

AT 86 00 892

0EFZS--4377

November 1986

BL--597/86



Österreichisches Forschungszentrum

Seibersdorf

Genetische Strahlenwirkung und Reparaturmechanismen

Helga Tuschl

OEFZS-4377
BL-- 597/86

November 1986

GENETISCHE STRAHLENWIRKUNG UND REPARATURMECHANISMEN

Helga TUSCHL

Vortrag gehalten in der Ärztekammer in Wien am 7. Juni 1986
Fortbildungsreferat "Strahlen: Gefährdung, Folge-
erscheinungen. Therapiemöglichkeiten"
Proj.Nr. 11207

Österreichisches
Forschungszentrum Seibersdorf
Ges.m.b.H.
A-2444 Seibersdorf

INSTITUT FÜR BIOLOGIE
Forschungszentrum Seibersdorf

GENETISCHE STRAHLENWIRKUNG DER REPARATURMECHANISMEN

ZUSAMMENFASSUNG

Die DNA (= Desoxyribonukleinsäure) stellt das größte Molekül innerhalb der Zelle dar und wird daher auch am häufigsten durch direkte und indirekte Strahleneffekte getroffen. In der DNA ist die gesamte genetische Information gespeichert. Veränderungen am DNA Molekül bedingen, daß die Zelle ihre Funktionen nicht mehr voll erfüllen kann. Treten solche Veränderungen in Keimzellen auf, so wird die genetische Information an die Nachkommen in veränderter Form weitergegeben, es manifestiert sich eine Mutation, deren Folge bei höheren Lebewesen eine Erbkrankheit sein kann. In somatischen Zellen führen DNA Schäden zu Immundefizienzen und Krebs. Ausgelöst werden solche Veränderungen nicht nur durch ionisierende Strahlung, sondern auch durch ultraviolettes Licht, chemische Umweltfaktoren und selbst endogene Prozesse. Jede Zelle mußte daher Mechanismen entwickeln, mit deren Hilfe sie ihre genetische Integrität bewahren konnte. Es gilt heute als gesichert, daß jeder Organismus eine Reihe verschiedener DNA-Reparatursysteme besitzt, mit deren Hilfe er DNA Läsionen erkennen und Prämutationen beseitigen kann. Durch wiederholte Einwirkung niederer Dosen eines DNA schädigenden Agens - und hierher gehört auch die ionisierende Strahlung - ist sogar eine Adaptation möglich. Fehlerhafte oder verminderte DNA Reparatur, wie sie bei gewissen seltenen Erkrankungen vorliegt, ist stets mit der Disposition zur Entwicklung von Tumoren in den exponierten Geweben verbunden. Bei normal funktionierender DNA-Reparatur aber ist anzunehmen, daß die Kapazität der DNA Enzymsysteme bei weitem ausreicht, die Schäden, die durch niedere Strahlendosen induziert werden können, zu beseitigen.

GENETIC EFFECTS OF IONIZING RADIATION AND REPAIR PROCESSES

SUMMARY

Since DNA (= desoxyribonucleic acid) is the largest molecule within the cell it is the most important target for direct and indirect radiation effects. Within DNA the total genetic information is stored, thus damage to DNA in germ cells causes genetic disorders and damage in somatic cells is implicated in cancer and immunodeficiencies. Alterations of DNA structure are not only due to ionizing radiation effects, but also to spontaneous DNA modifications and damage from interactions with environmental ultraviolet light and chemical agents. To maintain its genetic integrity, each organism had to develop different repair systems able to recognize and remove DNA damage. Repeated exposure to a DNA damaging agent can even lead to adaptation processes and increased resistance to the same agent. At normal function of repair systems it can be assumed that the capacity of those systems is adequate to cope with the effects of low radiation doses.

GENETISCHE STRAHLENWIRKUNG UND REPARATURMECHANISMEN

Wir leben in einer Umwelt, von der permanent Einflüsse ausgehen, die eine Gefährdung unseres genetischen Materials darstellen. Ionisierende Strahlung, ultraviolettes Licht und eine Vielzahl chemischer Agenzien bedingen Veränderungen in der Desoxyribonukleinsäure (= DNA), die innerhalb kürzester Zeit unabsehbare Folgen hätten, wäre nicht jede Zelle imstande, die meisten dieser durch Umweltfaktoren bedingten Defekte sofort zu reparieren.

Der ionisierenden Strahlung war jedes Leben von anbeginn ausgesetzt. Kosmische Strahlung war, bevor um die Erde ein schützender Mantel aus Sauerstoff und Ozon entstand, wesentlich höher als heute. Zu dieser kosmischen Komponente kommt die terrestrische γ -Strahlung. Sie setzt sich zusammen aus der Strahlung der Nuklide, die in der Erdkruste vorhanden sind, und aus dem Beitrag derjenigen, die bei den Kernprozessen der kosmischen Strahlung mit den Molekülen der Luft erzeugt werden (^{40}K , Uran-Radium- und Thoriumreihe). Hinzu kommt die interne Bestrahlung durch Radionuklide, die im menschlichen Organismus vorhanden sind, sowie unsere zivilisatorisch bedingten Strahlenbelastungen. (Tab. 1).

Tabelle 1: UNSCEAR 1982 (1), durchschnittliche Strahlenbelastung in Österreich.

Kosmische Strahlung	35 mrem
Terrestrische Strahlung	43 mrem
Baustoffe	30 mrem
Inhalation von Rn-222	100 mrem
Medizinische Belastung	60 mrem
Ingestion (K-40, Po)	30 mrem
	<u>298 mrem</u>

Eine weitere Umweltkomponente mit mutagener Wirkung ist das ultraviolette Licht, in seiner unmittelbaren Wirkung auf die DNA ist es wesentlich wirksamer als ionisierende Strahlung. So entspricht Sonnenlicht gegenüber der definierten Wirkung einer künstlichen UV-Röhre von 254nm einer Äquivalenzdosis von $0.1 \text{ J m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ bei maximaler Einstrahlung, und erzeugt, würde es direkt von DNA in dieser Dosis absorbiert, 7 mal mehr DNA Schäden als 1 krad Röntgenstrahlung.

Die Veränderungen, die durch physikalische und chemische Noxen an der DNA ausgelöst werden können, sind sehr mannigfaltig. Die DNA stellt ein Riesenmolekül dar (Abbildung 1), und ist daher auch das primäre Target für jede Art von Strahlung in der Zelle.

