**Бондаренко Марина Анатоліївна**

кандидат фізико-математичних наук, доцент, доцент кафедри медичної та біологічної фізики і медичної інформатики Харківського національного медичного університету, Україна

**Зайцева Ольга Василівна**

доктор біологічних наук, професор, професор кафедри медичної та біологічної фізики і медичної інформатики Харківського національного медичного університету, Україна

**Мещерякова Оксана Петрівна**

кандидат фізико-математичних наук, доцент, доцент кафедри медичної та біологічної фізики і медичної інформатики Харківського національного медичного університету, Україна

**Пономаренко Наталя Сергіївна**

старший викладач кафедри медичної та біологічної фізики і медичної інформатики Харківського національного медичного університету, Україна

**МОДЕЛЮВАННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ МЕХАНІЗМІВ ФОРМУВАННЯ ГОРМЕТИЧНИХ РЕАКЦІЙ ПІД ВПЛИВОМ РІДКОІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ**

*Анотація. Розглянуто феноменологію радіаційної радіаційного гормезису для біологічних об’єктів різних рівнів інтеграції, здійснено огляд існуючих теорій, які описують залежність «доза-ефект». На основі моделювання молекулярних механізмів формування горметичних та адаптивних реакцій на низькодозові рідкоіонізуючі випромінювання запропоновано формулу для розрахунку індексу радіаційної адаптивної відповіді. Представлено гіпотезу, що пропонує один з механізмів формування радіаційної адаптивної відповіді з урахуванням особливостей конформаційної структури та функціонування генетичного апарату клітини.*

*Ключові слова: горметичні реакції, рідкоіонізуюче випромінювання, низькі дози, моделювання.*

Явище гормезису не є новою концепцією; вчені висували теорію та надавали експериментальні докази реакцій, подібних до горметичних, з кінця 19 століття. З самого початку прихильники гормезису стверджували, що гормезис є фундаментальним співвідношенням «доза-реакція». Гормезис описує взаємозв'язок «доза-реакція», що характеризується зворотною реакцією між низькими та високими дозами хімічних речовин, біологічних молекул, фізичних стресових факторів або інших ініціаторів реакції.  Іншими словами, якщо вплив високих рівнів стресорів є пригнічуючим, то низькі (легкі, сублетальні і субтоксичні) дози є стимулюючими. Тобто феномен гормезису розглядається як стимулююча дія невеликих доз стресорів різної природи. Помічено [1-3], що гормезисні прояви на кривих залежності "доза - ефект" зустрічаються у різних представників біоти, починаючи від вірусів і бактерій і закінчуючи приматами і людиною.

Під радіаційним гормезисом (від лат. hormaein – збуджувати, англ. hormesis) розуміють в цілому позитивну дію іонізуючого випромінювання у діапазонах низьких доз, низьких потужностей доз, низького лінійного переносу енергії (ЛПЕ) на біологічні об’єкти різних рівнів інтеграції. Це може спостерігатися, наприклад, у вигляді прискорення росту та розвитку опромінених біологічних об’єктів, підвищенні рівня імунітету організму (рослинного та тваринного), вірулентності патогенів тощо.

Не зважаючи на те, що феномен гормезису відомий давно, механізми формування горметичних реакцій залишаються остаточно нез’ясованими і математично не описаними. Визнання гормезису як життєздатної теорії «доза-реакція» було обмеженим до недавнього часу частково через погане концептуальне розуміння, неналежне спеціальне використання цього поняття, відсутність розуміння певних механізмів гормезису, а також відсутність математичної моделі для вивчення горметичних реакцій [4-6]. Вивчаючи історію цієї теорії, стає ясно, що як фармакологічні, токсикологічні, так і радіологічні дослідження надають докази горметичної реакції на низьку дозу стресора, але ретроспективне вивчення досліджень підчас буває проблематичним.

