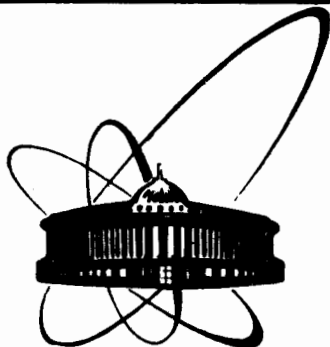


82-883



ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА



19-82-883

С.Козубек, Е.А.Красавин

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ
РАЗНОГО КАЧЕСТВА И РЕПАРАЦИЯ ДНК
(теоретический анализ).
ДЕЙСТВИЕ ИЗЛУЧЕНИЙ
НА БАКТЕРИИ *ESCHERICHIA COLI***

Индукция одностранных
и двустранных разрывов ДНК излучениями
с разной линейной передачей энергии

Направлено в журнал "Радиобиология"

1982

1. ТИПЫ ОР И ДР ДНК. ЗАВИСИМОСТЬ $N_{ор}(L)$ И $N_{др}(L)$

Ввиду того, что одностранные разрывы /ОР/ и двунитевые разрывы /ДР/ ДНК играют ключевую роль в летальном действии излучений, исследование закономерностей их образования при действии частиц с разной L имеет исключительно важное значение. Прежде чем приступить к рассмотрению зависимости выхода ОР и ДР от L , коротко коснемся вопроса индукции этих типов повреждений ДНК электромагнитными видами излучений.

Известно, что при действии γ -излучения количество первично индуцируемых ОР может сильно варьировать в зависимости от условий, при которых производилось определение повреждений. Репарация I у бактерий уже в процессе облучения клеток может существенно уменьшить количество определяемых ОР. Об этом свидетельствует ряд данных. В отличие от значений выходов ОР, равных $\sim 10^{-12}$ сГр $^{-1}$ дальтон $^{-1}$, полученных в экспериментах, где нельзя исключить влияния репарации I^{1,2/}, в^{3,4/} при облучении бактерий с высокой мощностью дозы и использовании методов сверхбыстрого лизиса клеток после облучения выявлены значительно большие величины выхода ОР, составляющие $\sim 10^{-11}$ сГр $^{-1}$ дальтон $^{-1}$. Такие же значения выходов ОР отмечены у роI А-мутантов, несущих дефект в системе репарации II-III, где выход ОР составляет $1,5 \cdot 10^{-11}$ сГр $^{-1}$ дальтон $^{-1}$ ^{1/1/}. Поскольку репарация I восстанавливает до 90% ОР, можно полагать, что в тех исследованиях, где выход ОР составляет величину порядка 10^{-12} сГр $^{-1}$ дальтон $^{-1}$, регистрируются не первичные ОР / γ -сайты/, а ОР₁, являющиеся субстратом репарации II. Более низкие значения выходов ОР $< 5 \cdot 10^{-13}$ сГр $^{-1}$ дальтон $^{-1}$ ^{1/8/} отражают, по-видимому, влияние репарации II.

Кинетика образования и репарации разных типов ОР, рассчитанная на основании ранее приведенных уравнений, представлена на рис.1. Как можно видеть, из первоначального количества γ -сайтов, составляющих 10^{-11} сГр $^{-1}$ дальтон $^{-1}$, восстанавливается значительная часть всех первично индуцируемых повреждений за счет функционирования репараций I, II и III. Причем большая часть этих повреждений восстанавливается за короткий промежуток времени, что может сильно сказываться на величинах выходов ОР, определяемых в эксперименте.

ДР ДНК, как отмечено выше, могут иметь разное происхождение: прямые ДР, образующиеся при прохождении ионизирующей частицы через комплементарные участки ДНК, и энзиматические, возникающие в результате деградации ДНК. Механизм индукции ЭДР был нами рас-

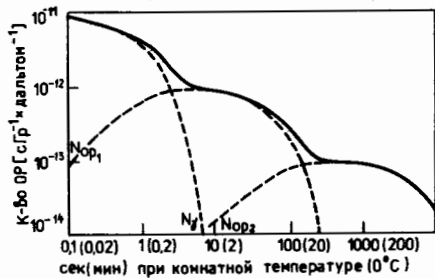


Рис.1. Динамика индукции и репарации ОР ДНК при разных температурах инкубации клеток, рассчитанная по кинетическим уравнениям /1/-/3/. Пунктиром отмечена динамика первичных γ -сайтов, OR_1 и OR_2 в пострадиационный период. По оси абсцисс: время пострадиационной инкубации клеток при комнатной температуре - секунды и при $0^\circ C$ /цифры в скобках/ - минуты; по оси ординат: количество ОР, $сГр^{-1}$ дальтон $^{-1}$.