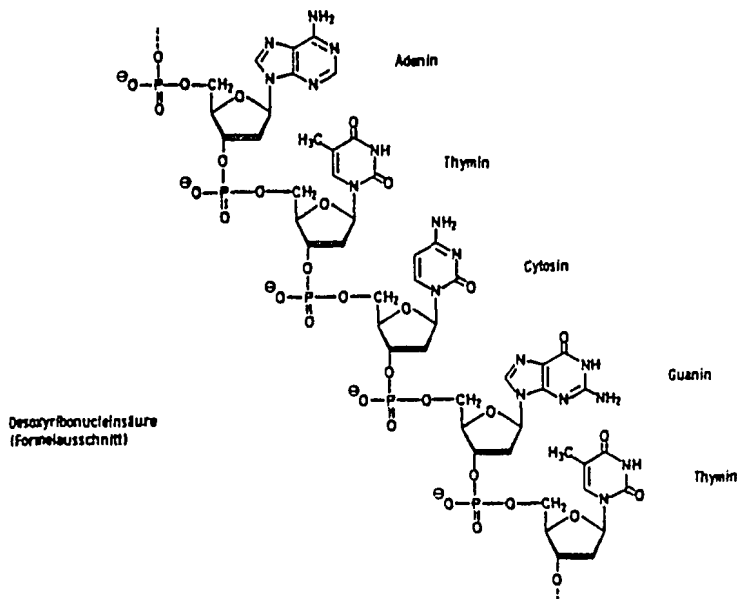
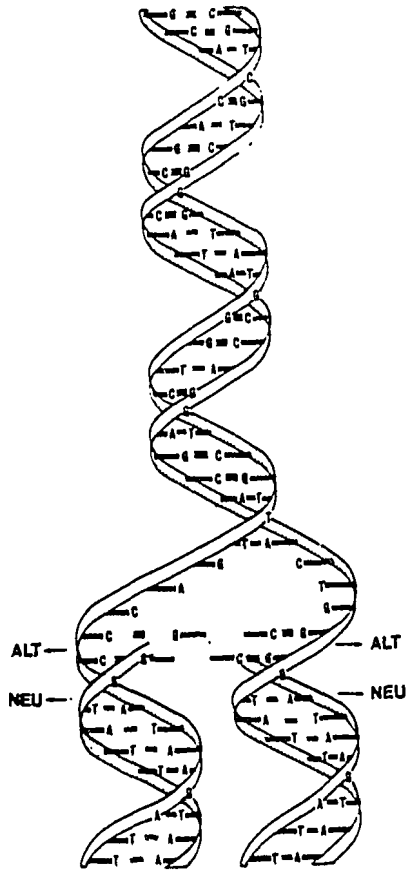


Abbildung 1

Sie hat ein Rückgrat, das von Zuckermolekülen gebildet wird, die durch Phosphodiesterbrücken miteinander verknüpft sind, und die vier Stickstoffbasen tragen, die in ihrer Abfolge den genetischen Code festlegen. Die DNA liegt in der Zelle als Doppelhelix vor, es handelt sich dabei um zwei einander komplementäre Stränge, die eine Doppelwendel bilden, die darüberhinaus eine komplexe Tertiärstruktur aufweist (Abbildung 2).

Abbildung 2:
Formelausschnitt,
DNA.



Ionisierende Strahlung führt in erster Linie zu einem Strangbruch in der DNA (Abbildung 3), und teilweisen Abspaltungen von DNA-Basen.

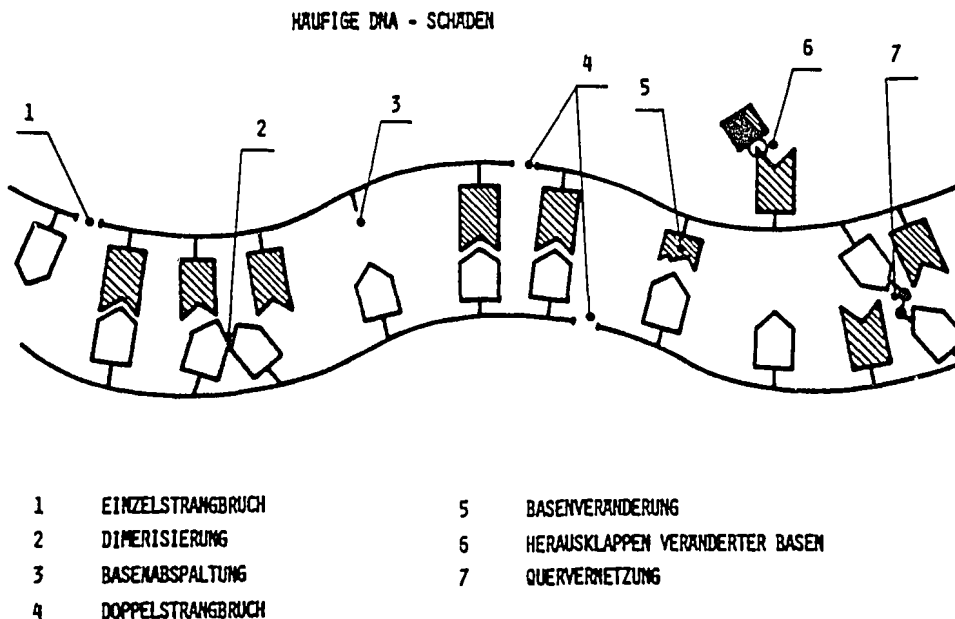


Abbildung 3: Häufige DNA-Schäden.

