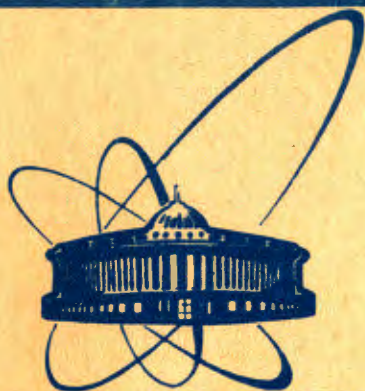
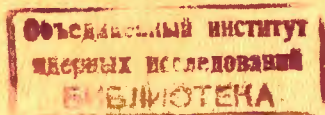


84-55



сообщения
объединенного
института
ядерных
исследований
дубна



19-84-55

С.Козубек, Е.А.Красавин

ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ХАРАКТЕР
КРИВЫХ ВЫЖИВАНИЯ БАКТЕРИЙ
ESCHERICHIA COLI
ПРИ ДЕЙСТВИИ ИЗЛУЧЕНИЙ
С РАЗНОЙ ЛИНЕЙНОЙ ПЕРЕДАЧЕЙ ЭНЕРГИИ

Математические модели
кривых выживания клеток

1984

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных задач радиационной биологии является выяснение механизмов, обуславливающих характер зависимости выживания клеток от дозы облучения. О закономерностях репродуктивной гибели клеток при действии радиации обычно судят по кривым выживания, которые отражают зависимость относительного числа выживших /то есть способных к "бесконечному" размножению/ клеток от дозы облучения. Кривые выживания, как известно, явились фундаментом при разработке основного принципа количественной радиобиологии - принципа попадания и мишени. С позиций классических представлений инаktivация клетки происходит в результате одного или нескольких случайных попаданий /актов передачи энергии излучения/ в определенный "чувствительный объем". На основе принципа попадания были созданы математические модели, объясняющие характер выявляемых в эксперименте дозовых кривых. В классических работах Д.Е.Ли, Н.В.Тимофеева-Ресовского, К.Г.Циммера и др.^{/1-3/} было показано, что экспоненциальные кривые "доза-эффект", получаемые в экспериментах со сравнительно простыми биологическими объектами - белковыми молекулами, вирусами, - могут быть интерпретированы в рамках модели "одна мишень - одно попадание". Однако в дальнейшем выяснилось, что экспоненциальные кривые выживания выявляются в ряде случаев и у высокоорганизованных объектов - бактерий, некоторых штаммов дрожжей и клеток млекопитающих. Очевидно, что у клеток с высоким уровнем организации генома экспоненциальный характер кривых выживания не может объясняться в рамках модели "одна мишень - одно попадание". Еще более усложняется по сравнению с экспоненциальными кривыми интерпретация сигмоидных дозовых кривых. Характер таких зависимостей определяется многими привходящими факторами: особенностями организации генома, физиологическим состоянием клеток, условиями пострadiационного культивирования и т.д. Как выяснилось, сигмоидные кривые выживания нельзя однозначно интерпретировать в рамках формальных представлений, поскольку такие зависимости с равным приближением описываются большим числом математических моделей.

В настоящее время становится все более очевидным, что без учета закономерностей структурно-функциональной организации генетического аппарата про- и эукариот невозможно понять сложную цепь событий, определяющих судьбу облученных клеток, а в конечном счете - и характер кривых выживания.

В связи с успешным развитием молекулярной биологии в последнее время получена обширная информация о структурной организации генома клеток, механизмах репликации и репарации ДНК. Наиболее изучена организация генетического аппарата прокариот, а именно, бактерий *E. coli*. К этому следует добавить, что на *E. coli* получена значительная информация о характере кривых выживания при действии излучений с разной линейной передачей энергии (L). С учетом указанных обстоятельств появляется возможность рассмотрения механизмов, определяющих характер кривых выживания бактерий *E. coli* при действии излучений с разными физическими характеристиками. Проведение такого анализа и явилось целью настоящей работы. Прежде, чем приступить к изложению посылок, лежащих в основе развиваемых представлений, рассмотрим наиболее известные математические модели, описывающие кривые выживания клеток.

КЛАССИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ

Как известно, главным принципом, лежащим в основе классических моделей, является принцип попадания и мишени. Введенный впервые Краузером в 1924 году, он предполагает наличие в клетке определенной "чувствительной мишени" или "чувствительного объема", при попадании в который ионизирующей частицы наступает гибель клетки. Принцип попадания основывается на трех предпосылках:

а/ в клетке существует уникальная мишень, намного меньшая, чем клетка, и чувствительная к излучению;

б/ энергия излучения передается веществу клетки в виде дискретных порций;

в/ отдельные акты передачи энергии происходят независимо друг от друга.

