną oraz inne galaktyki (BADHWAR 1997).

Na tzw. niskiej orbicie ziemskiej (ang. low earth orbit, LEO) energetyczne cząstki emitowane przez Słońce stanowią drugie źródło promieniowania. W przestrzeni międzyplanetarnej naszego układu znajduje się tzw. wiatr słoneczny składający się głównie z emitowanych przez nie protonów. Ze względu na pole magnetyczne Słońca cząstki te rozchodzą się od niego promieniście po spiralnych torach. Oprócz normalnego wyrzutu materii dochodzi też często do wybuchów korony, tak zwanych flar. Wyrzucona wówczas zostaje duża ilość materii, którą stanowią protony oraz cięższe jądra pierwiastków. O ile zwykły wiatr słoneczny, ze względu na małe energie cząstek, nie jest groźny dla ludzi znajdujących się w kosmosie, o tyle tzw. wysokoenergetyczne cząstki słoneczne w znaczący sposób zagrażają już ich życiu. Docierają one do orbity ziemskiej z energiami setek MeV (KÄLLBERG 2004). Cząstki wyrzucane ze Słońca zostają uwięzione w polu magnetycznym Ziemi tworząc pasy radiacyjne (EDWARDS 2001).

Pasy radiacyjne, zwane pasami Van Allena, stanowią kolejne, być może największe, zagrożenie dla astronautów znajdujących się na krążącej wokół Ziemi stacji kosmicznej. Ich wkład w całkowitą dawkę stanowi około 30-50% całkowitego narażenia na promieniowanie jonizujące w Kosmosie. Pasy radiacyjne to obszary uwięzionych w polu magnetycznym Ziemi cząstek naładowanych, protonów i elektronów, tworzących dwa pasy, wewnętrzny i zewnętrzny. W wewnętrznym pasie znajdują się głównie protony o energiach około 10-50 MeV (pasy deuteru i trytu stanowią mniej niż 1% całkowitego strumienia protonów), elektrony o energii ponad 0,5 MeV, a także jądra tlenu. Pas wewnętrzny jest wyjątkowo silnie przyciągany do powierzchni Ziemi na półkuli południowej. W obszarze Ameryki Południowej i wschodnich jej wybrzeży pas wewnętrzny obniża się do 200 km nad powierzchnię Ziemi, tworząc tzw. Anomalię Południowoatlantycką. Obecne w obszarze pasów radiacyjnych wysokoenergetyczne cząstki stanowią szczególne zagrożenie dla astronautów, zwłaszcza podczas prac prowadzonych w otwartej przestrzeni kosmicznej. Ponadto, promieniowanie może uszkadzać sprzęt elektroniczny.

SKUTKI EKSPOZYCJI NA PROMIENIOWANIE JONIZUJĄCE

USZKODZENIA DNA

Przedstawiona powyżej charakterystyka promieniowania na jakie narażony jest organizm żywy w przestrzeni kosmicznej pozwala się domyślać, że wszystkie cząsteczki obecne w komórkach mogą ulec uszkodzeniu po takim „zbombardowaniu”. Tak jest istotnie, jednak nie każdy składnik komórki jest w tym samym stopniu niezastąpiony, co DNA, kwas deoksyrybonukleinowy, nośnik informacji genetycznej. Dzieje się tak dlatego, że makrocząsteczki inne niż DNA (białka, kwasy rybonukleinowe, lipidy), występują w komórce w wielu kopiach. Kopie uszkodzone są identyfikowane i usuwane przez specjalne układy komórkowe. Informacja potrzebna do syntezy nowych cząsteczek jest zawarta w DNA, występującym tylko w 2 lub 4 kopiach, zatem ich uszkodzenie lub utrata może prowadzić do niekorzystnych następstw, ze śmiercią komórki włącznie.

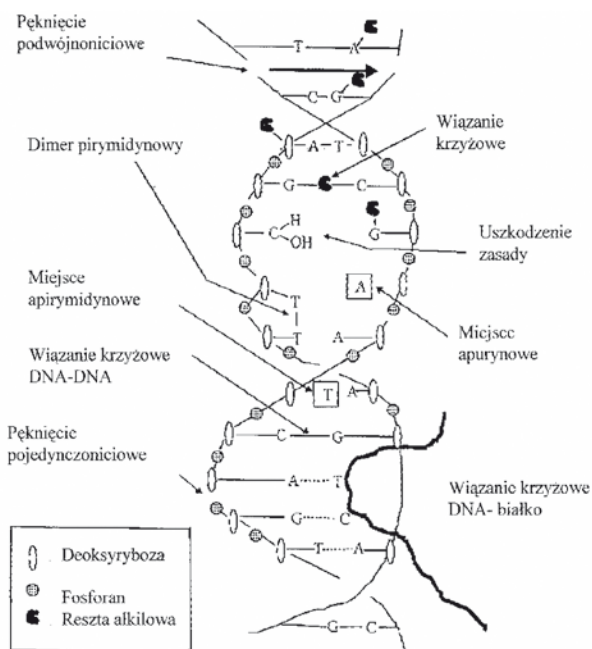
Uszkodzenia popromienne DNA są zatem przedmiotem szczególnej uwagi radiobiologów. Są to pojedynczo- lub podwójnoniciowe pęknięcia DNA, uszkodzenia lub utrata zasad azotowych, uszkodzenia reszt cukrowych i fosforanowych lub wiązania krzyżowe w podwójnej nici DNA (HALL 2000). Ryc. 1 przedstawia schematycznie rodzaje uszkodzeń DNA, które powstają pod wpływem czynników fizycznych (promieniowanie jonizujące i nadfioletowe) oraz chemicznych.