смотрен в предыдущем сообщении. Прямые же ДР можно разделить на два типа: к первому следует отнести повреждения двух противоположных нитей ДНК или с деструкцией строго комплементарных участков, или находящихся на небольшом расстоянии друг от друга /~ 6 нуклеотидов^{6/}. Второму типу ПДР соответствуют "косые" ДР, когда в результате прохождения частицы между двумя повреждениями в комплементарных нитях ДНК имеется большее расстояние, достигающее 20 нм /~ 60 нуклеотидов/. Как будет показано ниже, 20 нм - это расстояние, на котором теряется наибольшее количество энергии при прохождении частицы через молекулу ДНК. И в первом и во втором случаях первичные γ -сайты, составляющие потенциальные ДР и имеющие лигазоспецифические концы, могут быть восстановлены репарацией I и II^{7/}. Однако с лигазой активно конкурируют нуклеазы, приводящие к образованию коротких перекрывающихся брешей. При таком характере повреждений функция гена А-гена, связанная с синтезом "Х"-белка - ингибитора экзонуклеазы V, очевидно, не может осуществляться достаточно быстро, поскольку противоположные γ -сайты располагаются на большом расстоянии друг от друга и деградации подвергаются небольшие участки ДНК. По-видимому, в этом случае клетка "не успевает" выработать "Х"-белок, синтез которого сопряжен со взаимодействием большого количества структурных и регулярных генов, и связать концы ОР ДНК, в результате чего короткие брешы в ДНК перекрываются с образованием ДР. В связи с этим ПДР второго типа в определенном смысле также являются энзиматическими ДР.

В отличие от обширного фактического материала о выходе ОР и ДР ДНК при действии электромагнитных излучений информация, касающаяся индукции этих видов повреждений излучениями с высокой L, крайне ограничена^{8-10/}. Имеющиеся данные свидетельствуют о различном характере зависимости выхода ОР и ДР ДНК от L. Так, например, в экспериментах с ДНК, выделенной из фага $\phi X 174$ и облученной частицами с разной L, показано^{10/}, что выход ОР максимален при действии электромагнитных излучений

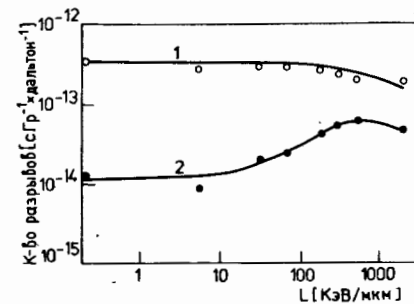


Рис.2. Зависимость выхода одностранных /о/ и двунитевых /•/ разрывов ДНК от L для фага $\phi X-174$ ^{10/}. По оси абсцисс: ЛПЭ, кэВ/мкм; по оси ординат: количество разрывов, $сГр^{-1}$ дальтон $^{-1}$.

и постепенно уменьшается с возрастанием L /рис.2, кривая 1/. В отличие от этого, зависимость $N_{др}(L)$ описывается кривой с максимумом /кривая 2/. Характерные особенности кривых $N_{ор}(L)$

и $N_{др}(L)$ объясняются физической природой энерговыделения излучениями с возрастающими значениями. Если для индукции ОР ДНК достаточно возникновения одной ионизации в нити ДНК^{8,11/}, то выделение большего количества энергии в этой области является избыточным, что отражается в монотонном падении кривой $N_{ор}(L)$. В отличие от этого, индукция ПДР предполагает необходимость большего энерговыделения в двунитевой ДНК для разрыва обеих комплементарных нитей. С повышением L частота образования таких событий возрастает до некоторой величины, а с дальнейшим повышением L, так же, как и для ОР, отмечается избыточность энерговыделения в нитях ДНК, сопровождаемая уменьшением выхода ДР.