Из этих предпосылок следует, что среднее количество попаданий /актов передачи энергии/ (\bar{n}) в мишень пропорционально дозе облучения (D) и объему чувствительной мишени (v): $\bar{n} = v \cdot D$. Вероятность (P) образования в мишени k таких событий будет соответствовать распределению Пуассона:

$$P(k) = e^{-\bar{n}} \cdot \bar{n}^k / k! \quad /1/$$

Если предположить, что для инактивации клетки необходимо хотя бы одно попадание в мишень, то вероятность (P_0) того, что клетка не получит ни одного попадания /иначе говоря, выживет/, есть:

$$P(0) = e^{-vD} \quad /2/$$

Из экспоненциальных кривых "доза-эффект" можно определить параметр v.

В классических трудах Н.В.Тимофеева-Ресовского, К.Г.Циммера, Д.Е.Ли было показано /1-8/, что величине v соответствуют реальные биологические структуры, ответственные за регистрируемый эффект. Позднее выяснилось, что параметр v зависит от многих факторов физической и биологической природы. Это затруднило однозначную интерпретацию экспоненциальных кривых выживания.

Еще более усложняется в рамках теории попаданий интерпретация сигмоидных кривых "доза-эффект", имеющих "плечо". Наличие его на кривой выживания можно объяснить тем, что в клетке имеется не одна, а несколько "чувствительных мишеней", и для инактивации клетки необходимо повредить каждую из них. В этом случае вероятность выживания клетки (S) будет описываться известной многомишенной формулой:

$$S_m = 1 - (1 - e^{-vD})^m, \quad /3/$$

где m - количество мишеней.

С другой стороны, если предположить, что для инактивации клетки необходимо повреждение одной мишени, но для этого требуется n попаданий, то вероятность выживания клетки соответствует многоударной формуле:

$$S_n = e^{-vD} \sum_{k=0}^{n-1} \frac{(vD)^k}{k!} \quad /4/$$

Сигмоидные кривые "доза-эффект" можно объяснить и в рамках многомишенно-многоударных представлений в предположении, что инактивация клетки происходит при повреждении m мишеней, причем каждая из них повреждается в результате нескольких попаданий. В этом случае известная многомишенно-многоударная формула получается на основании /4/ при возведении в степень m:

$$S_{n,m} = 1 - (1 - e^{-vD} \sum_{k=0}^{n-1} \frac{(vD)^k}{k!})^m \quad /5/$$

Очевидно, что в рамках классических подходов сигмоидную кривую выживания с равным приближением можно описать, исходя из различных представлений. При этом важные радиобиологические параметры m и n не имеют реальной биофизической интерпретации и варьируют при изменении целого ряда факторов физической и биологической природы. Попытка объяснения причин такой variability была предпринята в стохастической модели действия излучения на клетки /4/.

СТОХАСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

По принципу попадания следует, что клетки, облученные одинаковой дозой, имеют разное количество попаданий, и в зависимости

от того, каково их критическое число, вызывающее летальный эффект, кривые выживания могут быть либо экспоненциальными, либо сигмоидными. В отличие от этого О.Хуг и А.Келлерер^{/4/} предположили, что клетки, облученные равными дозами, поражаются одинаково и имеют потенциально равную вероятность успешного деления /выживания/. Однако поскольку процесс клеточного деления является стохастическим, зависящим от биологической изменчивости, выживаемость облученных клеток будет носить вероятностный характер. Так как некоторые клетки, не несущие повреждений, могут с определенной вероятностью погибнуть от различных причин биологического характера, то при облучении число погибающих по тем же причинам клеток будет большим.

Таким образом, в данной модели на закономерности взаимодействия излучений с веществом накладывается стохастичность проявлений индуцированных повреждений. Предполагая одинаковое число начальных повреждений в клетке /так называемых дисперсных повреждений/, авторы^{/4/} считают, что каждое из таких повреждений вызвано не одним попаданием в уникальную мишень, а большим количеством изменений в каких-то массовых структурах клетки. Вследствие этих изменений повышается вероятность "отказа" (s') в процессе деления клетки в пострadiaционный период. Уменьшение количества выживающих клеток dN пропорционально их числу N в момент времени t :

$$-dN = s' \cdot N \cdot dt, \quad /6/$$

где $s'(t, D)$ - вероятность "отказа" в процессе деления клетки в единицу времени t . Если вероятность "отказа" увеличивается линейно с дозой облучения:

$$s'(t, D) = s'_1(t) \cdot D, \quad /7/$$

то в результате получается экспоненциальная кривая выживания:

$$N = N_0 \cdot \exp\left\{-\int_0^{\infty} s'_1(t) dt \cdot D\right\}. \quad /8/$$

