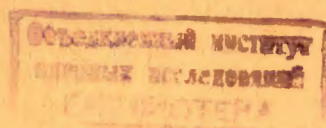


**СООБЩЕНИЯ
ОБЪЕДИНЕННОГО
ИНСТИТУТА
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА**



19-82-928

С.Козубек, Е.А.Красавин

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

**Модель образования
однонитевых и двухнитевых разрывов ДНК
излучениями с разной ЛПЭ**

В последнее время накапливается все большее количество данных, свидетельствующих о том, что при γ -облучении клеток *E. coli* наряду с прямыми двухнитевыми разрывами /ПДР/ ДНК индуцируются и энзиматические ДР /ЭДР//^{1/}. Считается, что ПДР возникают вследствие разрыва двух оппозитных нитей ДНК в участках или строго комплементарных друг другу, или же разделенных небольшим числом пар нуклеотидов /"косые" ДР/. ЭДР же образуются из перекрывающихся брешей, возникающих при расщеплении поврежденных ДНК в результате действия репарационных ферментов. Имеются основания полагать, что выход ЭДР при γ -облучении клеток весьма существен. В то же время при действии плотниоизирующих излучений, по-видимому, увеличивается выход ПДР /2/.

На основании известных закономерностей энерговыделения в треке заряженных частиц, а также особенностей индукции и репарации разных типов повреждений ДНК клеток возможно построение модели образования ОР и ДР ДНК при действии излучений, различающихся по ЛПЭ (L).

МОДЕЛЬ ОБРАЗОВАНИЯ ОР И ДР ДНК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ L

Обозначим w вероятность возникновения повреждения, приводящего к образованию OP_1 на одной нити ДНК в результате одного акта передачи энергии / $\epsilon_0 = 60$ эВ/. Среднее количество таких повреждений (\bar{n}) при прохождении частицы с прицельным параметром x через мишень со средней эффективной толщиной $\bar{l}_{эфф}$ будет:

$$\bar{n} = \frac{w \cdot \bar{l}_{эфф}}{\epsilon_0} \cdot \frac{y \cdot L}{2} \quad /1/$$

Предположим, что OP_1 образуется, если в одной цепи двухнитевой молекулы ДНК имеется хотя бы одно повреждение. Вероятность того, что в этом случае не возникает OP_1 , будет $e^{-\bar{n}}$, и вероятность образования OP_1 равна $(1 - e^{-\bar{n}})$. Среднее число OP_1 , образующихся в двухнитевой ДНК (\bar{n}_{OP_1}) при таком событии, в два раза больше:

$$\bar{n}_{OP_1}(y) = 2 \cdot (1 - e^{-\frac{w \cdot \bar{l}_{эфф} \cdot y \cdot L}{2 \cdot \epsilon_0}}) \quad /2/$$

Число ПДР, соответствующих OP_1 ($\bar{n}_{ПДР}$), будет равно:

$$\bar{n}_{ПДР}(y) = \bar{g} \cdot (1 - e^{-\frac{w \cdot \bar{l}_{эфф} \cdot y \cdot L}{2 \cdot \epsilon_0}})^2 \quad /3/$$

где \bar{g} - геометрический фактор, обусловленный неоднородностью распределения поглощенной энергии в пределах мишени - двухнитевой молекулы ДНК. Для формального случая, когда $r_{\max} < 1$, \bar{g} является вероятностью того, что частица, прошедшая через одну цепь ДНК, пройдет и через другую. Величина этого фактора была ранее определена^{3,4/} и составляет 0,4. Для δ -электронов, однако, можно ожидать больших значений этой величины. При дальнейших расчетах примем $\bar{g} \approx 0,5$.

Количество ОР и ПДР, приходящихся на фрагмент мишени, включающий одну пару нуклеотидов (l_H) и образующихся при прохождении частиц на расстоянии ($x, x+dx$) от мишени, равно:

$$dN_{ор1}^D(x) = n_{ор1}(x) d\xi(x), \quad /4/$$

$$dN_{пдр}^D(x) = n_{пдр}(x) d\xi(x), \quad /5/$$

где $d\xi(x)$ - число первичных налетающих частиц на l_H , проходящих на расстоянии ($x, x+dx$) от мишени.