Verschiedene chemische Stoffe, sogenannte Alkylantien, bedingen Quervernetzungen der DNA-Stränge, während ultraviolettes Licht zu Dimerisierungen zwischen benachbarten DNA-Basen führt. Verbleiben solche Veränderungen in der DNA und werden bei einer nachfolgenden DNA-Synthese fixiert, so entstehen Mutationen. Diese Mutationen stellen zwar einerseits die Grundlage der Evolution dar, in 99,9% der Fälle ist eine Mutation aber für den Organismus von Nachteil. Um die Mutationsrate so gering als möglich zu halten und das Erbgut unverändert an die Nachkommen weiterzugeben, war jede lebende Zelle gezwungen, Mechanismen zu entwickeln, die Fehler in der DNA prompt erkennen und reparieren können. Neben der durch ionisierende Strahlung erzeugten Praemutationsschäden sind es vor allem die UV-induzierten Schäden, gegen die sich der Organismus vorsehen muß. So liegt die Mutationsrate für ultraviolette Strahlung bei der D_0 , d.i. jene Dosis, bei der etwa 37% der Zellen überleben, bei $1,8 \cdot 10^{-3}$, während sie für Röntgenstrahlung nur $1,8 \cdot 10^{-5}$ beträgt. Die ersten Hinweise für die Existenz einer Art genetischer Reparatur fand man in den 30iger Jahren an UV-bestrahlten E.coli Zellen. Es dauerte aber weitere 30 Jahre, bis der endgültige Nachweis für die Existenz von DNA-Reparatursystemen erbracht wurde. Daß der experimentelle Nachweis erst spät erbracht wurde, liegt auch

daran, daß in jeder Zelle die Reparatursysteme permanent arbeiten, auch ohne zusätzliche äußere Schädigung, und letztere daher ein entsprechend hohes Ausmaß haben muß, um zusätzlich meßbare Effekte zu erzielen. So weiß man, daß täglich 10.000 DNA-Basen spontan abgebaut und durch Reparatursysteme wieder korrigiert werden. Hinzu kommt, daß die Enzyme, die für die DNA-Synthese, i.e. die identische Reduplikation des DNA Moleküls, verantwortlich sind, mit relativ hoher Fehlerrate arbeiten.

Für die DNA Polymerase beträgt die Fehlerrate 10^{-6} ; auch diese Fehler werden durch ein proof-reading Enzym erkannt und repariert. Darüberhinaus entstehen Fehler während der Reparatur selbst und während DNA-Rearrangements, und werden auch durch clastogene Faktoren intern ausgelöst. Die DNA ist somit keineswegs das extrem stabile Molekül als das sie lange Zeit angesehen wurde, sondern die DNA Struktur ist äußerst dynamisch und ständigem Wechsel unterworfen. Gegenüber den 10.000/d reparierten DNA-Basen, die spontan in der DNA verändert werden, stehen nur 4 Brüche/Genom, die durch 1 rad Gammastrahlung hervorgerufen werden.

Entsprechend der verschiedenen Formen der DNA Schädigung gibt es eine Reihe verschiedener Reparatursysteme. Die einfachsten dieser Systeme bestehen in einer direkten Rückführung der DNA Läsion in die ursprüngliche, unveränderte Form. Hierher gehört die sogenannte Photoreaktivierung (Abbildung 4), die direkte Vereinigung von reinen Strangbrüchen durch Verknüpfung der beiden Strangenden, der Einsatz abgespaltener Purinbasen durch DNA Purin-Insertase (Abbildung 5) und die Reparatur von chemisch veränderten DNA Basen durch Alkyltransferasen.

PHOTO - REPAIR

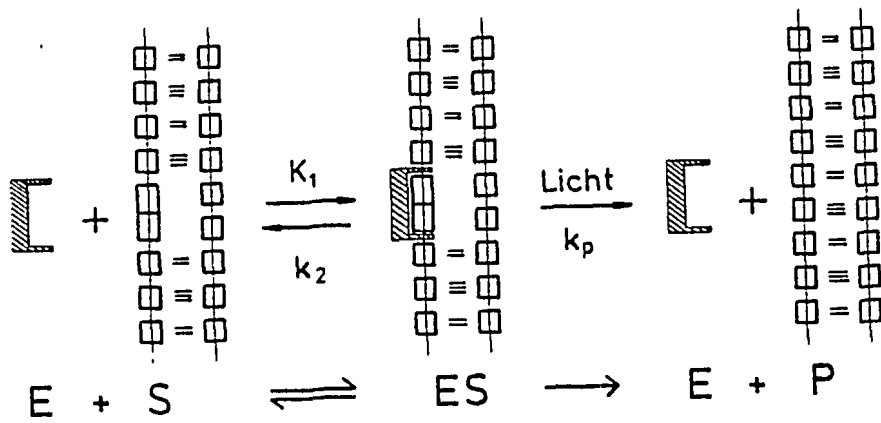


Abbildung 4: Photoreaktivierung: Das photoreaktivierende Enzym (= E) spaltet - unter Mitwirkung sichtbaren Lichtes - ein Thymin-dimer in seine Monomeren auf.

SHORT EXCISION REPAIR WAY

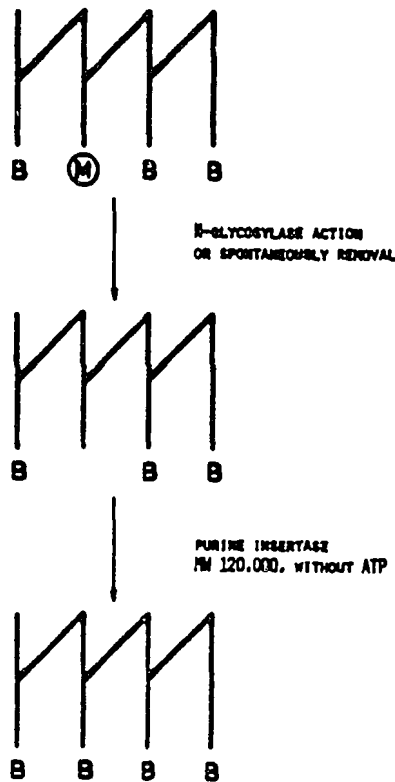


Abbildung 5: Abspaltung einer modifizierten Base und Einsatz durch Purin-Insertase.

Der Vorteil dieser Reparaturprozesse liegt darin, daß nur 1 Genprodukt erforderlich ist, wegen der Enzymspezifität eine hohe Sicherheitsrate für korrekte Reparatur gegeben ist und - mit Ausnahme der Alkyl-Transferasen - diese Reparatur energetisch günstig für die Zelle ist. Viel häufiger erfolgt die Reparatur aber in einem Mehrstufenprozeß. Hierher gehört die sogenannte Exzisionsreparatur. Liegen veränderte Basen vor, so werden diese durch eine Glykosylase abgespalten, durch eine AP-Endonuklease wird der DNA Strang eingeschnitten, und während eine Polymerase anhand des Komplementärstranges ein neues Strangstück synthetisiert, baut eine Exonuklease das defekte Strangstück ab (Abbildung 6 und 7).