Ważną kategorię uszkodzeń popromiennych DNA stanowią ich skupiska, na przykład sąsiadujące ze sobą uszkodzenia zasad i pęknięcia jednoniciowe; nazywane są one miejscami lokalnie wielokrotnie uszkodzonymi. Stopień uszkodzenia DNA zależy od dawki i rodzaju promieniowania. Liczba uszkodzeń jest wprost proporcjonalna do dawki w szerokim zakresie dawek promieniowania. Natomiast rodzaj promieniowania i związana z nim gęstość jonizacji wpływa na względne ilości poszczególnych typów uszkodzeń. Na przykład, wraz z gęstością jonizacji wzrasta liczba pęknięć podwójnoniciowych w stosunku do pojedynczoniciowych. Przekłada się to na skutek biologiczny, o czym będzie mowa w dalszej części tekstu (GOODHEAD 1999).

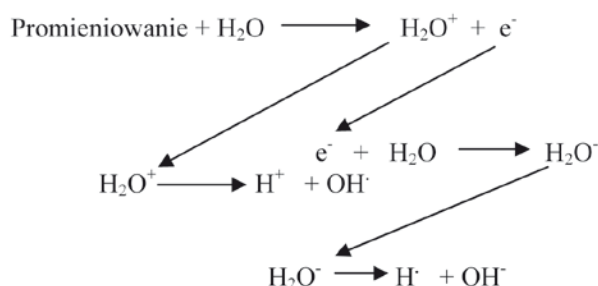
Inna ważna dla komórki kategoria składników – białka enzymatyczne i strukturalne – uszkodzane są po napromienieniu dawkami wielokrotnie wyższymi od tych, które uszkodzają DNA w stopniu wykrywalnym

metodami fizykochemicznymi. Uszkodzenie białek polega na zniszczeniu struktury przestrzennej, wytworzeniu wiązań krzyżowych i zerwaniu wiązań kowalencyjnych w łańcuchach peptydowych. Prowadzi to do degradacji cząsteczek z takimi defektami i zastąpienie ich nowymi; świeżo zsyntetyzowanymi. Następuje to jednak pod warunkiem, że zachowały się wzorce – odcinki nici DNA zawierające geny, które stanowią zapis budowy zniszczonych cząsteczek białkowych. Musi też działać transport, produkcja cząsteczek wysokoenergetycznych i fabryki białek, jakimi są rybosomy. Na szczęście to „oprządkowanie” komórkowe jest mniej promieniowrażliwe, niż DNA.

Oprócz bezpośrednich trafień makrocząsteczek składających się na żywy organizm promieniowanie jonizujące powoduje radiolizę wody (Ryc. 2), produkując w ten sposób reaktywne (czyli łatwo wchodzące w reakcje) formy tlenu. Najważniejszy z tych produktów – rodnik hydroksylowy – jest głównym czynnikiem uszkadzającym w pośrednim działaniu promieniowania (BARTOSZ 2003). Dlatego wszelkie odwodnione formy przetrwalnikowe, spory bakteryjne, nasiona roślin są pro-



Ryc. 1. Schematycznie przedstawione rodzaje uszkodzeń DNA, które powstają pod wpływem czynników fizycznych (promieniowanie jonizujące i nadfioletowe) oraz chemicznych.



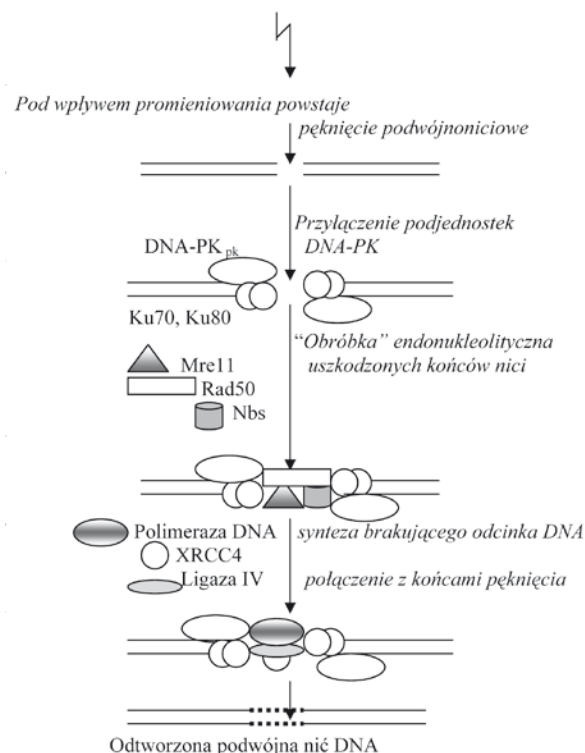
Ryc. 2. Uproszczony schemat radiolizy wody.