Флюенс частиц Φ можно рассчитать по формуле

$$\Phi = \frac{1}{k' \cdot L} \cdot D, \quad /6/$$

где k' - постоянный коэффициент. Количество частиц, проходящих на расстоянии ($x, x+dx$) от оси мишени и приходящихся на l_H будет:

$$d\xi(x) = 2 \Phi l_H \cdot dx = 2 \cdot \Phi \cdot \sigma \frac{dx}{l}, \quad /7/$$

где $l_H \cdot l = \sigma$ есть сечение фрагмента мишени. При условии изотропного распределения нитей ДНК в пространстве величину σ следует усреднить, приняв $\sigma_{эфф.}$ за σ .

Для числа частиц $d\xi(x)$ далее получаем:

$$d\xi(x) = 2 \cdot \frac{1}{k' \cdot L} \cdot D \cdot \sigma_{эфф.} \frac{dx}{l}. \quad /8/$$

Из /4/-/8/ следует:

$$dN_{ор1}^D(x) = \bar{n}_{ор1}(y(x)) \cdot \frac{\sigma_{эфф.}}{k' \cdot L \cdot M_{пар}} \cdot \frac{2}{l} \cdot D \cdot dx, \quad /9/$$

$$dN_{пдр}^D(x) = \bar{n}_{пдр}(y(x)) \cdot \frac{\sigma_{эфф.}}{k' \cdot L \cdot M_{пар}} \cdot \frac{2}{l} \cdot D \cdot dx, \quad /10/$$

где $M_{пар} = 660$ дальтон - молекулярный вес одной пары нуклеотидов^{5/}. Определим $\sigma_{эфф.}$. Исходя из реальных размеров ДНК, получаем:

$$\sigma_{эфф.} = l_H \cdot l \cdot \frac{\pi}{4} = 0,34 \cdot 10^{-3} \cdot l \cdot \frac{\pi}{4} = 2,65 \cdot 10^{-4} \cdot l, \text{ мкм}^2, \quad /11/$$

где $l_H = 0,34 \cdot 10^{-3}$ - расстояние между двумя нуклеотидами, мкм; l - поперечный размер двухнитевой ДНК, мкм; $\pi/4$ - геометрический фактор, учитывающий изотропное расположение нитей ДНК в пространстве. При изотропном расположении нитей ДНК число нитей, направленных под углом ν /рис.1/, вычисляется следующим образом:

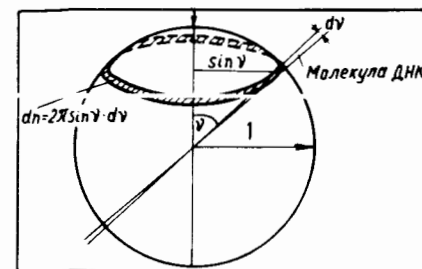
$$d\eta = 2 \cdot \pi \cdot \sin \nu \cdot d\nu \quad /12/$$

и их сечение равно $\sigma(\nu) = \sigma_0 \cdot \sin \nu$, где σ_0 - геометрическое сечение. $\sigma_{эфф.}$ получаем как:

$$\sigma_{эфф.} = \frac{\int_0^{\pi/2} \sigma(\nu) d\eta}{\int_0^{\pi/2} d\eta} = \frac{\pi}{4} \cdot \sigma_0. \quad /13/$$

Аналогично /12/-/13/ можно вычислить, что эффективная длина $\bar{l}_{эфф.}$ будет составлять: $\bar{l}_{эфф.} = \frac{\pi}{2} \cdot l$, поскольку $l(\nu) = l / \sin \nu$.

Рис.1. К расчету эффективного сечения $\sigma_{эфф.}$ образования ОР ДНК, число нитей ДНК, находящихся под углом ν к направлению пучка частиц, пропорционально $d\eta$, и их сечение $\sigma(\nu) = \sigma_0 \sin(\nu)$, где σ_0 - геометрическое сечение.