Автори [7] досліджують основні чинники, які сприяли маргіналізації радіаційного гормезису на початку і середині 20-го століття. Найбільш важливим фактором, що вплинув на зникнення поняття радіаційного гормезису, була відсутність згоди з приводу того, як визначити це поняття і кількісно описати його характеристики при розгляді залежності «доза-реакція». Якби радіаційний гормезис був визначений як помірна зверхкомпенсація порушення гомеостазу, що узгоджувалося б з переважаючими уявленнями в області хімічного гормезису, це послужило б теоретичною і практичною основою відповіді на критику цієї гіпотези. Другим критичним фактором, не на користь гіпотези радіаційного гормезису, стала відсутність визнання радіологами концепції хімічного гормезису, яка була більш обґрунтованою і узагальненою, ніж концепція радіогормезису. Третій фактор полягав в тому, що серйозна наукова критика наявності стимулюючого впливу низьких доз радіації була підтримана Міжнародним комітетом з радіаційного захисту (МКРЗ), внаслідок чого радіаційна горметична гіпотеза була виключена із запланованих досліджень.

Ще в 1965 році МКРЗ запропонував «лінійну безпорогову концепцію» (англ., LNT model - linear non-threshold model) і пояснив цей вибір наступним чином. Оскільки про існування порогової дози невідомо, передбачається, що навіть найменші дози дають пропорційно малий ризик індукції малігнізації. Наукова коректність LNT моделі протягом останніх десятиліть була приводом для численних дискусій [8-10]. Частина дослідників обґрунтовує існування LNT моделі концепцією про те, що низькі рівні радіації збільшують мутації, і що збільшення кількості мутацій має на увазі збільшення числа ракових захворювань.

З іншого боку, існує безліч свідчень на користь існування радіаційного гормезису, тобто проти LNT моделі, включаючи дослідження когорти людей, що вижили після атомних бомбардувань, фонової радіації, радіації навколишнього середовища, хворих на рак, медичного опромінення та професійного опромінення. Отже існують достатньо вагомі докази наявності радіаційного гормезису [9-12].

За останні роки науковцями підсумовані дані про молекулярні і клітинні наслідки опромінення іонізуючим випромінюванням в малих дозах. Розглянуто ефекти на рівні генома - пошкодження ДНК і їх репарація, модифікація структури хроматину, апоптоз і цитогенетичні пошкодження, експресія генів і синтез нових білків, а також віддалені наслідки променевого впливу (мутагенез, неопластична трансформація та інше). Вивчено зміни структури і складу клітинних мембран, стимуляція проліферації, модифікація систем антиоксидантного захисту.

При цьому зроблено висновок [1], що величина порогової дози, при якій виявляється пошкоджуючий вплив іонізуючого випромінювання, залежить від того, на якому рівні біологічної організації здійснюється оцінка цього впливу. При гострому опроміненні найбільш низький дозовий поріг виявляється для цитогенетичних ефектів та репродуктивної загибелі клітин (молекулярний і клітинний рівні припадають на дози в діапазоні 1 – 2 сГр). При переході до органного рівня та рівня організму порогова ушкоджуюча доза зростає й досягає приблизно 10 - 20 сГр. В діапазоні доз до 2 сГр включно не виявлено ушкоджуючих ефектів опромінювання, але в цій області відзначаються прояви гормезису. Деякий ризик появляється при дозі від 2 до 5 сГр, де зареєстровано нижню межу тестованих цитогенетичних пошкоджень. Оскільки доза 2 – 5 сГр найбільшою мірою сприяє прояву радіоадаптивної відповіді, цей діапазон може бути названий зоною виразних «умовно сприятливих» і невиразних ушкоджуючих ефектів випромінювання. При переході до пролонгованого та хронічного опромінення зберігаються закономірності прояву дозового порогу (від молекулярного та клітинного рівня до рівня організму) з його відповідністю різним діапазонам доз (для молекулярно-клітинного рівня - 2 - 3 порядки над рівнем природного радіаційного фону, для рівня організму - до 5 порядків). При більшій дозі (особливо, починаючи з 10 сГр) вираженість несприятливих ефектів випромінювання зростає і з'являється значний ризик прояву віддалених наслідків. Рівень цитогенетичних пошкоджень підвищується і починає лінійно залежати від дози випромінювання, а ефекти гормезису та радіаційної адаптації виражені слабо або зовсім відсутні [13].