mieniooporne – działanie pośrednie w braku wody, która by mogła ulec radiolizie jest w ich przypadku ograniczone lub wyeliminowane. Natomiast komórki ludzkie i zwierzęce zawierają blisko 90 % wody i znaczna proporcja uszkodzeń powstaje w nich w wyniku działania rodników tlenowych. Gdyby dało się wysłać w kosmos ludzi w postaci „prze-trwałników” odwodnionych na okres podróży, ochrona radiologiczna pilota Pirxa byłaby dużo łatwiejsza.

NAPRAWA USZKODZEŃ DNA

Nie tylko w przestrzeni kosmicznej DNA ulega uszkodzeniu; są one wywoływane stale nam towarzyszącymi czynnikami środowiskowymi (np. promieniowaniem z naturalnie występujących radionuklidów). Reaktywne formy tlenu produkowane są także przez komórki w wyniku normalnych procesów przemiany materii. Jest to powodem m.in. uszkodzeń DNA, których liczba oceniana jest na ponad 200 000 na komórkę na dobę. Często uszkodzenia te określa się jako spontaniczne. Ogromna większość tych uszkodzeń jest sprawnie usuwana przez enzymatyczne procesy naprawy DNA, jednak niektóre z nich mogą prowadzić do mutacji. Zaobserwowano także, że hydroksylowane reszty guaniny powstające w wyniku reakcji z tlenem singletowym nagromadzają się w DNA i wywołują objawy starzenia się organizmu.

Enzymy obdarzone zdolnością naprawy uszkodzonego DNA są tak mało zmienione w toku ewolucji, że łatwo można wykryć podobieństwa między enzymami drożdży i człowieka. Ułatwiło to bardzo ustalenie ich budowy i sposobu działania. Układy naprawcze złożone są z wielu enzymów, z których każdy przeprowadza jeden etap wieloetapowego procesu naprawy swoistego dla danego typu uszkodzenia. Przykład działania układu naprawy pęknięć podwójnoniciowych DNA pokazuje uproszczony schemat tego procesu na Ryc. 3.



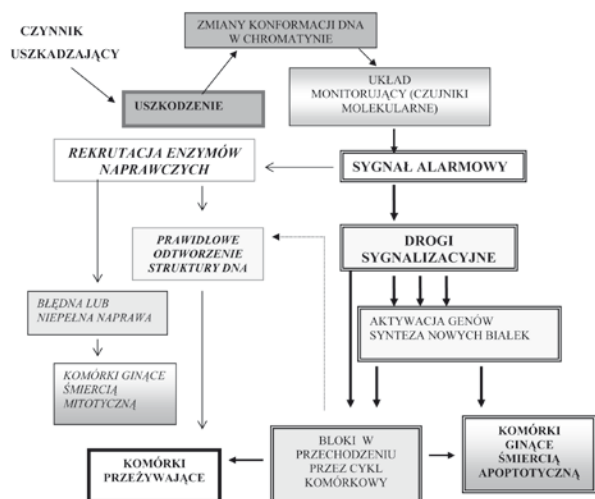
Ryc. 3. Uproszczony schemat działania układu naprawy pęknięć podwójnoniciowych DNA z kinazą zależną od DNA (DNA-PK) w roli głównej.

Zalecane dla pilota Pirxa i innych czytelników, przystępnie opracowane lektury na ten temat zawarte są z specjalnym zeszycie KOSMOSU z 1999 r. (PIETRZYKOWSKA i KRWA-WICZ 1999, POLACZEK 1999, TUDEK 1999, ZDZIENICKA 1999).

Układy naprawcze można podzielić na konstytucyjne, czyli stale w akcji, oraz indukowane w warunkach stresu. Te ostatnie są uruchamiane przez zwiększoną w stosunku do warunków bezstresowych liczbę uszkodzeń na jednostkę czasu. Służą temu celowi specjalne komórkowe czujniki molekularne, zapoczątkowujące sygnalizację alarmową. Sygnały docierają m.in. do określonych genów, co powoduje ich transkrypcję i translację (SZUMIEL i SOCHANOWICZ 1998, SZUMIEL 1998). Ryc. 4 pokazuje następstwo zdarzeń zachodzących w komórce ekspozowanej na promieniowanie jonizujące oraz miejsce naprawy DNA.