На основании вышеизложенного имеем необходимую информацию для вычисления выходов ОР и ПДР. $N_{ор1}$ и $N_{пдр}$ можно вычислить как

$$N_{ор1} = 5,06 \cdot 10^{-8} \cdot \frac{1}{L} \int 2(1 - e^{-\frac{w \cdot \bar{l}_{эфф.} \cdot y(x) \cdot L}{2 \cdot \epsilon_0}}) dx, \quad /14/$$

$$N_{пдр} = 2,53 \cdot 10^{-8} \cdot \frac{1}{L} \int (1 - e^{-\frac{w \cdot \bar{l}_{эфф.} \cdot y(x) \cdot L}{2 \cdot \epsilon_0}})^2 dx. \quad /15/$$

Предельное выражение для малых величин L можно получить в виде

$$N_{ор1} = 6 \cdot 10^{-7} \cdot l^2 \cdot w. \quad /16/$$

При $\ell = 2,2 \cdot 10^{-3}$ мкм и $w = 1^{1/6} N_{ор1}$, вычисленный по /16/, составляет для γ -лучей ^{60}Co $3,0 \cdot 10^{-12}$ сГр $^{-1}$ дальтон $^{-1}$.

Уже указывалось, что ПДР образуются в результате возникновения двух ОР на противоположных нитях ДНК с локализацией этих повреждений или на строго комплементарных участках, или же на участках, находящихся на различном расстоянии друг от друга, достигающем 20 нм. В силу особенностей микрораспределения энергии γ -квантов в веществе выход ПДР при γ -облучении, как это будет показано ниже, должен быть крайне малым. ЭДР же у бактерий, возникающие преимущественно из МС, вносят основной вклад в суммарный выход ДР при γ -облучении. Очевидно, что при достаточно больших дозах γ -облучения, соответствующих экспоненциальному участку кривой выживания, каждая осуществляемая ионизация в молекуле ДНК может приводить к образованию ЭДР. Этот вывод согласуется с экспериментальными данными о постоянстве соотношения выходов ОР и ДР у клеток при γ -облучении в различных условиях^{/7,8,9/}. Данное обстоятельство, по-видимому, можно объяснить лишь тем, что регистрируемые ДР являются преимущественно ЭДР и так же, как и ОР, образуются по одноударному механизму, от одной ионизации в молекуле ДНК. С другой стороны, поскольку выход ДР с возрастанием L увеличивается, можно думать о возрастании в этом случае выхода ПДР, для реализации которых необходимо возникновение в определенном участке ДНК двух или большего числа одновременно осуществляемых ионизаций.

С учетом вышеизложенного можно полагать, что ЭДР являются событиями, образующимися преимущественно по одноударному механизму, от одной ионизации, а ПДР возникают в результате осуществления двух и большего числа ионизаций на комплементарных участках ДНК.

Дифференцируя разные типы ДР, можем вычислить зависимости выходов ОР и ДР от L . На рис.2 представлены экспериментальные данные и расчетные величины $N_{ор1}$ и $N_{пдр}$ в зависимости от L , вычисленные по /14/-/15/. В этих расчетах ℓ принималась равной

$2 \cdot 10^{-3}$ мкм и постоянная $b = \frac{w \cdot \bar{\ell}}{\epsilon_0}$ была взята равной 0,034 при

$w = 0,648$. Как можно видеть, имеется хорошее согласие между экспериментальными и расчетными величинами выходов ОР и ДР при разных L . Необходимо отметить, что хорошее согласие получено в предположении, что измеряемый выход ДР является суммой ЭДР и ПДР. Из /14/, /15/ следует, что существует однозначная связь между выходом ОР и ПДР для всех значений L .

Суммарный выход ДР при разных L однозначно определяется в предположении, что выход ПДР при γ -облучении клеток является пренебрежимо малой величиной. В пользу такого предположения свидетельствуют данные о генетической детерминированности процента индукции ДР у *E.coli*^{/1,10/}, а также анализ особенностей микрораспределения энергии в веществе при действии электромаг-

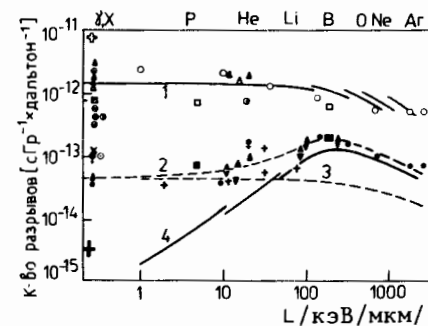


Рис.2. Экспериментальные и расчетные величины выхода ОР и ДР ДНК у *E.coli* и клеток млекопитающих в зависимости от L /выходы ОР и ДР при γ -облучении представлены только для *E.coli*/: 1 - зависимость выхода ОР от L , вычисленная по /14/; экспериментальные точки соответствуют: \oplus - /7,14/, Δ - /6/, \otimes - /15/, \square - /16/, \odot - /17/, \ominus - /7/, \square - /18/, \circ - /19,20/; 2 - зависимость