Нами пропонується нова гіпотеза існування одного з молекулярних механізмів явищ гормезису та радіоадаптивної відповіді, спостережуваної при дії на клітини рідкоіонізуючих випромінювань в малих дозах. Вона полягає в наступному.

Головною причиною загибелі клітини є, як відомо, ушкодження ниток ДНК цієї клітини, які не репаруються, тобто, ушкодження її хроматину. Але хроматин клітини неоднорідний. Він може існувати в клітині і у вигляді гетерохроматину з максимальною мірою компактизації ниток ДНК, і у вигляді еухроматину зі значною мірою "розплітання" цих ниток, що необхідно для зчитування генетичної інформації. Ця думка знаходить підтвердження у авторів [1, 11]. Генетичний апарат активно функціонуючої клітини знаходиться в стані еухроматину і, отже, є більш уразливим для ушкоджуючих дій, чим, такий у неактивної клітини, що знаходиться в стані гетерохроматину, тобто в стані з максимальною мірою компактизації ниток ДНК. Тому при дії на клітину ушкоджуючих чинників включаються захисні механізми, і на начальному етапі клітина прагне перейти в найбільш компактний і менш уразливий стан хроматину, тобто в стан гетерохроматину.

Один з можливих механізмів переключення клітин у новий режим функціонування пов’язують з індукцією опроміненням у малих дозах змін у конформаційній структурі хроматину, що, у свою чергу, приводить до змін генної експресії [6, 12, 14]. Відомо, що клітинні мембрани є первинною мішенню багатьох стресових впливів. З цих позицій ініціація радіаційного гормезису може бути пояснена порушенням бар’єрної функції мембран з наступною транскрипцією генів відповідних репараційних ферментів [6]. Припускають, що відносно малі дози іонізуючого випромінювання здатні запускати мембранний механізм активації геному у рослин (зокрема, через активацію аденілатциклази та цАМФ системи трансдукції сигналів) [14].

Тобто на молекулярному та клітинному рівнях радіостимуляція може обумовлюватися більш менш тривалими змінами епігенотипу клітин, що опосередковується як безпосереднім впливом факторів на різні рівні організації ДНК, так і через вплив випромінювання на клітинні мембрани, активацію систем трансдукції сигналів. Епігенетичні ефекти іонізуючої радіації можуть проявлятися й у її впливі на рівень генетичної нестабільності [11].

Таким чином, при дії на клітину ушкоджуючими чинниками в малих дозах і в певному інтервалі часу, необхідному для максимально повної компактизації хроматину, клітина мало ушкоджується або не ушкоджується взагалі, але сигнал про наявність ушкоджуючої дії виробляється. Це і обумовлює максимально можливий перехід хроматину клітини в гетерохроматин в якості реакції у відповідь з метою мінімізації можливого подальшого ушкодження клітини при великих дозах. Іншими словами, коли клітина опиняється під впливом малих доз ушкоджуючих чинників, вона має можливість оперативно, без значних для себе витрат перейти в стан гетерохроматину і, тим самим, істотно ослабити міру ушкодження ДНК при подальших значних рівнях ушкоджуючих чинників. Таким механізмом адаптивної відповіді клітини можна, зокрема, пояснити і неспецифічність реакції клітин на ушкоджуючі дії. На користь цього трактування механізму формування адаптивної відповіді говорять також дані про активацію полімерази АДФ рибози, що необхідно для реалізації обговорюваного ефекту як "палива" цього процесу.