Рядом авторов были предприняты попытки модельного описания полученных закономерностей с позиций микродозиметрических распределений поглощенной энергии^{11,12/}. Рассмотрим более подробно некоторые из них, наиболее заслуживающие внимания.

В^{11/} для описания выхода ОР и ДР ДНК от L используется микродозиметрическое распределение $f_1(z)$, где z - удельная энергия, выделенная в мишени в виде цилиндра единичной длины диаметром 2,2 нм, соответствующего размеру ДНК, z соответствует определенному количеству ионизаций $j = z/\epsilon_0$, где ϵ_0 - энергия, затрачиваемая на одну ионизацию / $\epsilon_0 = 60$ эВ/. Предполагается, что выделение такого количества энергии в данном цилиндре с вероятностью λ_j приводит к образованию ОР или ДР. λ_j приобретает значения от 0 до 1 и возрастает с увеличением j. λ_j описывается с использованием трех произвольных параметров, отличающихся для ОР и ДР и подобранных для наилучшего описания экспериментальных данных. Из этих предпосылок следует:

$$s_0 = \frac{1}{z_F} \sum_{j=1}^{\infty} \lambda_j f_1(j), \quad /1/$$

где s_0 - выход ОР или ДР ДНК, z_F соответствует среднему числу ионизаций в мишени. Данная модель учитывает лишь физические закономерности энерговыделения в мишени разными типами излучений, а λ_j не имеет реальной биофизической интерпретации.

В^{12/} предпринята попытка моделирования выхода ОР и ДР ДНК с учетом особенностей энерговыделения в сердцевине трека заряженной частицы и области δ -электронов. Предполагается, что при пересечении мишени сердцевинной трека с определенной вероятностью, пропорциональной L , образуются ОР. Допускается, что ДР могут образоваться или из двух ОР на комплементарных участках при пересечении сердцевинной трека двунитевой ДНК, или же с некоторой вероятностью возникать в результате образования одной ионизации в пределах мишени - молекулы ДНК. На основе этих предположений были вычислены зависимости выхода ОР и ДР от L сердцевинной трека (L_{Δ}). Область δ -электронов в этом случае рассматривается как отдельный вид излучения со средним значением $L \approx 20$ кэВ/мкм, индуцирующим ОР и ДР с теми же вероятностями на одну ионизацию. Конечный выход ОР и ДР при прохождении частицы через мишень диаметром 2 нм принимается как сумма разрывов от сердцевинной трека и области δ -электронов, вклад которых определяется из отношения ионной и δ -электронной компонент доз к полной дозе. На основании этой модели удалось удовлетворительно описать экспериментальные данные по выходу ОР и ДР ДНК при разных значениях L . Вместе с тем, целый ряд данных, полученных в последнее время, невозможно объяснить в рамках рассмотренных моделей. Прежде всего это касается недавно обнаруженного механизма индукции энзиматических ДР у бактерий.

В связи с этим нами предпринята попытка модельного описания зависимости $N_{ОР}(L)$ и $N_{ДР}(L)$ с учетом механизма индукции ЭДР ДНК. Прежде, чем приступить к изложению представлений, лежащих в основе нашей модели, рассмотрим некоторые особенности энерговыделения в треке тяжелой заряженной частицы.

2. ОСОБЕННОСТИ РАДИАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОГЛОЩЕННОЙ ЭНЕРГИИ /РРПЭ/ В ТРЕКЕ ЗАРЯЖЕННОЙ ЧАСТИЦЫ

Как известно, универсальной микродозиметрической характеристикой распределения поглощенной энергии (z) для разных микрообъемов является функция $f_1(z)$ ^{13/}. Однако в ряде случаев удобно использовать концепцию РРПЭ в треке частиц^{14,15/}. В^{15/} приводится достаточно полная для наших целей /~3%/ аппроксимация РРПЭ в ткани:

$$D(r, E) = \begin{cases} 8,2 \cdot 10^{-4} (1-k) \cdot L(E), & r < r_{\min} = 2,5 \text{ нм}, \\ 5,0 \cdot 10^{-6} \cdot E^{-1,06} r^{-2} \cdot z_{\text{эфф}}^2, & r_{\max} \geq r \geq 2,5 \text{ нм}, r_{\max} = 40 \cdot E^{1,75}, \end{cases} \quad /2/$$