выхода ДР /суммы ПДР и ЭДР/ от L , вычисленная по /15/; расчет проведен для частиц с энергией 4 МэВ/нуклон. Экспериментальные точки соответствуют: \circ - /7/, Δ - /6/, $+$ - /21/, \bullet - /22/, \blacksquare - /18/, $+$ - /10/, \times - /10,17/; 3 - зависимость выхода ЭДР от L , рассчитанная для частиц с энергией 4 МэВ/нуклон; 4 - зависимость выхода ПДР от L .

нитных видов излучений разной жесткости и заряженных частиц с малой L . Попытаемся провести ориентировочную оценку выхода ПДР при действии электромагнитных видов излучений. С этой целью рассмотрим прежде некоторые особенности передачи энергии γ - и рентгеновского излучений веществу.

Как известно, отдельные акты ионизации, возникающие в среде при действии γ -излучения, образуются случайно и независимо друг от друга^{/11/} за исключением актов ионизации, производимых очень медленными электронами с энергией < 1000 эВ, образующими кластеры ионов в конце своего пробега в веществе. Из^{/12/} следует, что электроны с энергией ~ 750 эВ образуют на расстоянии 40 нм около 20 пар ионов и что электроны с данной энергией главным образом ответственны за индукцию ПДР при действии электромагнитных видов излучений на ДНК клеток. С учетом этого выход ПДР при γ - и рентгеновском облучении будет зависеть от доли энергии, передаваемой медленными электронами. Удельное количество таких электронов возрастает с уменьшением энергии излучения. Например, для тормозного излучения электронов с энергией 30 МэВ их доля составляет около 5%, в то же время для 250 кВ рентгеновых лучей количество медленных электронов возрастает до 12%^{/12/}. Для более мягких рентгеновых лучей можно ожидать быстрого нарастания удельного вклада в дозу таких электронов.

Проведем оценку выхода ПДР для γ -излучения. Поскольку доля энергии, передаваемой веществу медленными электронами путем образования кластеров ионов, составляет $\sim 5\%$ от общей сорбируемой энергии, то каждая двадцатая ионизация будет возникать по кластерному механизму. Согласно^{/13/} движение медленных электронов в веществе является изотропным. Вследствие этого можно полагать,

что 20 пар ионов, возникающих в объеме, занимаемом сферой с диаметром 40 нм, который является в 20 раз большим по сравнению с поперечным размером молекулы ДНК, не будут являться эффективными в индукции ПДР за исключением кластеров ионов, образуемых электронами с энергией ~ 200 эВ, пробег в ткани которых сопоставим с поперечным размером ДНК. Предположим, что такой электрон может еще дважды передать по ~60 эВ энергии веществу по тому же механизму, что и быстрые электроны. Предположим также далее, что в чувствительном объеме произошло 20 первичных актов передачи энергии и в среднем один акт реализуется по кластерному механизму от электрона с энергией 200 эВ. Тогда можно ожидать реализации второго акта на расстоянии ~2 нм от первичного. Если считать, что ОР₁ образуются с вероятностью w на один акт передачи энергии, то получаем количество N_{ор1}:

$$N_{ор1} = 20 \cdot w. \quad /17/$$

Количество N_{пдр} будет составлять:

$$N_{пдр} = g \cdot i_0 \cdot w^2, \quad /18/$$

где g - геометрический фактор, в который входит вероятность того, что второй акт передачи энергии реализуется в пределах мишени, i₀ - вероятность того, что второй акт данного кластера реализуется в комплементарном участке (i₀ = 0,5). Проведем оценку g на основании следующих соображений.