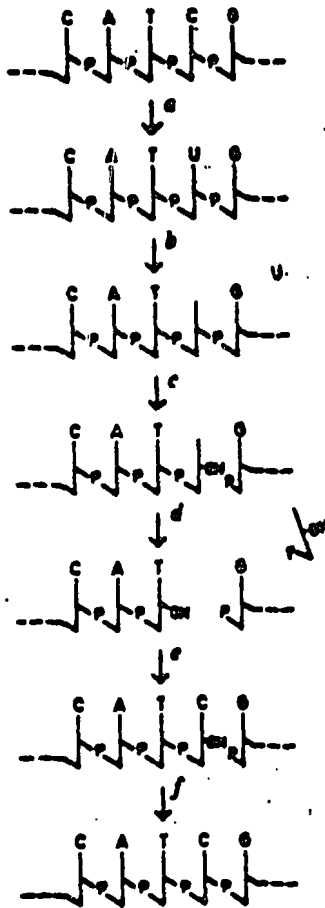


Abbildung 6: Basen-Exzisionsreparatur. Die modifizierte Base (U) wird abgespalten, nach der Fehlstelle in den DNA-Strang eingeschnitten und das fehlende Nucleotid durch das korrekte ersetzt.

Ähnlich erfolgt auch die Reparatur nach UV-Schädigung (Abbildung 7).

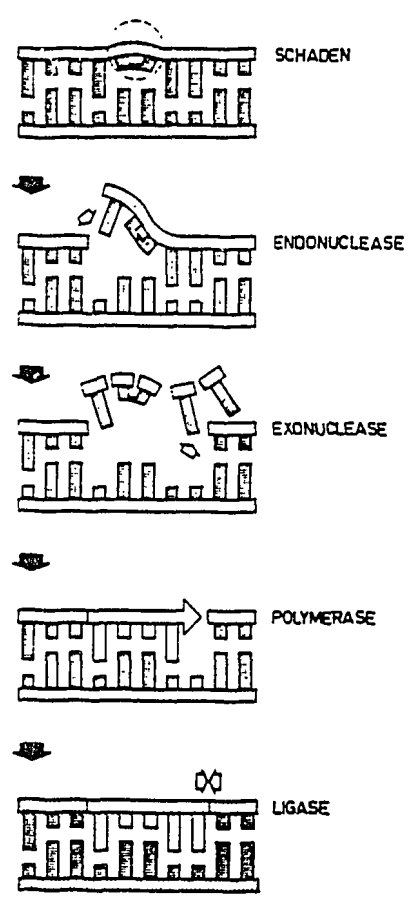


Abbildung 7: Nukleotid-Exzisionsreparatur.

Die Methoden, mit denen die DNA-Reparatur erfaßt wird, sind einerseits der Nachweis des Einbaues von DNA Vorstufen im Verlaufe der DNA Reparatursynthese, die auch als unprogrammierte Synthese der normalen replikativen DNA Synthese gegenübergestellt wird; weiters der Nachweis der DNA Strangbrüche und deren Wiedervereinigung durch Gradientenzentrifugation isolierter DNA oder Nukleoidsedimentation des Rohchromatins, die Eliminierung einstranhältiger und doppelsträngiger DNA durch alkalische Eluierung oder durch Chromatographie auf BND Zellulose.

Neben den bisher geschilderten Reparaturmechanismen besitzen die Zellen auch die Fähigkeit, Läsionen in der DNA zu tolerieren. Im allgemeinen stellen Fehler in der DNA ein Hindernis für den Ablauf der replikativen DNA Synthese dar. Sie können sowohl die Initiierung der Synthese verhindern, als auch die Replikation verlangsamen. Trotzdem besteht in gewissem Ausmaß auch die

Fähigkeit, solche Blockaden zu tolerieren. Im neu synthetisierten Strang liegt dann eine Lücke gegenüber der Fehlstelle des konservativen Strangs. Durch Rekombinationsprozesse kann diese Lücke geschlossen werden und anschließend wird der Fehler im neusynthetisierten Strang repariert (Abbildung 8).

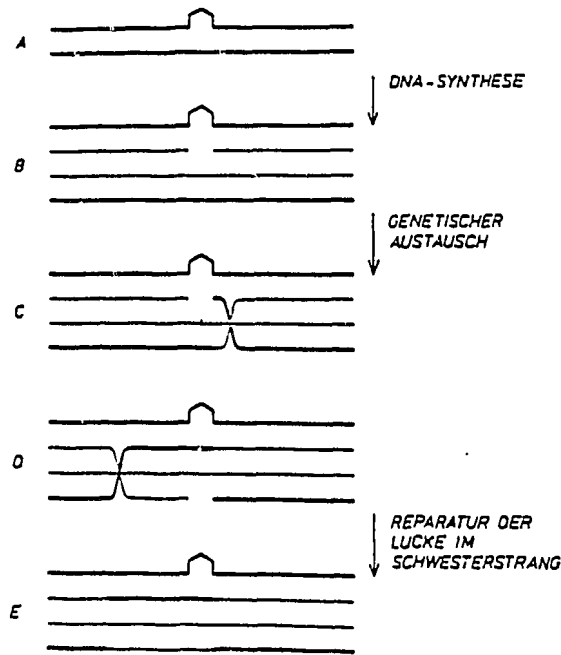


Abbildung 8: Postreplikationsreparatur.

Es sind aber auch induzierbare Vorgänge mit der Toleranz solcher verbliebener Schäden verbunden. In Bakterienzellen ist dieses Phaenomen schon seit längerer Zeit als sogenannte "Weigle" Reaktivierung bekannt. Weigle entdeckte, daß die Überlebensrate von Phagen nach UV-Bestrahlung stieg, wenn eine weitere Dosis auch dem Phagen-Bakterien-Komplex verabreicht wurde, oder nur das Bakterium UV-bestrahlt wurde, vor oder nach der Adsorption des Phagen. Er entdeckte aber auch, daß unter den so behandelten Phagen viele Mutanten waren.

Dieses Phaenomen kann nicht nur durch UV, sondern auch durch andere DNA Insulte ausgelöst werden. Da nicht einzusehen war, daß die Bakterienzellen dieses System nur zum Überleben eines Phagen entwickelten, wurde die Weigle Reaktivierung weiter untersucht und bald festgestellt, daß ihr ein für viele Zellen gültiges SOS-Repairsystem zugrunde liegt. Dieses SOS-Repairsystem

gewährleistet eine höhere Überlebensrate geschädigter Zellen auf Kosten einer Zunahme der Mutationsrate. In Bakterien erfordert die SOS-Induktion die Expression spezieller Gene, bekannt als *recA* und *lexA* Gene. Der Inducer für diese Gene wird dann synthetisiert, wenn die DNA-Replikation unterbrochen wird. Es handelt sich dabei um das sogenannte *recA* Protein, und die SOS-Induktion besteht in der spezifischen Aufhebung der Repression des *recA* Gens. Die hohe Mutationsrate, die mit dieser SOS-Funktion verbunden ist, wird damit erklärt, daß es zu einem sogenannten "long-patch" repair kommt, wenn DNA-Thymindimere auf entgegengesetzten Strängen eng benachbart liegen. Dann wird die Reparatur des einen Dimeren gehemmt, um die Entstehung eines letalen Doppelstrangbruches zu verhindern, die "Transdimerreparatur" führt dann zu einem besonders langen Reparirstück.