Для того, чтобы учесть в рамках стохастической модели принцип попадания, авторы^{/4/} вводят следующие представления. Поскольку клеточную популяцию можно описать вектором состояний, который дает распределение клеток по отдельным состояниям:

$$\xi = (\xi_1, \xi_2, \dots, \xi_n), \quad /9/$$

начальное состояние соответствует вектору:

$$\xi_0 = (1, 0, \dots, 0). \quad /10/$$

При облучении клеток, находящихся в состоянии ξ , дозой dD популяция переходит в новое состояние:

$$\xi + d\xi = \xi + A\xi \cdot dD, \quad /11/$$

где A - матрица вероятностей переходов порядка $n \times n$.

Решая это уравнение, получаем:

$$\xi = \xi_0 e^{A \cdot D}. \quad /12/$$

Если далее предположить, что клетки в состояниях $1 \div n-1$ способны репарировать возникающие повреждения, а в состоянии n инактивируются, кривую выживания (S) можно описать следующим образом:

$$S = \sum_{k=1}^{n-1} \xi_k. \quad /13/$$

В рамках концепции биологической стохастики удается описать кривые выживания разного типа. Несколько частных случаев, вытекающих из этой модели и трудно интерпретируемых с позиций классических представлений, было рассмотрено в^{/5,6/}.

Основным отличием в интерпретации зависимости "доза-эффект" с позиций принципа попадания и биологической стохастики является то, что во втором случае величина S' может приобретать непрерывный спектр значений. Это обстоятельство приводит к неразрешимым противоречиям при объяснении многих радиобиологических феноменов. К тому же концепция биологической стохастики, так же как и классические модели, в значительной степени формальна и неспособна объяснить многие проявления действия излучения на клетки. Главным же затруднением является предположение об одинаковой поражаемости клеток, облученных в одной дозе.

Новым шагом в математическом моделировании реакций дрожжевых клеток на облучение явилось создание вероятностной модели действия излучений на клетки, объединяющей с новых позиций принцип попадания и биологическую стохастику.

ВЕРОЯТНОСТНАЯ МОДЕЛЬ

В вероятностной модели Ю.Г.Капульцевича^{/7/} в соответствии с принципом попадания принимается, что клетки, облученные в одинаковой дозе, получают разное число повреждений. В предположении пуассоновского характера распределения первичных повреждений по клеткам для излучений электромагнитной природы делается допущение, что вероятность проявления реализованного повреждения (α) /иначе говоря, вероятность неосуществления деления облученной клеткой/ есть $\alpha < 1$. Если вероятность успешного деления клетки, получившей одно повреждение (P_1), есть $P_1 = 1 - \alpha$, то эта вероятность для клеток с i повреждениями при условии независимости проявления повреждений друг от друга есть $P_i = (1 - \alpha)^i$.

Принимая вероятность образования повреждения на единицу дозы облучения за b при пуассоновском характере распределения повреждений по клеткам, выживаемость клеток при среднем значении числа повреждений $a = b \cdot D$ будет описываться выражением:

$$S = \sum_{i=0}^k \frac{e^{-a} a^i}{i!} \left\{ 1 - \left[\frac{1 - (1-a)^i}{(1-a)^i} \right]^2 \right\}, \quad /14/$$

где k - число повреждений, при котором $(1-a)^k > 0,5 \geq (1-a)^{k+1}$.

Из /14/ следует, что кривые выживания, рассчитанные по вероятностной модели, являются суперпозицией нескольких многоударных кривых с критическими числами попаданий от 1 до k . При $a \geq 0,5$ кривые выживания экспоненциальны, а при $a < 0,5$ - сигмоидны.

Вероятностная модель является своеобразным синтезом принципа попадания и биологической стохастики и объединяет на первый взгляд "необъединимые" случаи. Из нее, например, следует, что клетки, получившие большое число повреждений, могут с определенной вероятностью выжить, и, наоборот, клетки с малым числом повреждений могут погибнуть. Из двух клеток с равным числом повреждений одна может выжить и образовать макроколонию, другая - погибнуть после небольшого числа делений. Такая неоднозначность реакций клеток определяется случайной природой двух факторов - случайным характером распределения повреждений по клеткам и стохастичностью биологических процессов.