где r - расстояние от геометрической оси трека; r_{\max} - максимальный радиус трека, определяемый пробегом δ -электронов с максимальной энергией; r_{\min} - радиус сердцевинной трека; E - энергия частицы, МэВ/нуклон; z - эффективный заряд иона,

равный $z_0(1 - e^{-125\beta z_0^{-2/8}})$, z_0 - заряд частицы, β - отношение скорости частицы к скорости света в вакууме; k - доля суммарной энергии, выделяемой δ -электронами вне сердцевинной трека; $D(r; E)$ - локальная доза, сГр.

Величина k определяется размером сердцевинной трека /минимальной энергией δ -электронов, которая принимается равной 100-200 эВ/ и составляет для 200 эВ значение, равное 0,4 при $E = 3-25$ МэВ/нуклон. Показано^{15/}, что доля энергии, уносимая δ -электронами из сердцевинной трека, постоянна в широком диапазоне энергий налетающих частиц.

/2/ позволяет провести следующую нормировку:

$$L(E) = \int_0^{r_{\max}} D(r, E) \cdot 2\pi r \cdot dr. \quad /3/$$

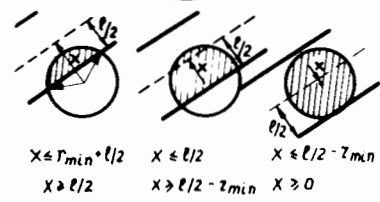
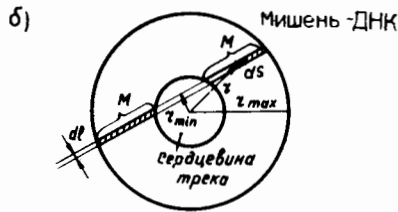
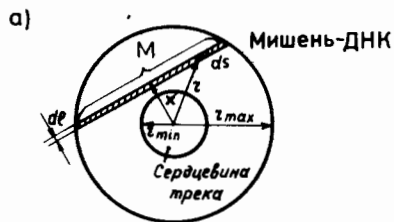
3. ЭНЕРГИЯ, ВЫДЕЛЯЕМАЯ ЧАСТИЦЕЙ В ЛИНЕЙНОЙ МИШЕНИ

Используя концепцию РРПЭ, проведем оценку доли энергии, выделяемой частицей на единицу длины трека в мишени, имеющей поперечный размер (ℓ) двунитевой молекулы ДНК, и находящейся на расстоянии x от геометрической оси трека /рис.3/. Вычислим вначале долю энергии, передаваемую δ -электронами (y_{δ}) и сердцевинной трека (y_{Δ}) в мишени толщиной ω , а затем путем интегрирования произведем расчет и для мишени толщиной ℓ .

а/ Энергия передаваемая δ -электронами в мишени при условии $x > r_{\min}$

С учетом того, что количество энергии, выделяемое в треке заряженной частицы, изменяется с квадратом расстояния от геометрической оси трека, доля энергии на участке dS /рис.3а/, находящемся на расстоянии от оси трека, будет пропорциональна $1/r^2$. Долю энергии, переданной δ -электронами в мишени, можно вычислить как:

$$y_{\delta} = \frac{\int_M \frac{1}{r^2} dS}{\int_{r_{\min}}^{r_{\max}} \frac{1}{r^2} 2\pi r \cdot dr}. \quad /4/$$



в) $l \geq 2 \cdot r_{\min}$

Рис.3. К расчету количества энергии, передаваемой линейной мишенью δ -электронами /а, б/ и сердцевинной трека частицы /в/:

а/ $x \geq r_{\min}$. В элементарной площади ds выделяется энергия пропорционально $1/r^2$. М - часть мишени, лежащая в области δ -электронов трека; б/ $x \leq r_{\min}$. М - часть мишени, лежащая в области δ -электронов, за исключением фрагмента мишени, приходящегося на сердцевину трека; в/ геометрия расчета доли энергии, передаваемой мишени сердцевинной трека частицы, при условии $l \geq r_{\min}$.