Auch in Säugerzellen wurde festgestellt, daß es eine Toleranz von DNA Läsionen gibt, daß eine Transläsionssynthese während der Replikation möglich ist. Auch in Säugerzellen gibt es eine Weigle-Reaktivierung UV-bestrahlter Viren durch Schädigung der Wirtszelle. Doch liegen die Fakten nicht so klar wie bei Bakterien. Vorallem wurde eine Abhängigkeit der Reaktivierung in erster Linie von der Häufigkeit der Infektion gefunden. Die Rolle eines bestimmten Proteins zur Aufhebung der Repressorfunktion eines Gens, wie es für die SOS-Funktion bei Bakterien typisch ist, konnte bisher nicht eindeutig belegt werden. Eine gewisse Funktion ist vielleicht dem Plasminogenaktivator zuzuschreiben, der in besonderem Maß synthetisiert wird, wenn nicht reparierte Schäden in der DNA vorhanden sind.

Wenn auch die Reparatursysteme im allgemeinen sehr effizient arbeiten, so gibt es doch Risikogruppen innerhalb der Bevölkerung, die, wie wir heute wissen, gewisse Reparaturdefizienzen aufweisen. Dazu gehören Patienten der autosomal rezessiven Krankheit Xeroderma pigmentosum, die eine erhöhte Sensitivität gegenüber UV-Strahlung aufweisen, die auf einen Defekt in der Exzisionsreparatur von UV-induzierten Thymindimeren zurückzuführen ist. Weiters kennen wir Ataxia telangiectasia (= AT) oder Louis-Bar-Syndrom: seine Inzidenz liegt bei 1 pro 40.000 Lebendgeburten. Betroffen sind das Nervensystem, das Immunsystem und die Haut.

Neuere Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß das AT-Gen für 5% aller Neoplasien verantwortlich ist, an denen Menschen unter 45 Jahren sterben. Bei Ataxia liegen vorallem polyploide und endoreduplizierte Chromosomen vor, nach Röntgenbestrahlung treten wesentlich mehr Brüche auf als bei gesunden Kontrollen. Den ersten Verdacht auf defiziente DNA Reparatur gab es, als man AT Patienten einer Strahlentherapie unterzog. Die Reparaturdefizienz bezieht sich wahrscheinlich nicht auf die Reparatur von DNA Strangbrüchen, sondern auf eine bestimmte Basenreparatur. Der auffallendste Unterschied gegenüber Normalzellen scheint aber darin zu bestehen, daß AT Zellen keine Verzögerung der DNA Synthese nach ionisierender Strahlung zeigen wie normale Zellen, daher Fehler replizieren, bevor sie durch Exzisionsreparatur behoben werden können.

Die Zellen von AT Patienten sind aber nicht hypermutabel durch ionisierende Strahlung. Die gehäufte Krebsentstehung ist somit nicht auf die Mutation in somatischen Zellen, sondern wahrscheinlich auf Defizienzen im Immunsystem zurückzuführen.

Eine zweite Gruppe von Patienten, die erhöhte Empfindlichkeit gegenüber ionisierender Strahlung zeigen, sind solche mit Retinoblastom. Allerdings wurde diese erhöhte Sensitivität bisher nur bei den genetisch praedisponierten Personen festgestellt, nicht bei jenen, die die Krankheit spontan entwickeln. Ein entsprechender Repairdefekt konnte bisher nicht nachgewiesen werden.

Reparatursysteme sind primär in allen Körperzellen vorhanden, gehen jedoch in ausdifferenzierten Endzellen, wie z.B. Granulozyten, verloren. Auch ist die Repairkapazität in verschiedenen Zellen verschieden hoch. So haben Leberzellen verschieden hohe Effizienz in der Reparatur vor ⁶O-Methylguanin - ein Schaden, der durch induzierbare Enzyme repariert wird. Die besonders hohe Wirksamkeit bestimmter Nitrosoverbindungen scheint darauf zu beruhen, daß der induzierte DNA Schaden, das ⁶O-Alkylguanin in Nervenzellen nicht genügend eliminiert werden kann und damit zur Entstehung von Tumoren führt. Trotz einer Fülle wissenschaftlicher Arbeiten zu diesem Thema ist der tatsächliche Zusammenhang zwischen der Entstehung von Krebs und der DNA Schädigung und ihrer Reparatur noch nicht bekannt. Sicher ist, daß

zwischen der neoplastischen Transformation von Zellen und Veränderungen der Genexpression durch Mutation ein enger Konnex besteht. Hinweise darauf gibt es mittlerweile viele: einerseits die repairdefizienten Krankheiten, die alle mit einer erhöhten Tumorrates im exponierten Gewebe einhergehen; andererseits sind auch die meisten co-carcinogenen Substanzen Hemmer der DNA Reparatorenzyme. Eine wesentliche Rolle wird heute in der Transformation von Zellen der sogenannten Poly(ADP-Ribose) zugeschrieben; ihr kommt auch eine wesentliche Funktion in der DNA Reparatur zu. Sie führt wahrscheinlich Veränderungen der Chromatinstruktur herbei, durch die es den Reparatorenzymen erst ermöglicht wird, Zutritt zur DNA zu erhalten, und scheint wesentlich die Genamplifizierung zu beeinflussen.