Na odpowiedź komórki składają się liczne zdarzenia zachodzące w sposób precyzyjnie skoordynowany:

- wykrywanie uszkodzeń,
- przetwarzanie na sygnał alarmowy,
- rekrutacja enzymów naprawczych do miejsc uszkodzeń,



Ryc. 4. Schemat zdarzeń zachodzących w komórce poddanej działaniu promieniowania jonizującego. Omówienie w tekście.

- zatrzymanie przechodzenia przez cykl komórkowy (co pozostawia komórce czas na naprawę uszkodzeń zanim zostaną one utrwalone przez zreplikowanie błędnego odcinka DNA i przekazanie komórkom potomnym w wyniku podziału komórkowego),

- aktywacja transkrypcji i translacji genów, co owocuje produkcją białek potrzebnych do usuwania szkód wyrządzonych przez promieniowanie.

Jeżeli któryś z tych elementów odpowiedzi zawiedzie, to prawdopodobna jest śmierć komórki. Niekompletna naprawa DNA powoduje wysyłanie sygnałów alarmowych zatrzymujących przechodzenie przez cykl komórkowy. Zbyt długi czas wysyłania takich sygnałów, spowodowany przedłużającymi się procesami naprawy DNA, powoduje zmianę sygnału na powodujący tzw. śmierć apoptotyczną (GRADZKA 2000). Cechuje ją uporządkowana aktywacja kolejnych enzymów, które trawią białka i DNA. Komórka w charakterystyczny sposób zmienia morfologię – obkurcza się, podczas gdy jądro komórkowe ulega rozczłonkowaniu. W organizmie ssaka taka komórka jest fagocytowana przez komórki-sąsiadki i znika bez śladu. Jest to korzystne dla organizmu jako całości, ponieważ zostaje usunięta komórka wadliwa, a zatem potencjalnie grożąca zapoczątkowaniem jakiegoś procesu patologicznego (na przykład choroby nowotworowej). Wiele wskazuje na to, że apoptoza ma duże znaczenie w zapobieganiu zmianom nowotworowym (DOMIŃSKI 1999), zatem defekty komórkowe upośledzające zdolność do

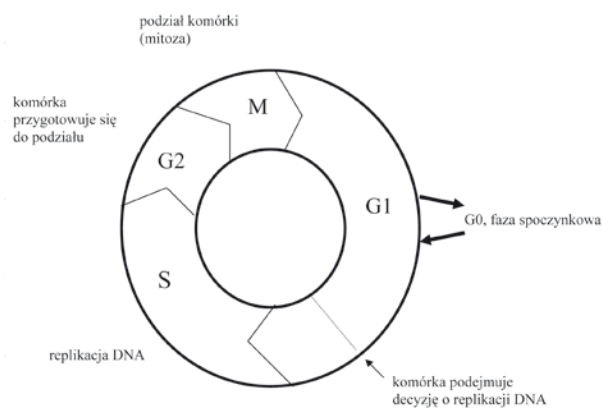
apoptozy byłyby dla pilota Pirxa bardzo niekorzystne.

Drugi typ komórkowej śmierci popromiennej następuje w dzielących się komórkach, jeżeli nastąpi błędna lub niepełna naprawa takich uszkodzeń, które wprost lub pośrednio powodują nieciągłość nici DNA. Jednocześnie układ monitorujący nie rozpoznaje uszkodzenia jako zagrażającego i „zgłasza gotowość” komórki do przechodzenia przez cykl podziałowy. W wyniku podziału (mitozy) komórka dzieli się na 2 komórki potomne. Śmierć może nastąpić już w czasie tej pierwszej mitozy po napromieniowaniu, jednak bardzo często komórki potomne przechodzą jeszcze 1, 2 lub 3 następne cykle komórkowe, zakończone podziałami, pozornie nie różniąc się od komórek nienapromieniowanych. Ten rodzaj śmierci, związanej z przejściem przez mitozę, nazywamy śmiercią mitotyczną lub reprodukcyjną, tj. związaną z rozmnażaniem (SZUMIEL 1994). Gine w ten sposób komórki tworzą w tkankach obszary martwicy i są powodem procesów zapalnych.

MUTAGENEZA POPROMIENNA

Układy naprawcze nigdy nie są w 100% bezbłędne (podobnie jak nie jest pozbawiona błędów replikacja DNA), dzięki czemu powstają mutacje zapewniające zmienność osobniczą (BRIDGES 1999). Układy indukowane dokonują naprawy szybciej niż konstytucyjne, ale są źródłem częstszych mutacji: można powiedzieć, że komórka spieszy się by odtworzyć ciągłość nici DNA, ponosząc ryzyko nie zawsze korzystnych następstw poświadczonych błędów (CHRISTMANN i współaut. 2003).