Вычисляя /4/, получаем для $x > r_{\min}$:

$$y_1^\delta(x) = \frac{\frac{2dl}{x} \cdot \arctg \sqrt{\left(\frac{40 \cdot E^{1,75}}{x}\right)^2 - 1}}{2 \cdot \pi \cdot \ln \frac{40 \cdot E^{1,75}}{r_{\min}}}$$

Поскольку δ -электроны уносят только часть энергии (k) от полной энергии, выделяемой в треке частицы, величина $y_2^\delta = y_1^\delta \cdot k$ представляет собой долю энергии, сорбируемой в мишени при $x > r_{\min}$:

$$y_2^\delta(x) = \frac{\frac{2dl}{x} \cdot \arctg \sqrt{\left(\frac{40 \cdot E^{1,75}}{x}\right)^2 - 1}}{2 \cdot \pi \cdot \ln \frac{40 \cdot E^{1,75}}{r_{\min}}} \cdot k \quad /5/$$

б/ Энергия, передаваемая δ -электронами мишени при условии $x < r_{\min}$

Аналогично /4/-/5/, вычислим y_2^δ при $x < r_{\min}$ /рис.3б/:

$$y_2^\delta(x) = \frac{\frac{2dl}{x} \cdot \arctg \sqrt{\left(\frac{40 \cdot E^{1,75}}{x}\right)^2 - 1} - \arctg \sqrt{\left(\frac{r_{\min}}{x}\right)^2 - 1}}{2 \cdot \pi \cdot \ln \frac{40 \cdot E^{1,75}}{r_{\min}}} \quad /6/$$

Так как в /4/-/5/ мы использовали приближение $dl \approx l$, в общем случае необходимо проинтегрировать y от $x - l/2$ до $x + l/2$:

$$y^\delta(x) = \int_{x-l/2}^{x+l/2} y_2^\delta(l') dl' \quad /7/$$

в/ Энергия, передаваемая мишени сердцевинной трека /в предположении $l \geq r_{\min}$ /

Рассмотрим четыре случая /рис.4в/:

$x > r_{\min} + l/2$, откуда следует, что

$$y_\Delta(x) = 0; \quad /8/$$

$l/2 < x < l/2 + r_{\min}$. В этом случае доля энергии, передаваемой мишени, может быть вычислена по соотношению площадей:

$$y_\Delta(x) = \frac{1}{\pi} \left[\arccos \frac{x_0}{r_{\min}} - \frac{x_0}{r_{\min}} \sqrt{1 - \left(\frac{x_0}{r_{\min}}\right)^2} \right] \cdot (1-k), \quad /9/$$

где $x_0 = l/2 - x$;

$l/2 - r_{\min} < x < l/2$. При этом условии:

$$y_\Delta(x) = \frac{1}{\pi} \left[\pi + \frac{x_0}{r_{\min}} \sqrt{1 - \left(\frac{x_0}{r_{\min}}\right)^2} - \arccos \frac{x_0}{r_{\min}} \right] \cdot (1-k), \quad /10/$$

где $x_0 = l/2 - x$;

$x < l/2 - r_{\min}$. В этом случае:

$$y_\Delta(x) = 1 - k. \quad /11/$$

Суммарное количество энергии (y), передаваемое мишени, получим как сумму энергий, выделяемых δ -электронами и сердцевинной трека:

$$y(x) = y^\delta(x) + y_\Delta(x). \quad /12/$$

г/ Распределение энергии $y(x)$ внутри мишени

Очевидно, что максимальное количество энергии передается участку, лежащему наиболее близко к геометрической оси трека, и уменьшается с увеличением этого расстояния. Поскольку РРЭ в треке частицы изменяется по квадрату расстояния от геометрической оси трека частицы, доля энергии (f), выделяемая δ -

электронами до расстояния r в линейной мишени, в предположении, что геометрические оси мишени и трека пересекаются, равна:

$$f(E) = \frac{40 \cdot E^{1,75} \cdot (r - r_{\min})}{(40 \cdot E^{1,75} - r_{\min}) \cdot r} \quad /13/$$

При условии, что $40 \cdot E^{1,75} \gg r_{\min}$, получаем:

$$f(E) = \frac{r - r_{\min}}{r} \quad /14/$$

Из /14/ следует, что в пределах ~ 10 нм выделяется приблизительно 75% энергии δ -электронов, и именно в этой области РРПЗ трека можно ожидать преимущественного образования ПДР ДНК.