Der Mensch hat offensichtlich auch die Möglichkeit, sich an erhöhte Umweltradioaktivität anzupassen. Die ersten Hinweise darauf fanden wir bei Untersuchungen an strahlenbehandelten Tumorpazienten, die wir schon vor einigen Jahren gemeinsam mit Prof. Alth durchführten. Im Verlaufe der Therapie zeigte sich, daß die Fähigkeit der Zellen, sekundär in vitro erzeugte DNA Schäden zu reparieren, gesteigert war. Wir haben ähnliche Untersuchungen in der Folge an beruflich strahlenexponierten Personen wiederholt (2). Bei Personal aus dem Gasteiner Heilstollen zeigte sich deutlich, daß die Reparaturrate von in vitro gesetzten zusätzlichen DNA Schäden bei regelmäßiger Einfahrt in den Stollen erhöht ist. Gleiches fand sich an gering exponierten Personen aus dem Forschungszentrum Seibersdorf (Tabelle 2). Um zu sehen, ob diese Repairsteigerung mit korrekter DNA-Reparatur oder vielleicht doch mit verbleibenden Schäden in der DNA verknüpft ist, untersuchten wir auch die Schwesterchromatidaustausche (= SCEs) bei den betreffenden Personen (Tabelle 3) (3). SCEs sind ein besonders sensibler Parameter in bezug auf genotoxische Wirkungen; darüberhinaus erlauben induzierte SCEs eine Aussage über die Möglichkeit des Organismus, genetische Schäden auszureparieren, und die Feststellung besonders gefährdeter Personen mit defekten Reparaturmechanismen.

Tabelle 2:Reparatursynthese in peripheren Lymphozyten von beruflich strahlenexponierten Personen. Relativer Thymidineinbau/Zelle nach in vitro UV-Bestrahlung.

	Expositionsgruppe 4-14 mrad/Monat	Expositionsgruppe >14 mrad/Monat
Anzahl der untersuchten Personen	23	12
\bar{x} = 38.7		\bar{x} = 49.0
s.d. = 8.1		s.d. = 8.3

t-Test: Irrtumswahrscheinlichkeit <0.1%
(Unterschied hoch signifikant)

Tabelle 3: Spontan auftretende SCEs in Lymphozyten beruflich strahlenexponierter Personen.

	Gruppen	
	4-14 mrad/Monat	>14 mrad/Monat
n der Testpersonen	21	17
n der ausgewerteten Metaphasen	538	428
\bar{x} (SCEs pro Metaphase)	6.8	6.9
s (Streuung)	2.9	2.8

In der spontan auftretenden Rate von SCEs sind keine Unterschiede zwischen Kontrollen und exponierten Personen feststellbar. Setzt man einen zusätzlichen Schaden durch eine carcinogene Substanz, so findet man eine Abnahme gegenüber Kontrollen. Dies läßt den Schluß zu, daß die durch die Alkylierung induzierten DNA Schäden vollständiger repariert werden und daher weniger Austausch entstehen (Abb. 9).

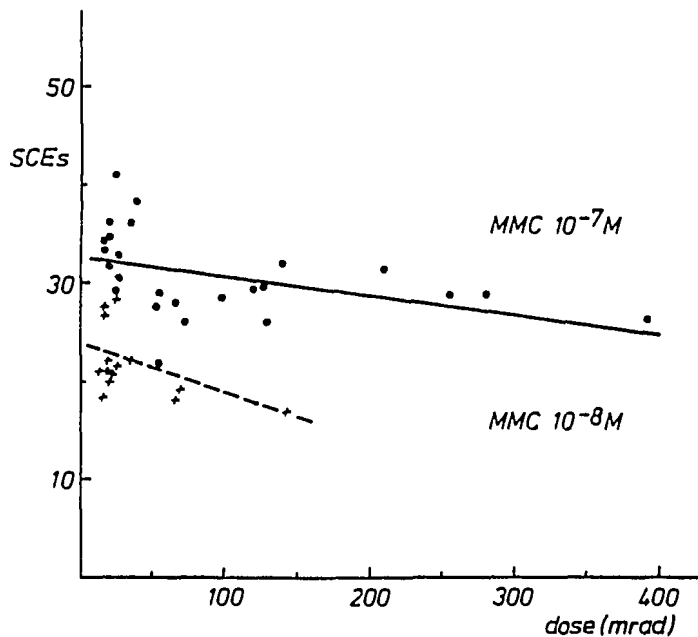


Abbildung 9: Mitomycin C induzierte SCEs. Die Anzahl der induzierten SCEs zeigt eine negative Korrelation mit der Expositionsdosis.

Zu ähnlichen Resultaten führten auch Untersuchungen von Olivieri et al. (4). Diese Autoren ließen ³H-Thymidin in menschliche Lymphozytenkulturen einbauen und bestrahlten diese Zellen anschließend mit 1.5 Gy. Sie fanden in den mit der radioaktiven Substanz vorbestrahlten Zellen weniger Chromosomenaberrationen als in unbehandelten Kontrollzellen. Vincze et al. (5) führten Tierexperimente mit niedrig dosierter Gammabestrahlung, dem Alkylans Methylmethansulfonat und Acetylaminofluoren durch. In allen Fällen konnten sie eine Zunahme der DNA-Reparaturkapazität bei einer erneuten DNA Schädigung nach der "Konditionierung" beobachten. Die Reparaturinduktion ging dabei parallel mit Erhöhungen der Aktivität der Poly(ADP-Ribose), jenem Cofaktor der DNA-Reparatur, der auch in Zelldifferenzierungs- und Transformationsprozesse involviert ist.

Gesicherte Daten über die direkte biologische Wirkung ionisierender Strahlung gibt es nur im Bereich hoher Strahlendosen. Daten über die Wirkung niederer Strahlendosen, i.e. jene Dosen, die der natürlichen Strahlenexposition des Menschen entsprechen (in diesen Bereich fallen auch jene Dosen, die durch die Belastung nach dem Reaktorunfall Tschernobyl zu erwarten sind), sind

äußerst spärlich. Soweit sie vorhanden sind, gehen sie auf Untersuchungen an den Atombombenopfern in Hiroshima und Nagasaki zurück und wurden durch die Extrapolation der Dosis-Wirkungsbeziehung von hohen auf niedrigere Dosen gewonnen. Nach den japanischen Daten ergibt sich eine starke Abhängigkeit der Krebsrate von der Höhe der erfolgten Strahlenexposition. Diese Effekte sind sogenannte somatische Spätschäden, die an Personen beobachtet werden, die die akute Strahlenbelastung überstanden haben und erst nach relativ langer Zeit krebskrank wurden. Während man die akuten somatischen Frühschäden den sogenannten nicht-stochastischen Schäden zuordnet, für die es eine deutliche Dosischwelle gibt und eine lineare Beziehung zwischen der Höhe der Dosis und dem Ausmaß ihrer Wirkung - ist die Erhöhung der Krebsrate ein stochastischer Schaden, d.h. die Höhe der Dosis bestimmt nicht die Wirkung beim einzelnen, sondern die Wahrscheinlichkeit des Auftretens des Schadens innerhalb einer Population.