Naprawa uszkodzenia występującego w jednej nici DNA jest możliwa dzięki temu, że cząsteczka jest dwuniciowa. Nić komplementarna do uszkodzonej zawiera informację wystarczającą do odtworzenia zniszczonego i wyciętego odcinka nici. Podobnie jest przy replikacji (czyli podwojeniu) DNA w trakcie fazy syntezy DNA (tzw. faza S cyklu komórkowego) poprzedzającej podział komórki (schemat cyklu podziałowego komórki przedstawiono na Ryc. 5). Naprzeciw reszty adeniny wbudowywana jest tymina, naprzeciw reszty guaniny – cytozyna. Zasada naprawy jest usunięcie odcinka uszkodzonego i jego odtworzenie na podstawie zapisu kolejności nukleotydów zawartego w nici nieuszkodzonej. W przypadku pęknięć dwuniciowych lub skupisk uszkodzeń w DNA



Ryc. 5. Schemat cyklu podziałowego komórki.

Nazwy faz cyklu pochodzą od terminów angielskich: G1 – gap 1 (pierwsza przerwa), S – synthesis (faza syntezy DNA), G2 – gap 2 (druga przerwa), M – mitosis (mitoza, czyli podział chromosomów i składników cytoplazmy między dwie komórki potomne). G0 (gap zero – przerwa zerowa) oznacza fazę spoczynkową, z której komórka może wrócić do fazy G1, zwykle pod wpływem bodźców zewnętrznych.

niezreplikowanym wykorzystanie tej zasady nie jest możliwe, ponieważ uszkodzone są obie nici. Jeżeli DNA przeszedł już fazę podwojenia, wtedy wzorcem jest homologiczny odcinek DNA z drugiej chromatydy. Jeżeli jednak komórka jest w fazie cyklu podziałowego poprzedzającej syntezę DNA, to brak wzorca stwarza okazję do popełnienia błędu w odtwarzaniu uszkodzonego odcinka. Dlatego właśnie pęknięcia podwójnoniciowe DNA są szczególnie trudnym do naprawienia i w rezultacie niebezpiecznym rodzajem uszkodzenia popromiennego (ZDZIENICKA 1999, PFEIFFER i współaut. 2000).

Błędna naprawa nie zawsze musi być powodem śmierci komórki. Niewielka zmiana w kolejności nukleotydów prowadzić może do mutacji, których następstwa są niewidoczne bez szczegółowych badań, i z którymi komórka przeżywa i rozmnaża się. Błędy naprawy spowodowane są albo utratą jakiegoś odcinka DNA albo niewłaściwym dobraniem (sparowaniem) zasad na etapie replikacji naprawczej. Ten ostatni rodzaj błędu zachodzi także przy normalnej replikacji DNA w namnażających się komórkach (POLACZEK 1999).

Znaczne błędy naprawy, zwłaszcza te, które zachodzą w odcinkach DNA, z których właśnie przepisywana jest informacja genetyczna (geny aktywne transkrypcyjnie) prowadzą do widocznych w mikroskopie świetl-

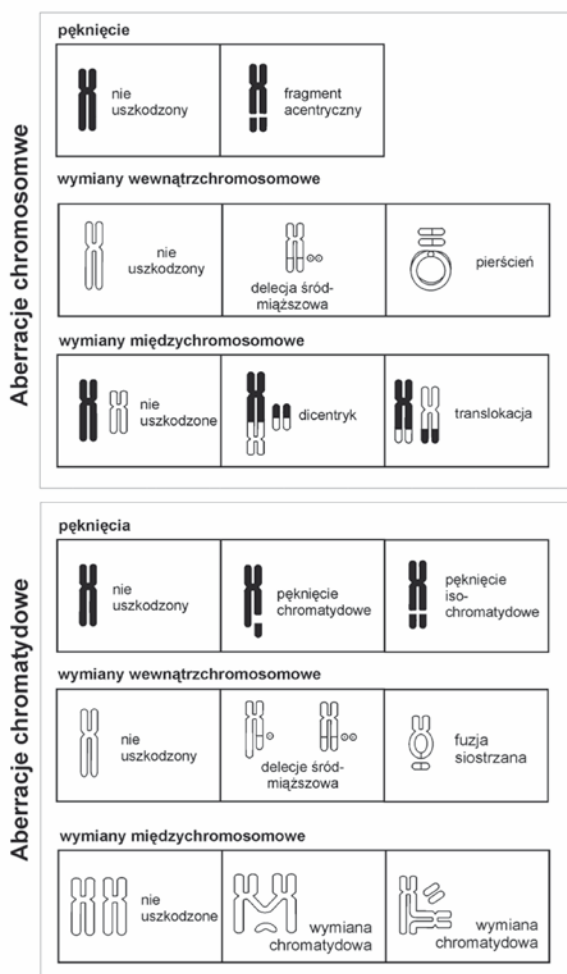
nym zmian w morfologii chromosomów; nazywamy je aberracjami chromosomowymi.