На основе вероятностной модели для разных штаммов дрожжевых клеток удается не только хорошо описать различные по характеру кривые выживания, но и определить связь между такими радиобиологическими феноменами, как "эффект дорастания", и образованием разных форм инактивации клеток. Однако в данной модели остались вне рассмотрения механизмы, определяющие разную вероятность проявления лучевых повреждений. Как следствие этого, остаются формальными понятия "Попадание", "Критическое число попаданий" и т.д. Следует заметить, что ранее уже были предприняты попытки в какой-то мере связать инактивацию клеток с кинетикой внутриклеточных реакций в ряде "репарационных моделей".

РЕПАРАЦИОННЫЕ МОДЕЛИ

Р.Хейнс^{/8/} для описания кривых выживания чувствительных и резистентных штаммов бактерий предложил использовать следующую формулу:

$$S = \exp\{-kD + a[1 - e^{-\beta \cdot D}]\}. \quad /15/$$

В ней первое слагаемое kD соответствует числу возникающих повреждений в клетке, количество которых пропорционально D . Вто-

рое слагаемое $a[1 - e^{-\beta D}]$ соответствует числу отрепарированных повреждений. Хейнс предположил, что способность клетки к репарации ограничена. Из этого следует, что число репарируемых повреждений с ростом D стремится к постоянной величине a . И если вероятность β элиминации повреждений из клетки на единицу дозы достаточно велика, то /15/ описывает сигмоидную кривую с наклоном k и экстраполяционным числом e^a . При малых значениях β кривая выживания экспоненциальна.

Модель "ограниченного восстановления" действительно описывает как экспоненциальные, так и сигмоидные кривые выживания, однако очевидно, что предложенная модель формальна, и по существу мало отличается от классической многоударной модели. Попытки учесть влияние репарационных процессов на характер кривой выживания клеток были предприняты и в более поздних работах.

В /9/ моделируется влияние восстановительных процессов на характер кривых "доза-эффект" в предположении, что при повреждении чувствительных мишеней возможна или фиксация элементарных повреждений, или их репарация.

Развитие и обобщение указанных подходов с использованием представлений теории массового обслуживания предпринято в /10/.

Общим в предлагаемых моделях является предположение, что в клетке имеется несколько чувствительных мишеней, каждая из которых может находиться в двух состояниях: не поврежденном или поврежденном. В свою очередь, поврежденная мишень или может восстановиться, или перейти в необратимое состояние. Гибель клетки происходит в результате инактивации всех мишеней.

Формальный характер предложенных моделей очевиден, поскольку сложный, многоэтапный процесс репарации повреждений моделируется, как правило, некоторым числом произвольных параметров, не имеющих достаточной биофизической интерпретации. Более конкретными являются модели, учитывающие восстановительные процессы на молекулярном уровне.

В /11/ обсуждается возможность интерпретации сигмоидной кривой выживания клеток как отражение реакции свободных радикалов, образующихся при облучении, с внутриклеточными SH-группами. Предполагается, что инактивация клеток происходит вследствие атаки радикалами биологически важных макромолекул. При небольших дозах облучения перехват SH-группами свободных радикалов осуществляется эффективно, что и объясняет, по мнению автора, наличие плеча на кривой выживания. Однако указанный подход вступает в противоречие с данными о зависимости летального эффекта от мощности дозы облучения, а также с большим количеством фактов, свидетельствующих о незначительной роли непрямого действия излучений в механизме инактивации клеток.

В /12/ для объяснения сигмоидной кривой выживания была предложена модель "репарационного бассейна". Согласно этой модели,

репарационные ферменты, имеющиеся в клетке, способны восстановить лишь определенное число повреждений, так как запас этих ферментов ограничен. Вследствие этого репарация может осуществляться только до определенных доз облучения /в области плеча/ и после исчерпания запаса ферментов кривая становится экспоненциальной. Модель описывает кривую выживания при помощи трех произвольных параметров, где параметр, соответствующий запасу ферментов репарации, определяет экстраполяционное число, а выход повреждений определяет наклон конечного экспоненциального участка:

$$\ln(N/N_0) - P_0[1 - (N/N_0)^a] = vD, \quad /16/$$

где P_0 - число молекул фермента репарации, v - выход повреждений, a - соотношение вероятностей репарации и фиксации повреждения.

Модель правильно описывает зависимость чувствительности клеток от мощности дозы в предположении, что "репарационный бассейн" пополняется с определенной скоростью. Комбинацией модели "репарационного бассейна" и модели, учитывающей реакции свободных радикалов с кислородом и биомолекулами, является модель /13/.