Da die durch die Strahlenexposition induzierte Späterkrankung aber auch spontan, ohne Strahlenbelastung, in völlig gleicher Form auftreten kann, läßt sich die Wirkung der Bestrahlung nur statistisch, an Hand eines "Überschusses" an Fällen gegenüber Vergleichspopulationen ermesen.

Die wichtigste Frage dabei ist, wie die für hohe Dosen gefundenen Beziehungen auf niedrigere Dosen extrapoliert werden können. Den Empfehlungen der ICRP (Intern. Commission on Radiological Protection) liegt ein lineares Modell der Strahlenwirkungskurve zugrunde:

$$E = \alpha D$$

E = Häufigkeit des Auftretens einer Wirkung

D = Strahlendosis

α = Konstante

Dies bedeutet, mit einer Verdopplung der Dosis ginge auch eine Verdopplung des beobachteten Effektes einher. Es lassen sich Strahlenwirkungen aber auch durch eine sigmoidale Kurve darstellen; der ansteigende Teil der Kurve entspricht dann der Gleichung $E = \alpha D + \alpha_1 D^2$, also einer linear-quadratischen Beziehung.

Solche Kurven gelten vor allem für locker ionisierende Strahlen. Dies wird dadurch erklärt, daß Treffer in der DNA erst dann zur lethalen Wirkung führen, wenn sie eng benachbart sind, was bei dicht ionisierenden Strahlen häufig der Fall ist. Bei locker ionisierenden Strahlen werden zwei dicht benachbarte Treffer erst durch zwei voneinander unabhängige Quanten erzielt; somit ist die Wahrscheinlichkeit dieses Ereignisses dem Quadrat der Dosis proportional. Weiters ist der Verlauf der Dosiswirkungsbeziehung sehr stark von der Dosisleistung abhängig - je mehr Zeit zwischen zwei Treffern verstreicht, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, daß die Zelle den durch den ersten Treffer erzeugten Schaden bereits repariert hat, bevor der zweite Treffer zur Wirkung gelangt. Kleine Dosisleistungen rufen daher bei ein und derselben Dosis geringere Wirkungen hervor.

Obwohl die meisten Strahlenbiologen ihren Extrapolationen linear-quadratische Modelle zugrunde legen, hält die ICRP am linearen Modell fest, um im Zweifelsfall die ungünstigere Möglichkeit anzunehmen. Diese "konservative" Annahme führt zu einer Überschätzung des Risikos, die im Rahmen des Strahlenschutzes durchaus erwünscht ist (Abbildung 10).

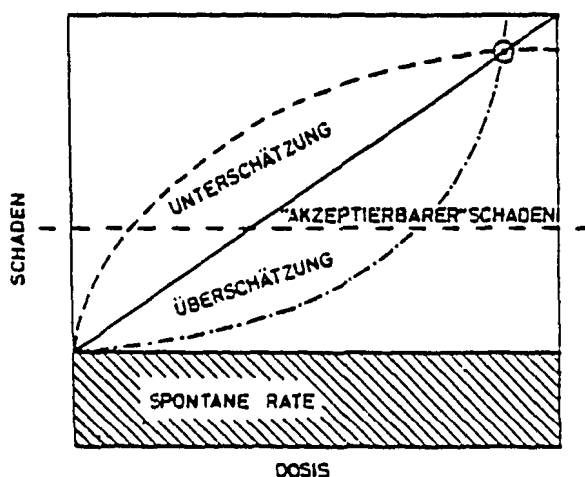


Abbildung 10: Einfluß verschiedener Dosiswirkungsbeziehungen auf die Risikoabschätzung (der "akzeptierbare" Wert ist hier als Verdopplung der natürlichen Inzidenz angenommen). Nach J. Kiefer. In: Biologische Strahlenwirkung. Springer, Berlin, 1981.

Im Bereich ökologisch realistischer Umweltstrahlung ist die Beobachtung und Messung biologischer Strahleneffekte äußerst schwierig. Die Extrapolation der für die geschilderten hohen Dosen erhaltenen Ergebnisse auf niedrigere Strahlendosen, setzt man nun eine lineare oder linear-quadratische Dosis-Wirkungsbeziehung voraus, bleibt immer hypothetisch.

Niemand würde versuchen, eine ähnliche Extrapolation für andere Agenzien als radioaktive Strahlung vorzunehmen. Während z.B. hohe Dosen von Insulin zur Hypoglykämie führen und in der Folge zu Gehirnschädigungen und lethalem Insulinschock, sind geringe Dosen lebensnotwendig. Gleiches gilt für alle Spurenelemente. Trotzdem herrscht die Meinung vor, Extrapolation von hohen Strahlendosen wäre ein legitimes Verfahren zur Abschätzung der Effekte niedrigerer Dosen, und für stochastische Strahlenschäden gäbe es keine Dosischwelle. Die Schwierigkeiten im Bereich niedrigerer Strahlendosen werden dann klar, wenn man sich vor Augen hält, daß man jede maligne Späterkrankung nur als "Überschuß" innerhalb einer strahlenexponierten Gruppe im Vergleich mit einer Kontrollgruppe erfassen kann, da sich strahleninduzierte Krebserkrankungen nicht von chemisch induzierten oder spontan auftretenden unterscheiden lassen. Die ICRP gibt als Risikofaktor für Leukämie $20 \cdot 10^{-6}$ pro rem an, d.h., würden 1 Mio. Menschen mit 1 rem bestrahlt, so wären 20 zusätzliche Leukämiefälle zu erwarten. Für kleinere Strahlendosen erhöht sich die Zahl der notwendigen Probanden sprunghaft, so daß einige Epidemiologen behaupten, daß aufgrund der Diskrepanz zwischen der Anzahl tatsächlich exponierter Individuen und der Zahl, die notwendig ist, statistisch signifikante Effekte zu demonstrieren, keine sinnvollen epidemiologischen Untersuchungen über die Wirkung niedrigerer Strahlendosen möglich sind (6).