ABERRACJE CHROMOSOMOWE

Aberracje chromosomowe powstają w komórkach każdej napromienionej tkanki, a ich częstość jest proporcjonalna do wielkości pochłoniętej dawki. W celu analizy należy komórki wyizolować i hodować w warunkach *in vitro* do pierwszego podziału mitotycznego, kiedy, po odpowiednim utrwaleniu, można je oglądać pod mikroskopem świetlnym lub fluorescencyjnym. Ryc. 6 przedstawia przykłady popromiennych aberracji chromosomowych.

Aberracjami nazywamy pęknięcia lub przemieszczenia odcinków chromosomów. Każde uszkodzenie DNA może doprowadzić do powstania aberracji chromosomowej. Okazało się jednak, że niezbędnym krokiem na drodze powstania aberracji jest zmiana uszkodzenia na podwójnoniciowe pęknięcie DNA. Zmiana ta następuje najczęściej podczas fazy S, kiedy uszkodzenia DNA powodują zatrzymanie widełek replikacyjnych. Błędna naprawa podwójnoniciowego pęknięcia DNA może doprowadzić do powstania pęknięcia ramienia chromosomu lub do wymian między ramionami jednego lub kilku chromosomów. Bardzo niewiele czynników fizycznych i chemicznych wywołuje podwójnoniciowe pęknięcia DNA w sposób bezpośredni. Zalicza się do nich promieniowanie jonizujące, bleomycynę (oraz kilka podobnie działających cytostatyków), wodę utlenioną i enzymy restrykcyjne. Uszkodzenia DNA wywołane przez wszystkie inne mutageny zamieniane są na podwójnoniciowe pęknięcia dopiero podczas fazy S. Wtedy wzorcem do naprawy jest homologiczny odcinek DNA z drugiej chromatydy. W wyniku procesu naprawy może powstać wymiana między chromatydami tego samego chromosomu lub też między chromatydami dwóch (lub więcej) chromosomów. Taką aberrację nazywamy chromatydową (SAVAGE 1976) (Ryc. 6). Mutageny, które nie wywołują bezpośrednio podwójnoniciowych pęknięć DNA, są wyłącznie źródłem aberracji chromatydowych i zalicza się je do grupy tzw. mutagenów zależnych od fazy S.

Promieniowanie jonizujące jest mutagenem niezależnym od fazy S, ponieważ wywołuje podwójnoniciowe pęknięcia DNA niezależnie od fazy cyklu komórkowego. Konsekwencją tego jest, że napromieniając komórki w fazie G1, kiedy w jądrze komór-



Ryc. 6. Schemat najważniejszych aberracji chromosomowych typu chromosomowego i chromatydowego.

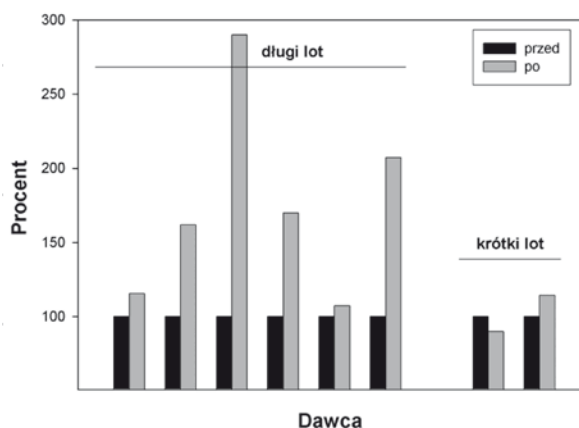
ki znajduje się tylko jedna kopia DNA, indukujemy powstanie wymian, które obejmują obie chromatydę. Takie aberracje nazywamy aberracjami chromosomowymi (SAVAGE 1976) (Ryc. 6).

Powstałe aberracje chromosomowe utrzymują się w komórce na stałym poziomie do czasu pierwszej mitozy. Oznacza to, że jeśli napromienimy komórki zahamowane w cyklu komórkowym, możemy ocenić częstość popromiennych aberracji po wyizolowaniu ich z organizmu i pobudzeniu do podziału. Jak wspomniano, częstość aberracji jest proporcjonalna do dawki promieniowania. Gdyby więc w naszym organizmie znajdowały się komórki zatrzymane w fazie G₀, które dzielą się rzadko i dają się łatwo wyizolować, można by na podstawie częstości aberracji ocenić wysokość dawki promieniowania. Takim doskonałym dozymetrem biologicznym okazały się limfocyty krwi obwodowej. Znajdu-

ją się one w ponad 95% w fazie G₀, dlatego promieniowanie jonizujące wywołuje w nich swoiście aberracje typu chromosomowego. Dzięki temu, że limfocyty dzielą się w organizmie niezwykle rzadko, można oceniać częstość aberracji nawet po kilku latach od narażenia człowieka. Dozymetria biologiczna oparta na ocenie częstości aberracji jest uznaną metodą oceny wysokości pochłoniętej dawki promieniowania w przypadkach braku możliwości fizycznych pomiarów dawki (WÓJCIK 1995, KOWALSKA i WÓJCIK 1999).