Таким образом, в кинетических моделях в отличие от классических подходов, рассматривается возможность влияния определенных внутриклеточных процессов на характер кривых выживания клеток. Однако в рамках этих представлений процессы индукции и репарации биологически значимых повреждений, определяющих характер кривой выживания в зависимости от дозы облучения, рассматриваются формально, без учета реальных биофизических механизмов, имеющих место в живых клетках. Попытки связать инактивирующее действие излучений на клетки с характером индуцируемых повреждений в молекуле ДНК были предприняты в первых "молекулярных моделях".

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МОДЕЛИ

В работе Чедвика-Линхауса /14/ предполагается конкретная связь между повреждениями ДНК и выживаемостью клеток. Предполагается, что при облучении в ДНК клеток образуются одностебельные и двухстебельные разрывы /ОР и ДР/. Допускается, что наряду с прямыми ДР возникают ДР из двух перекрывающихся ОР. Летальным событием для клетки является реализация в ДНК или прямого ДР или ДР из перекрывающихся ОР. На основании этих предпосылок выживаемость клеток описывается формулой:

$$S = e^{-\alpha D - \beta D^2}, \quad /17/$$

где α и β - параметры, соответствующие вероятностям образования прямых ДР и ДР из перекрывающихся ОР. Модель хорошо описывает кривые выживания клеток, в том числе и зависимость летального

эффекта от мощности дозы. Однако указанный подход встретил резкую критику со стороны специалистов в области микродозиметрии /15/. Было показано, что вероятность образования двух независимых ОР на достаточно близком расстоянии друг от друга / ~ 10 нм/, крайне мала.

В отличие от клеток млекопитающих, где деградация ДНК невелика, у бактериальных клеток экзонуклеазные бреши имеют большие размеры, что обуславливает высокий выход ДР из перекрывающихся ОР /18/. С учетом этого обстоятельства кривая выживания бактериальных клеток может быть описана следующим образом /18/:

$$S = \exp\{-\bar{N}\beta D(1 - e^{-(\ell_0 \cdot \beta \cdot D/M)})\}, \quad /18/$$

где β - выход первоначальных повреждений ДНК, ℓ_0 - размер бреши в нити ДНК, M - размер генома, \bar{N} - фактор неодновременности, учитывающий возможность того, что инцизия близлежащих повреждений в оппозитных нитях ДНК происходит не одновременно. Кривые выживания, рассчитанные по /18/, имеют небольшое плечо в области малых доз и экспоненциальный участок при высоких уровнях доз облучения. В последнем случае значение ℓ_0 должно быть достаточно большим, с тем, чтобы величина $e^{-(\ell_0 \cdot \beta \cdot D/M)}$ стала пренебрежимо малой и выживаемость изменялась по экспоненте с наклоном кривой, равным $\bar{N}\beta$. Фактор неодновременности связывается с некоординированным действием эндонуклеаз.

Таким образом, в созданных в разное время моделях - от классических до молекулярных, с разных позиций рассматривались возможные причины, определяющие характер кривых выживания про- и эукариотических клеток при γ -облучении. Накопление информации о зависимости характера дозовых кривых от L обусловило разработку моделей, имеющих целью объяснение такой зависимости.

МОДЕЛИ, УЧИТЫВАЮЩИЕ ВЛИЯНИЕ КАЧЕСТВА ИЗЛУЧЕНИЯ

Известно, что при возрастании L сигмоидные кривые выживания, как правило, трансформируются в экспоненциальные /17/. Первые попытки объяснить природу такой трансформации были предприняты уже на основе обычной многоударной модели. Но в отличие от ее классической формы, в рамках развиваемых представлений принималось, что событием попадания является осуществление двух независимых случайных процессов, определяемых, с одной стороны, вероятностью прохождения i -го числа ионизирующих частиц через мишень, с другой стороны - вероятностью образования n -го числа ионизаций в данной мишени в случае прохождения через нее i -го числа частиц при пуассоновском характере распределения каждого из этих двух процессов. Расчеты, выполненные на основе указанных предположений, действительно показали превращение сигмоид-

ных кривых в экспоненциальные, однако возрастания чувствительности клеток с увеличением L не было получено. В более сложных многоударно-многомишенных моделях удалось получить повышение чувствительности с ростом L , однако стало очевидным, что указанные подходы лишены эвристичности, поскольку в них используется большое число произвольных допущений, не имеющих реального физического смысла.