Пусть первичные акты передачи энергии, производимые электроном с энергией ~200 эВ, равномерно распределены в цилиндре диаметром 2 нм. Доля энергии, передаваемой мишени диаметром 2 нм, в этом случае будет зависеть от степени перекрытия двух областей - мишени и цилиндра /рис.3/- и выражается через простые геометрические соотношения. Обозначим через x' расстояние между осями мишени и цилиндра. Площадь перекрытия двух областей S' равна:

$$S' = 2 \cdot (R')^2 \cdot \left[\arccos \frac{x'}{2R'} - \frac{x'}{2R'} \sqrt{1 - \left(\frac{x'}{2R'}\right)^2} \right], \quad /18/$$

где R' - радиусы мишени и цилиндра, равные 1 нм. Доля энергии, передаваемой электроном мишени, будет равна:

$$g(x') = \frac{S'}{\pi \cdot (R')^2} = \frac{2}{\pi} \left[\arccos \frac{x'}{2R'} - \frac{x'}{2R'} \sqrt{1 - \left(\frac{x'}{2R'}\right)^2} \right]. \quad /19/$$

Среднее значение доли энергии, передаваемой мишени (\bar{g}), равно:

$$\bar{g} = \frac{\int_0^{R'} g(x') 2\pi x' \cdot dx'}{\int_0^{R'} 2\pi x' dx'}. \quad /20/$$

Для R' = 1 нм получаем: $\bar{g} = 0,25$.

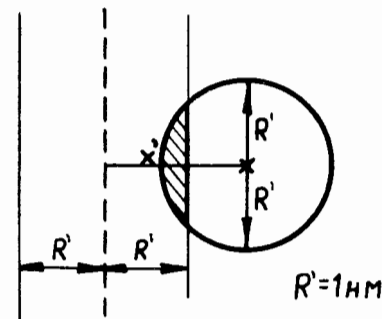


Рис.3. К расчету геометрического фактора в оценке выхода ПДР при γ -облучении. R - диаметр цилиндра, приблизительно равный диаметру мишени - молекулы ДНК, в которой каждым δ -электроном с энергией ≤ 200 эВ производится до двух актов передачи энергии. x' - расстояние между геометрическими осями мишени и цилиндра.

При w ≈ 0,6 на основании /17/, /18/ получаем выход ПДР равным ~5·10⁻¹⁵ сГр⁻¹ дальтон⁻¹. Учитывая то обстоятельство, что, по видимому, не вся энергия этих электронов реализуется в виде актов передачи энергии, аналогичных актам, реализуемым быстрыми электронами, можно ожидать еще более низких значений выходов ПДР при γ -облучении: N_{пдр} < 5·10⁻¹⁵ сГр⁻¹ дальтон⁻¹.

Таким образом, на основании вышеизложенных представлений можно провести оценку выхода ДР от L, дифференцируя ПДР и ЭДР. Результаты таких расчетов представлены на рис.2. Как можно видеть, при действии электромагнитных видов излучений с малой L регистрируемые ДР являются преимущественно ЭДР, выход же ПДР в этом случае несуществен. С возрастанием L количество ПДР резко увеличивается и они становятся преобладающими в суммарном выходе ЭДР и ПДР. В то же время выход ЭДР с ростом L уменьшается пропорционально снижению выхода ОР₁. При L, соответствующих максимуму кривой N_{др}(L) и больших, регистрируемые ДР являются практически все ПДР. Обращают на себя внимание вариации выхода ПДР при L < 200 кэВ/мкм для частиц с разной E и одинаковыми L и отсутствие таковых при L > 200 кэВ/мкм. Эти вариации можно объяснить разным характером РРПЭ в треке частиц при разных E. Поскольку плотность распределения δ -электронов в треках частиц с одинаковым значением L, но с меньшей E выше, чем у более энергетичных частиц, то очевидно, что и выход ПДР в первом случае должен быть большим. В области L > 200 кэВ/мкм эти процессы уже не играют решающей роли, поскольку определяющей в выходе ПДР является энергия /при E = 3-10 МэВ/нуклон/, выделяемая в сердцевине трека.