Ocena wysokości dawki promieniowania na jaką narażeni są astronauta oraz jej skutków biologicznych jest niezwykle trudna. Przyczyna tego leży w skomplikowanym składzie wiązki promieniowania kosmicznego, w braku danych na temat skuteczności biologicznej jonów wysokoenergetycznych oraz skutków równoczesnego napromieniania różnymi rodzajami promieniowania. Problem ten stał się szczególnie wyraźny od kiedy astronauta zaczęli przebywać przez długie okresy na stacjach kosmicznych. Również skutki dla zdrowia lotu na Marsa stanowią temat gorących dyskusji (TOWNSEND 2005), dlatego radiobiolodzy skupili się na analizie aberracji chromosomowych w limfocytach astronautów.

Pierwsze duże badanie przeprowadzono na limfocytach astronautów, którzy spędzili od 2 tygodni do 6 miesięcy na stacji MIR (TESTARD i współaut. 1996). Podwyższoną częstość aberracji typu chromosomowego stwierdzono u astronautów, którzy przebywali na stacji dłużej niż 3 tygodnie. Częstość



Ryc. 7. Częstość aberracji chromosomowych w limfocytach astronautów rosyjskich przebywających na stacji MIR wyrażona jako procent wartości przed lotem (wg GEORGE'A i współaut. 2001).

aberracji chromosomowych w limfocytach astronautów po 6-miesięcznym pobycie była silnie zróżnicowana osobniczo. Podobne wyniki otrzymali GEORGE i współaut. (2001), którzy badali inną grupę astronautów (Ryc. 7). Autorzy niedawno opublikowanych badań nie stwierdzili żadnego wzrostu częstości aberracji w limfocytach 10 astronautów przebywających na stacji ISS przez okresy do 192 dni (HORSTMANN i współaut. 2005). Obliczono, że dawki pochłonięte przez astronautów sięgały 150 mSv (milisiwertów), były więc na granicy detekcji na poziomie aberracji chromosomowych, co mogło być przyczyną negatywnego wyniku badań.

Ciekawym pytaniem jest, czy brak grawitacji (stan określany mianem „mikrogravitacja”) wpływa na promieniowrażliwość komórek. HAMMOND i współaut. (1999) stwierdzili

zmiany w profilu ekspresji genów komórek poddanych działaniu mikrogravitacji. HORNECK i współaut. (1997) nie zaobserwowali jednak zmienionej zdolności do naprawy podwójnoniciowych pęknięć DNA w komórkach trzymanyh w warunkach mikrogravitacji. WU i współaut. (2001) badali promieniowrażliwość limfocytów pobranych astronautom przed i po podróży w przestrzeń kosmiczną. Nie stwierdzono różnic, co sugeruje, że przebywanie w warunkach mikrogravitacji nie wpływa na promieniowrażliwość komórek. Ten wynik jest ważny, ponieważ oznacza możliwość ekstrapolacji wyników badań wpływu jonów wysokoenergetycznych na komórki prowadzonych w warunkach ziemskich na sytuację w warunkach mikrogravitacji.

PODSUMOWANIE

Promieniowanie kosmiczne stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia astronautów. Kilkumiesięczne pobyty w przestrzeni kosmicznej miały do tej pory miejsce na niskiej orbicie okołozemskiej, gdzie astronautów chroni pole magnetyczne Ziemi. Nie można wykluczyć, że podróż na Marsa, nie mówiąc

o podróży do planety bardziej oddalonej od Ziemi, może spowodować przedwczesną śmierć astronautów wywołaną nie awarią sprzętu, lecz nieuniknionym narażeniem na promieniowanie. Może lepiej, że pilot Pirx nie zdawał sobie z tego sprawy.

ELEMENTS OF RADIOBIOLOGY FOR PILOT PIRX

Summary

Contrary to the widespread opinion, interstellar space is not empty but filled with high energy particles that originate from within and from outside of our Solar system. These particles can induce ionization lesions in human cells and present a health hazard for astronauts. DNA is the most sensitive component of the cell and induction of DNA damage by ionizing radiation triggers a cascade of signals which can either push the cell towards committing suicide by apoptosis or initiate repair processes. A number of repair pathways exist but none of them is error-free. Repair mistakes can lead to the forma-

tion of mutations which are potential sources of cancer. The actual doses received by the astronauts in space is a matter of debate. A number of studies have been performed to assess the dose by means of biological dosimetry. This method relies on the analysis of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes. Most studies show an increased frequency of aberrations in lymphocytes of astronauts who spent at least several weeks in space. This clearly shows that space travel is associated with a risk of developing cancer.