Попыткой конкретизировать физическую природу события попадания явилась разработка метода трековых сегментов. Говард-Фландерс ^{/18/} предположил, что биологический эффект наблюдается с вероятностью, равной 1, при осуществлении события попадания в мишень. Под событием попадания понимается образование n или большего числа ионизаций на участке трекового сегмента, который определяется как отрезок пути заряженных частиц внутри мишени, на котором L остается постоянной. На основе метода удастся правильно описать как кривые без максимума, так и с максимумом, полученные для гаплоидных дрожжей. Однако применительно к клеткам млекопитающих эти методы оказались неэффективными, поскольку в них не принималась во внимание структура трека заряженных частиц. В модели Говарда-Фландерса остается также неясным, какие молекулярные события приводят клетку к гибели и как меняется характер индуцируемых повреждений с ростом L . Попыткой конкретизировать эти повреждения и связать их с инактивирующим влиянием излучений на клетки явилась модель Нири ^{/19/}. В данной модели принимается, что чувствительной структурой клетки служит молекула ДНК, моделируемая цилиндром, имеющим диаметр d и площадь A . В случае прохождения частицы с величиной линейной передачи энергии в воде L_∞ через мишень плотностью ρ , передается энергия, равная $L = L_\infty \cdot \rho$. При условии, что на один акт передачи энергии расходуется 60 эВ, количество таких передач будет $16 L_\infty \cdot \rho \cdot d$. Если p - вероятность образования одного элементарного повреждения на один акт передачи энергии, то вероятность k того, что прохождение трека через мишень приведет к возникновению повреждения, есть:

$$k = 1 - \exp\{-16 \cdot L_\infty \cdot \rho \cdot p \cdot d\}. \quad /19/$$

Модель учитывает /посредством фактора n / возможность репарации элементарных повреждений. Если в случае прохождения через ядро клетки частица встречает мишень s раз, то вероятность K , что отдельный трек образует повреждение, есть:

$$K = 1 - e^{-s \cdot k \cdot n}. \quad /20/$$

Для большого числа мишеней фракция S , в которых не возникает ни одного повреждения, будет:

$$S = e^{-m \cdot K}, \quad /21/$$

где m - среднее число треков, приходящихся на мишень: $m = \frac{A \cdot D}{16 \cdot L_\infty}$, D - доза облучения. На основании /21/ D_0^{-1} вычисляется как:

$$D_0^{-1} = AK/16L_\infty. \quad /22/$$

Уравнение /22/ было использовано Нири для описания зависимости $D_0^{-1}(L)$ у чувствительных штаммов бактерий и получено хорошее согласие теоретических представлений с экспериментальными данными. В модели далее предполагается, что при облучении в ДНК клеток образуются два типа повреждений: ОР и ДР. ОР репарируются клеткой, ДР же приводят к летальному эффекту. Вероятность выживания клетки от ОР есть:

$$S^1 = \exp\{-sk \cdot n \cdot [(1-g) + g \cdot (1-k)]\}, \quad /23/$$

где g - геометрический фактор. Вероятность выживания от ДР есть:

$$S^2 = e^{-s \cdot g k^2}. \quad /24/$$

Чувствительность клеток в этом случае будет описываться как:

$$D_0^{-1} = A \{1 - \exp[-sgk^2 - skn(1-gk)]\} / 16 L_\infty. \quad /25/$$

В модели сделана попытка учета вклада в инактивацию клеток δ - электронов:

$$k \rightarrow k_1 + k_2 \cdot F_2 / F_1, \quad /26/$$

где k_1, k_2 - соответственно значения k для сердцевин трека и δ - электронов; F_1 и F_2 - количество треков от сердцевин и δ - электронов, пересекающих единичную площадь на единицу дозы.

Изложенные выше представления были применены для описания кривых выживания клеток. При этом предполагалось, что поскольку у диплоидных клеток имеется две копии генетического материала, их репродуктивная гибель наступает в результате повреждения двух гомологичных локусов, которые, находясь на близком расстоянии друг от друга, образуют чувствительный сайт. Вероятность "выживания" такого сайта (P) есть:

$$P = e^{-mGk^2} \cdot \{1 - [1 - \exp(-mK + mGK^2)]^2\}, \quad /27/$$

где G - вероятность того, что частица, повредившая один локус сайта, повредит также и другой. На основе /27/ удастся описать модификацию сигмоидных кривых выживания в экспоненциальные при возрастании L для клеток млекопитающих, однако при больших дозах облучения кривая $D_0^{-1}(L)$ не имеет максимума, что противоречит экспериментальным данным. Как одно из возможных объяснений, предполагается степенная зависимость k от L .