Нами пропонується нова розрахункова формула для оцінки адаптивного відгуку за допомогою індексу адаптивної відповіді (*К*) як функції ймовірності утворення генетичних пошкоджень при опроміненні біологічних об’єктів низькими дозами низької потужності рідкоіонізуючого випромінювання:

,

де  - ймовірність генетичних пошкоджень в контрольній групі клітин – клітин, які не опромінювалися, (стохастичні аберації);  - ймовірність генетичних пошкоджень після опромінення адаптуючою дозою;  - ймовірність генетичних пошкоджень після опромінення дозою, що тестувалася;  - ймовірність генетичних пошкоджень після опромінення спочатку адаптуючою дозою, потім дозою, що тестувалася.

За відсутності будь-якої адаптуючої дози , а ймовірність утворення генетичних пошкоджень , тобто індекс адаптивної відповіді  (адаптивна відповідь відсутня); якщо значення індексу , це означає, що адаптивна відповідь має місце, і чим активніше працюють захисні механізми, тим більше значення  перевищує одиницю. Значення індексу адаптивної відповіді  відповідатимуть стану підвищення радіочутливості клітин.

Для перевірки розрахунків за допомогою запропонованої формули були використані літературні експериментальні дані, в яких в якості генетичних пошкоджень застосовувався анафазний метод аберації хромосом. Дослідження [15] проводили на асинхронній популяції клітин китайського хом’ячка лінії V-79, які знаходились в логарифмічній фазі росту. Тривалість мітотичного циклу клітин китайського хом’ячка складала 12 годин. Для опромінення використовували гама-випромінювання 60Со з потужністю дози 18 сГр/хв. При вивченні адаптуючої відповіді інтервал між адаптуючою дозою і дозою, що тестувалася, складав 5 годин; фіксація проводилась через 5 годин.

При застосуванні вказаної формули припускалось, що ймовірність утворення хромосомних аберацій пропорційна відсотку клітин з хромосомними абераціями.

В таблиці 1 наведені результати експерименту на клітинах китайського хом’ячка по виявленню за допомогою цитогенетичного критерію залежності індукції адаптивної відповіді від дози попереднього опромінення при часі фіксації 5 годин. За наведеною вище формулою обчислено індекс адаптивної відповіді ().

Таблиця 1. Цитогенетичні пошкодження та індекс адаптивної відповідь при опроміненні клітин китайського хом’ячка в адаптуючій дозі 1 сГр, 5 сГр або 20 сГр і в дозі, що тестувалася, 100 сГр (час фіксації 5 годин)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Адаптуюча доза  , сГр | , | , | , | , |  |
| 0 | 8,4± 0,7 | - | 21,0 ± 0,9 | - | 1 |
| 1 | 8,4± 0,7 | 9,3 ± 0,8 | 21,0 ± 0,9 | 21,3 ± 1,1 | 1,1 |
| 5 | 8,4± 0,7 | 10,3 ± 1,0 | 21,0 ± 0,9 | 21,0 ± 1,0 | 1,2 |
| 20 | 8,4± 0,7 | 14,4 ± 1,0 | 21,0 ± 0,9 | 17,0± 0,9 | 2,2 |

За результатами обчислення індексу адаптивної відповіді видно, що в інтервалі адаптуючих доз від 1 сГр до 20 сГр та при подальшому застосуванні дози, що тестувалася, 100 сГр найбільший індекс *К* для клітин китайського хом’ячка відповідав адаптуючій дозі 20 сГр. В експерименті було зазначено, що збільшення величини адаптуючої дози  не давало зменшення кількості хромосомних аберацій, а, навпаки, підвищувало радіочутливість клітин, тобто ймовірність утворення аберацій зростала, а, отже, і індекс адаптивної відповіді знижувався до 1. В разі, коли адаптуюча доза не застосовувалась (), індекс також дорівнював одиниці.

Таким чином, питання біологічної дії низьких доз іонізуючих випромінювань має багато аспектів, серед яких одним з найважливіших є проблема, пов’язана з екстраполяцією ефектів, які викликають великі дози, на біологічні реакції після опромінення в області низьких доз. У теперішній час накопичується все більше експериментальних даних, які свідчать про неправомірність лінійної екстраполяції ефектів високих доз стресора на низькі і необхідності врахування наявності горметичних реакцій при розгляді низькодозових навантажень.