Таким образом, мы рассмотрели особенности индукции разных типов ОР и ДР ДНК излучениями с возрастающими значениями L . С учетом структуры трека ионизирующих частиц были проведены расчеты энерговыделения в линейной мишени, соответствующей поперечному размеру молекулы ДНК. Вышеизложенное является предпосылкой для построения модели образования ОР и ДР ДНК в зависимости от L .

ЛИТЕРАТУРА

1. Bonura T., Youngs D.A., Smith K.C. Int.J.Radiat.Biol., 1975, 28, p. 539-548.
2. Wilkins R.J. Int.J.Radiat.Biol., 1971, 20, p. 497-500.
3. Johansen J., Boye E. Nature, 1975, 255, p. 740-742.
4. Johansen J. et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1975, 72, p. 167-171.
5. Cramp W.A. et al. Int.J.Radiat.Biol., 1976, 29, p. 385-389.
6. Дертингер Г., Юнг Х. Молекулярная радиобиология, Атомиздат, М., 1973.
7. Петров С.И. В кн.: Повреждение и репарация ДНК. Изд. Института биологической физики АН СССР, Пущино, 1980, с. 114-128.
8. Ritter M.A., Cleaver J.E., Tobias C.A. Nature, 1977, 266, p. 653-655.
9. Kampf G., Tolkendorf E. Studia Biophysica, 1980, 78, p. 1-10.
10. Christensen R.C. et al. Int.J.Radiat.Biol., 1972, 22, p. 457-477.
11. Günter K. et al. Studia Biophys., 1977, 61, p. 163-209.
12. Обатуров Г.М. Радиобиология, 1979, 19, с. 163-170.
13. Иванов В.И., Лысцов В.Н. Основы микродозиметрии, Атомиздат, М., 1979.
14. Buttes J.J., Katz R. Radiat. Res., 1967, 30, p. 855-871.
15. Кудряшов Е.И. и др. В кн.: Вопросы микродозиметрии. Труды первого Всесоюзного совещания по микродозиметрии. Атомиздат, М., 1973, с. 49-55.

Рукопись поступила в издательский отдел
20 декабря 1982 года.

Козубек С., Красавин Е.А. 19-82-883
Биологическая эффективность ионизирующих излучений разного качества и репарация ДНК /теоретической анализ/. Действие излучений на бактерии *E.coli*.

Индукция одностранных и двустранных разрывов ДНК излучениями с разной линейной передачей энергии

Рассматриваются особенности индукции одно- и двустранных разрывов /ОР и ДР/ ДНК и *E.coli* излучениями, различающимися по величине линейной передачи энергии (L). Проведен анализ энерговыделения частицами с разной L в линейной мишени, соответствующей поперечному размеру молекулы ДНК. Рассчитывается доля поглощенной энергии от δ -электронов с учетом квадратичной зависимости энерговыделения в треке частицы. Предполагается конечный размер сердцевины трека и делается расчет доли поглощенной энергии.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1982

Kozubek S., Krasavin E.A. 19-82-883
Biological Effectiveness of Ionizing Radiations of Different Quality and the Repair of DNA Damage (Theoretical Analysis). The Effect of Ionizing Radiations on Bacteria *Escherichia Coli*. Induction of DNA Single and Double Strand Breaks by Radiations of Different Linear Energy Transfer

The characteristics of DNA single and double strand break (SSB and DSB) production by radiations of different LETs in *E. coli* are considered. Utilizing quadratic dependence of the dose that δ -electrons depart in the track of heavy particles the fraction of δ -electron energy in the target with DNA dimensions has been calculated. The core of a track is assumed to have finite dimensions and its contribution to the energy absorbed in the given target has been obtained by means of simple geometrical relations.

The investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problem, JINR.
Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1982

Перевод О.С.Виноградовой.