Как уже указывалось, и в модели Говарда-Фландерса, и в модели Нири практически не рассматривается влияние структуры трека на радиобиологический эффект. С учетом этого Видерё для описания кривой выживания была предложена эмпирическая модель /20/, в которой отдельно рассматривается вклад в летальный эффект дозы от сердцевины трека /керна/ и области δ -электронов. При этом предполагалось, что поскольку выживаемость клеток млекопитающих при действии плотнионизирующих излучений описывается экспоненциальной кривой, то вклад в выживаемость компонента от керна можно выразить как:

$$S_1 = \exp(-\alpha \cdot D \cdot D_{0\alpha}^{-1}), \quad /28/$$

где α - доля дозы от керна, $D_{0\alpha}^{-1}$ - радиочувствительность клеток. Для оценки вклада δ -электронов в выживаемость принимается многомишенная формула как при γ -облучении:

$$S_2 = 1 - [1 - \exp\{- (1 - \alpha) D \cdot D_{0\beta}^{-1}\}]^m, \quad /29/$$

где $D_{0\beta}^{-1}$ - чувствительность клеток к γ -облучению, m - экстраполяционное число. Суммарная выживаемость клеток S будет:

$$S = e^{-\alpha \cdot D \cdot D_{0\alpha}^{-1}} \cdot \{1 - [1 - e^{-(1-\alpha) \cdot D \cdot D_{0\beta}^{-1}}]^m\}. \quad /30/$$

Величина $D_{0\alpha}^{-1}$ при описании $S(D)$ для разных типов частиц подбирается.

Более детальный учет влияния структуры трека в инактивирующем действии заряженных частиц проведен в модели Каца /21/, в которой рассматривается характер радиального распределения дозы, создаваемой δ -электронами. Если трек заряженной частицы представить в виде "ершика" δ -электронов, то густота его будет пропорциональна z^2/β^2 где z - эффективный заряд частицы, β - отношение ее скорости к скорости света в вакууме. В модели предполагается, что инактивация клетки определяется как ионным компонентом, ответственным за "прямое" действие излучения, так и δ -электронным. При этом делается допущение, что чувствительные мишени в клетке реагируют на локальную дозу δ -электронов таким образом, как если бы они, являясь частью большой системы, подверглись равномерному γ -облучению в той же дозе. Вероятность инактивации клетки (P) от прохождения одного иона описывается выражением:

$$P = [1 - \exp(-z^2/k\beta^2)]^m, \quad /31/$$

где m - число мишеней в клетке. Поскольку клетка может также погибнуть от кумулятивного действия отдельных δ -электронов, то соответствующая доза D_γ выражается как $D_\gamma = (1 - P)D$, где D - полная доза для данного типа излучения. Если обозначить флуенс

$F = D/L_\infty$, то выживаемость клеток будет определяться как:

$$S = \exp(-\sigma_0 \cdot P \cdot F) \cdot \{1 - [1 - \exp(-(1 - P) \cdot D_\gamma \cdot D_{0\gamma}^{-1})]^m\}, \quad /32/$$

где σ_0 - геометрическое сечение инактивации. Следует заметить, что выражение /32/ по форме совпадает с /30/ модели Видерё, однако отличием здесь является то, что параметр P имеет реальный физический смысл. В рамках данной модели был проведен анализ кривых выживания клеток млекопитающих при действии излучений с разной L . Однако различия между экспериментальными данными и результатами расчетов оказались довольно велики, что объяснялось разными авторами как результат упрощений в представлениях о структуре трека. Более точное описание характера взаимодействия разных типов излучений с клеточными мишенями было выполнено с использованием аппарата микродозиметрии.

Одним из основных предположений микродозиметрических моделей является допущение, что инактивация клетки происходит в том случае, когда в чувствительной области выделяется некоторая пороговая удельная энергия z_0 /22/. Кривая выживания в этом случае описывается уравнением:

$$S(D) = \int_0^{z_0} f_D(z) dz = F_D(z_0), \quad /33/$$

которое по сути аналогично /4/ - классической многоударной модели. И хотя при возрастании L уравнение /33/ описывает трансформацию сигмоидных кривых в экспоненциальные, оно не позволяет описать зависимость $D_0^{-1}(L)$ с максимумом. На основе представлений, развитых в модели Росси, был проведен анализ размеров чувствительных мишеней клетки в предположении об аддитивном характере событий попадания, без учета возможности репарации возникающих повреждений. Такая формальная схема инактивации клеток явно входила в противоречие с представлениями о клетке как динамической и сложной системе.