Таким образом, мы рассмотрели особенности индукции ОР и ДР ДНК в клетках E.coli излучениями с разными физическими характеристиками. На основании этого, а также с учетом кинетики репарации разных типов ОР возможно проведение анализа зависимости чувствительности бактерий E.coli от величины L излучений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бреслер С.Е., Носкин Л.А., Суслов А.В. Радиобиология, 1981, 21, с.3-7.
2. Корогодин В.И., Красавин Е.А. ОИЯИ, Р19-82-71, Дубна, 1982.
3. Ли Д.Е. Действие радиации на живые клетки. Атомиздат, М., 1963.
4. Neary C.J. Int.J.Radiat.Biol., 1965, 9, p.477-502.
5. Тимофеев-Ресовский Н.В., Савич А.В., Шальнов М.И. Введение в молекулярную радиобиологию. "Медицина", М., 1981.
6. Günter K. et al. Studia Biophys., 1977, 61, p.163-209.
7. Bonura T., Youngs D.A., Smith K.C. Int.J.Radiat.Biol., 1975, 28, p.539-548.
8. Christensen R.C. et al. Int.J.Radiat.Biol., 1972, 22, p.457-477.
9. Boye E. Radiat.Res., 1980, 81, p.427-440.
10. Бреслер С.Е., Вербенко В.Н., Калинин В.Л. Генетика, 1982, 18, с.1245-1262.
11. Иванов В.И., Лысцов В.Н. Основы микродозиметрии. Атомиздат, М., 1979.
12. Wideröe R. Atomkernenergie, 1977, 29, p.62-66.
13. Chatterjee A.A. et al. Radiat.Res., 1973, 54, p.479-494.
14. Johansen J. et al. Proc.Nat.Acad.Sci., USA, 1975, 72, p.167-171.
15. Hamelin C., Youngs D.A., Smith K.C. J.Bacteriol., 1976, 127, p.1307-1314.
16. Town C.D., Smith K.C., Kaplan H.S. Radiat.Res., 1972, 52, p.99-114.
17. Петров С.И. В кн.: Повреждение и репарация ДНК. Изд-во Института биологической физики АН СССР, Пущино, 1980, с.114-128.
18. Wilkins R.J. Int.J.Radiat.Biol., 1971, 20, p.497-500.
19. Lehnert S., Moroson H. Radiat.Res., 1971, 45, p.299-310.
20. Bresler S.E. et al. Molec.gen.Genet., 1978, 163, p.75-85.
21. Kampf G., Tolkendorf E. Studia Biophys., 1980, 78, p.1-10.
22. Ritter M.A., Cleaver J.E., Tobias C.A. Nature, 1977, 266, p.653-655.

Рукопись поступила в издательский отдел
31 декабря 1982 года.

Козубек С., Красавин Е.А. 19-82-928
Биологическая эффективность ионизирующих излучений разного качества и репарация ДНК /теоретический анализ/.
Действие излучений на бактерии *Escherichia coli*.
Модель образования одностранных и двухстранных разрывов ДНК излучениями с разной ЛПЭ

Предлагается модель образования одностранных и двухстранных разрывов /ОР и ДР/ ДНК в зависимости от ЛПЭ излучений (L). С учетом особенностей микрораспределения энергии излучений с разными значениями L делается вывод о том, что при γ -облучении в ДНК клеток индуцируются преимущественно энзиматические ДР /ЭДР/ ДНК. С помощью модели, имеющей лишь один свободный параметр, показано, что с возрастанием L выход ЭДР падает, доля же прямых ДР /ПДР/ увеличивается. Рассмотрены вариации выхода ПДР при $L < 200$ кэВ/мкм для частиц с разной энергией и одинаковой L. Эти вариации объясняются различным характером радиального распределения поглощенной энергии в треках частиц.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Сообщение Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1982

Kozubek S., Krasavin E.A. 19-82-928
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*.
The Model of DNA Single and Double Strand Break Induction 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 evaluated. On considering microscopic energy distributions for different radiations, the conclusion is made that the DSBs formed by γ -radiation are mainly of enzymatic origin. The calculation performed on the basis of the proposed model. Only one free parameter had to be fitted. The induction of enzymatic (resp.direct) DSBs is shown to be smaller (resp.greater) for greater LET. Different types of direct DSBs are considered as well as the mechanisms of their induction. The variation of production of direct DSB for particles which have the same $LET < 200$ keV/ μ m, but the different energy are estimated. Different character of radial distribution of energy in tracks of particles explains these variations.

The investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problems, JINR.

Communication of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1982

Перевод О.С.Виноградовой.