Die Mitglieder des BEIR III (BEIR = "Advisory Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiation") Kommittees stellten einstimmig fest, daß der numerischen Erfassung des Krebsrisikos bei niedrigeren Strahlendosen drei Unzulänglichkeiten anhaften:

1. der Mechanismus der Krebsinduktion durch Strahlung ist nicht bekannt

2. die Dosis-Effekt Beziehungen aus epidemiologischen Studien sind höchst unsicher, besonders bei niederen Dosen
3. experimentelle Ergebnisse und theoretische Überlegungen lassen vermuten, daß es verschiedene Dosis-Wirkungsbeziehungen für verschiedene Krebsarten gibt.

Hinzu kommt eine Reihe von Arbeiten, die eine eindeutig negative Korrelation von Krebshäufigkeit und niederen Strahlendosen belegen. In Gebieten mit überdurchschnittlich hoher Umweltradioaktivität wurden wiederholt Krebssterblichkeiten unter dem normalen Durchschnitt gefunden (6, 7, 8). Auch an Hanford-Arbeitern wurde eine negative Korrelation zwischen der Krebshäufigkeit und niederen Expositions Dosen festgestellt (9). Eine Ausnahme bildet das maligne Myelom. In einer Reihe von Untersuchungen wurden aber gerade bei diesem Syndrom Imbalanzen im DNA Reparatursystem und in der Immunabwehr festgestellt (10, 11).

Neueste kanadische Untersuchungen an 40.000 strahlenexponierten Arbeitern erbrachten keine Korrelation zwischen der niederen Strahlenexposition und dem Auftreten von Krebs. Die Lebenserwartung lag sogar bei Strahlenarbeitern signifikant über jener der übrigen Bevölkerung (12).

Tierexperimente über die Tumorinduktion durch niedere Strahlendosen zeigten, daß in einigen Fällen sehr niedere Dosen zu einer Senkung der natürlichen Tumorinzidenz führen (13, 14). Nur wenige der bisher durchgeführten epidemiologischen Studien über die fraglichen Krebserkrankungen berücksichtigen den möglichen Einfluß anderer Umweltnoxen, wie Zigarettenrauch, Arzneimittel, Industriechemikalien, usw. Daher finden viele Fachleute, daß alle diese Studien nicht überzeugend sind, da sie darüberhinaus auch keine Schätzungen der tatsächlichen Strahlendosen liefern, und die eindeutig belegten Reparaturprozesse völlig außer acht lassen. In jedem Fall läßt sich mit Hutchinson (15) feststellen: "Das Risiko in der Größenordnung von 1 rad ist nur ein Bruchteil des "normalen" Krebsrisikos für eine Population, und es ist unwahrscheinlich, daß es sich von den Effekten der übrigen kanzerogenen Faktoren unserer Umwelt differenzieren läßt".

Es ist übrigens bemerkenswert, daß die Probleme, die für niedere Dosen ionisierender Strahlung gelten, auch für Spuren von Chemikalien zutreffen, ja sogar komplexer sind. Es gibt nur selten Angaben, wie ein bestimmter Stoff aufgenommen, im Organismus verteilt, abgebaut und ausgeschieden wird. Die Bedeutung von chemischen Umwelteinflüssen für die Krebsentstehung wird besonders deutlich, wenn man Vergleiche zwischen Tumorzahlfrequenz und Ernährungsgewohnheiten anstellt. Berufskrankheiten als Folge chemischer Einflüsse sind viel häufiger nachgewiesen als bei radioaktiver Exposition. Darüber hinaus werden durch Chemikalien induzierte DNA Schäden schlechter repariert als Strahlenschäden, ihre Reparatur ist wesentlich komplizierter und erfordert längere Zeit. Während strahleninduzierte DNA Strangbrüche teilweise innerhalb weniger Sekunden neu verknüpft werden, erfordert die Eliminierung von DNA Alkylierungen mehrere Stunden bis Tage. Eine Erhöhung des Strahlenpegels um wenige mrad wird von den Reparatursystemen ohne Schwierigkeit verkraftet, da ihre Kapazität für wesentlich höhere Strahlendosen ausreichen muß, berücksichtigt man die sehr unterschiedlichen Werte der Umweltradioaktivität auf der Erde. Da die meisten chemischen Carcinogene in der Natur bisher nicht oder nur in viel geringeren Konzentrationen vorkommen, konnten sich die DNA Reparatursysteme auch noch nicht voll an sie anpassen.

Nach allen bisherigen Erfahrungen scheinen sehr niedere Strahlendosen nur für jene Personen von Bedeutung, die bestimmten Risikogruppen mit defekter DNA Reparatur angehören.

LITERATUR

1. UNSCEAR - Ionizing radiation: Sources and Biological Effects. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. 1982 Report.
2. TUSCHL, H. et al.: Radiat.Res. 81, 1-9, 1980.
3. TUSCHL, H. et al.: Health Phys. 45, 1-7, 1983.
4. OLIVIERI, G. et al.: Science 223, 594-597 (1984).
5. VINCZE, J. et al.: In: DNS-Raparatur in klinischen Aspekten. Proc.Symp. Tengelic, 1983. Ed.: J.M. Balo-Banga. Budapest 1984, p. 171.
6. FRIGERIO, N.A. and STOWE, K.: In: Biological and Environmental Effects of Low Level Radiation. II. Proc.Symp.Chicago 1975, IAEA, Vienna, pp. 385-393, 1976.
7. HICKEY, K.J. et al.: Health Phys. 40, 625-641, 1981.
8. HIG: High Background Radiation Research Group, China, 1981. Sciences 209, 877-880, 1981.
9. DARBY, S.C. and REISSLAND, Y.A.: J.Roy.Stat.Soc., Ser. A, 144, 298-331 (1981).
10. WALDMANN, T.A. et al.: Federation Proc. 35, 2067-2972, 1976.
11. FRISCHAUF, H. et al.: SGAE-2383, BL-125, 1974.
12. ABBAT, J.O. et al.: Int.Symp. on Biological Effects of Low Level Radiation, IAEA-SM 266/9, Venice, 1983.
13. ULBRICH, R.L. et al.: Radiat.Res. 68, 115-131, 1976.
14. SPADLING, J.F. et al.: In: Late Biological Effects of Ionizing Radiation. Vol. II, IAEA, Vienna, 1978.
15. HUTCHINSON, G.B.: Cancer 37, 1102-1107, 1976.

OEFZS-Berichte

Herausgeber, Verleger, Redaktion und Hersteller:

Österreichisches Forschungszentrum Seibersdorf Ges.m.b.H.

A-2444 Seibersdorf, Tel. (02254) 80, Telex 014-353

Alle Rechte vorbehalten.