**Список джерел:**

1. Гродзинський Д.М., Шиліна Ю.В., Міхєєв О.М., Гуща М.І. Радіаційний гормезис – ретроспектива і сучасність. // Проблеми безпеки атомних електростанцій і Чорнобиля. 2005. Вип. 3. Ч.2. С. 17-28.

2. Moffett J.R. [Miasmas, germs, homeopathy and hormesis: commentary on the relationship between homeopathy and hormesis.](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20558603/) // Hum. Exp. Toxicol. 2010; 29(7): 539-43. doi: 10.1177/0960327110369855.

3. Tang S, Liang J, Xiang C, Xiao Y, Wang X, Wu J, Li G, Cheke RA. A general model of hormesis in biological systems and its application to pest management. // J. R. Soc. Interface. 2019;16(157):20190468. doi: 10.1098/rsif.2019.0468.

4. Сalabrese E.J., Baldwin L.A. Radiation hormesis: its historical foundations as a biological hypothesis // Hum. Exp. Toxicol. 2000. Vol. 19, No 1. P.41-75.

5. Петин В.Г., Морозов И.И., Кабакова Н.М., Горшкова Т.А. Некоторые эффекты радиационного гормезиса бактериальных и дрожжевых клеток // Радиационная биология. Радиоэкология. 2003. Т. 43, № 2. С.176-178.

6. Эйдус Л.Х., Эйдус В.Л. Проблемы механизма радиационного гормезиса // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41, № 5. С.627-630.

7. [Eric L. Kendig](https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1091581810363012), [Hoa H. Le](https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1091581810363012), [Scott M. Belcher](https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1091581810363012). Defining hormesis: evaluation of a complex concentration response phenomenon. // Int. J. Toxicol. 2010;29(3):235-246.  doi: 10.1177/1091581810363012.

8. [Bill Sacks](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Sacks+B&cauthor_id=30768437), [Gregory Meyerson](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Meyerson+G&cauthor_id=30768437). Linear No-threshold (LNT) vs. Hormesis: paradigms, assumptions, and mathematical conventions that bias the conclusions in favor of LNT and against hormesis // Health Phys. 2019;116(6):807-816. doi: 10.1097/HP.0000000000001033.

9.  [Calabrese](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Calabrese+EJ&cauthor_id=10745295) E.J., [Baldwin](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Baldwin+LA&cauthor_id=10745295) L.A. Radiation hormesis: the demise of a legitimate hypothesis. // Hum. Exp. Toxicol., 2000; 19(1): 76-84. doi: 10.1191/096032700678815611.

10. Siegel J.A., Pennington C.W., Sacks B. Subjecting radiologic imaging to the linear no-threshold hypothesis: a non sequitur of non-trivial proportion. // J. Nucl. Med. 2017; 58:1–6.

11. [Mitchel](https://journals.sagepub.com/doi/citedby/10.1080/15401420490507512) R. E. J. The Bystander Effect: Recent Developments and Implications for Understanding the Dose Response. // Nonlinearity in Biology, Toxicology, and Medicine. 2004;2(3):173–183. [doi.org/10.1080/15401420490507512](https://doi.org/10.1080%2F15401420490507512)

12. Broome EJ, Brown DL, Mitchel REJ. Adaption of human fibroblasts to radiation alters biases in DNA repair at the chromosome level. // Int J Radiat Biol. 1999;75:681–690.

13. Rothkamm K., Lubrich M. Evidence for a lack of DNA double-strand breake repair in human cells exposed to very low X-ray doses. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. Vol.100. №9. P. 5057-5062.

14. Мазурик В.К., Михайлов В.Ф. Радиационно-индуцируемая нестабильность генома: феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41, № 3. С. 272-289.

15. Шмакова Л.Н., Абу Зеид О., Фадеева Т.А., Красавин Е.А., Куцало П.В. Дозовая зависимость цитогенетических повреждений и адаптивный ответ клеток млекопитающих при действии ионизирующего излучения в малых дозах. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2000. Том 40. №4. С.405-409.