LITERATURA

- BADHWAR G. D., 1997. *The Radiation Environment in Low-Earth Orbit*. Radiation Res. 148S, S3-S10.
- BARTOSZ G., 2003. *Druga twarz tlenu*. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- BRIDGES B. A., 1999. *Rola uszkodzeń DNA przy powstawaniu mutacji fazy stacjonarnej (adaptacyjnej)*. Kosmos 48, 293-303.
- CHRISTMANN M., TOMICIC M. T., ROOS W. P., KAINA B., 2003. *Mechanisms of human DNA repair: an update*. Toxicology 193, 3-34.
- DOMIŃSKI A., 1999. *Apoptoza: śmierć komórek w życiu organizmów zwierzęcych*. Kosmos 48, 385-396.
- EDWARDS A. A., 2001. *RBE of Radiations in Space and the Implications for Space Travel*. Physica Medica 17 (Suppl. 1), 5-10.
- GEORGE K., DURANTE M., WU H., WILLINGHAM V., BADHWAR G., CUCINOTTA F. A., 2001. *Chromosome aberrations in the blood lymphocytes of astronauts after space flight*. Radiation Res. 156, 731-738.

- GOODHEAD D. T., 1999. *Mechanisms for the biological effectiveness of high-LET radiations*. J. Radiat. Res. 40, 1-13.
- GRADZKA I., 2000. *Apoptoza: Decyzja należy do mitochondrium*. Postępy Biochemii 46, 2-16.
- HALL E. J., 2000. *Radiobiology for the radiologist*. Wydanie V. Lippincott, Williams & Wilkins Publishers, Philadelphia, Baltimore, New York.
- HAMMOND T. G., LEWIS F. C., GOODWIN T. J., LINNEHAN R. M., WOLF D. A., HIRE K. P., CAMPBELL W. C., BENES E., O'REILLY K. C., GLOBUS R. K., KAYSEN J. H., 1999. *Gene expression in space*. Nat. Med. 5, 359-360.
- HORNECK G., RETTBERG P., KOZUBEK S., BAUMSTARK-KHAN C., RINK H., SCHAFER M., SCHMITZ C., 1997. *The influence of microgravity on repair of radiation-induced DNA damage in bacteria and human fibroblasts*. Radiat. Res. 147, 376-384.
- HORSTMANN M., DURANTE M., JOHANNES C., PIEPER R., OBE G., 2005. *Space radiation does not induce a significant increase of intrachromosomal exchanges in astronauts' lymphocytes*. Radiat. Environ. Biophys. 44, 219-224.
- KÄLLBERG A., 2004. *Radiation problems in manned Mars missions*. Swedish Institute of Space Physics: www.irf.se
- KOWALSKA M., WÓJCIK A., 1999. *Aberracje chromosomowe jako biologiczny dozymetr promieniowania jonizującego*. Postępy Techniki Jądrowej 42, 31-36.
- NCRP, 1989. *Guidance on radiation received in space activities*. NCRP Report No 98.
- PFEIFFER P., GOEDECKE W., OBE G., 2000. *Mechanisms of DNA double-strand break repair and their potential to induce chromosomal aberrations*. Mutagenesis 15, 289-302.
- PIETRZYKOWSKA I., KRZAWICZ J., 1999. *Mechanizmy naprawy DNA u bakterii i człowieka*. Kosmos 48, 315-328.
- POLACZEK P., 1999. *Reperacja źle sparowanych zasad w DNA: ewolucja systemu od bakterii do człowieka*. Kosmos 48, 353-358.
- SAVAGE J. R., 1976. *Classification and relationships of induced chromosomal structural changes*. J. Med. Genet. 13, 103-122.
- SZUMIEL I., 1994. *Ionizing radiation-induced cell death*. International J. Radiat. Biol. 66, 329-341.
- SZUMIEL I., 1998. *Monitoring and signaling of radiation-induced damage in mammalian cells*. Radiat. Res. 150 (Suppl.), S92-S101.
- SZUMIEL I., SOCHANOWICZ B., 1998. *Signal transfer in the cellular response to ionizing radiation*. Nukleonika 43, 133-146.
- TESTARD I., RICOUL M., HOFFSCHIR F., FLURY-HERARD A., DUTRILLAUX B., FEDORENKO B., GERASIMENKO V., SABATIER L., 1996. *Radiation-induced chromosome damage in astronauts lymphocytes*. Int. J. Radiat. Biol. 70, 403-411.
- TOWNSEND L. W., 2005. *Implications of the space radiation environment for human exploration in deep space*. Radiat. Protect. Dosim. 115, 44-50.
- TUDEK B., 1999. *Mechanizmy naprawy utlenionych zasad DNA*. Kosmos 48, 339-352.
- WÓJCIK A., 1995. *Technika malowania chromosomów i jej zastosowanie w radiobiologii*. Kosmos 44, 115-128.
- WU H., GEORGE K., WILLINGHAM V., CUCINOTTA F. A., 2001. *Comparison of chromosome aberration frequencies in pre- and post-flight astronauts irradiated in vitro with gamma rays*. Physica Medica 17 (Suppl. 1), 229-231.
- ZDZIENICKA, M. Z., 1999. *Mechanizmy naprawy podwójnych pęknięć DNA (DSB) w komórkach ssaków: podstawy molekularne i konsekwencje biologiczne*. Kosmos 48, 359-365.