В /23/ была предпринята попытка учесть процессы репарации, вводя представление об эффективной удельной энергии ($z_{эфф}$):

$$z_{эфф} = \max\{z_1\}, \quad /34/$$

где $z_1 = z_{1-1} e^{-D/m\tau p_0} + \Delta z_1$ - удельная энергия, аккумулированная в чувствительном объеме после 1-го попадания. Временной фактор $e^{-D/m\tau p_0}$ учитывает уменьшение выхода повреждений за время между событиями абсорбции энергии в мишени, где D - доза облучения, p_0 - мощность дозы, m - среднее число событий абсорбции, τ - время релаксации, отражающее эффективность репарации. Согласно модели, инактивация клетки происходит при достижении $z_{эфф}$ значения z_0 .

Дальнейшим усовершенствованием модели Росси явилось создание теории дуального действия излучений, в которой нашло развитие

представление о том, что биологический эффект проявляется не как некоторый пороговый эффект, а как процесс, описываемый сложной функцией /24/. Эта функция, характеризующая вероятность инактивации клетки (G), в чувствительном объеме которой сорбирована удельная энергия z, задается в виде:

$$G(z) = kz^2. \quad /35/$$

Теория дуального действия основана на том эмпирическом факте, что ОБЭ нейтронов в зависимости от дозы облучения можно выразить во многих случаях как

$$\text{ОБЭ} = \frac{1}{\sqrt{D_n}}. \quad /36/$$

Такую зависимость можно ожидать, если биологический эффект квадратично зависит от дозы при γ -облучении клеток ($G \sim D^2$) и линейно - при облучении нейтронами ($G \sim D_n$). Из микродозиметрических соображений такой характер зависимости можно получить в предположении, что при действии излучений разных типов в клетке линейно с дозой облучения образуются первичные повреждения с вероятностью $\sim z$, которые могут взаимодействовать друг с другом, приводя к возникновению летальных повреждений. Выход последних пропорционален z^2 . Среднее значение \bar{z}^2 для всей популяции будет $D^2 + \bar{\xi} \cdot D$, где $\bar{\xi}$ - энергетическое среднее удельной энергии в спектре одиночных событий $f_1(z)$, а количество леталей равно

$$G(D) = k(\bar{\xi}D + D^2) = k(\bar{\xi} + D)D. \quad /37/$$

Из /37/ следует, что выход леталей в зависимости от дозы облучения пропорционален количеству первичных повреждений (kD), умноженному на среднюю концентрацию энергии ($\bar{\xi} + D$) вблизи первичных повреждений. При этом $\bar{\xi}$ является характеристикой концентрации энергии, создаваемой треком той же частицы, вызвавшей первичное повреждение /внутритрековое взаимодействие/, а D характеризует передачу энергии другими частицами /межтрековое взаимодействие/.

В более поздних работах /25/ для оценки выхода летальных повреждений в клетке при облучении теория дуального действия была сформулирована в более общем виде при введении трех функций: зависимости вероятности g взаимодействия между двумя повреждениями от расстояния x между ними g(x); введении структурной функции, характеризующей распределение чувствительных структур внутри ядра клетки v(x), представляющей собой средний частичный объем, который занимает чувствительная структура внутри шарового слоя толщиной dx на расстоянии x от случайно выбранной точки; введении функции t(x), учитывающей сумму энергии, переданной веществу в шаровом слое толщиной dx на расстоянии x от случайно взятой точки энерговыделения. Эту функцию можно запи-

сать как сумму двух слагаемых:

$$t_D(x) = t_x + 4\pi x^2 \cdot \rho \cdot D, \quad /38/$$

где первое характеризует передачу энергии внутри трека частицы, а второе /зависящее от дозы/ - межтрековый компонент. Среднее значение леталей на клетку в модифицированной теории дуального действия выражается как:

$$G(D) = \frac{c^2 \cdot \rho \cdot v}{2} \cdot D \cdot \int_0^\infty \frac{g(x) \cdot t_D(x) \cdot v(x)}{4\pi x^2} \cdot dx, \quad /39/$$

где ρ - плотность вещества, v - средний объем чувствительной структуры внутри ядра, c·D - выход первичных повреждений. По мнению авторов, формула /39/ пригодна как для описания индукции ДР и ОР, так и хромосомных aberrаций.

Теория дуального действия предсказывает лишь возрастание ОБЭ нейтронов с уменьшением дозы облучения, однако в рамках этих представлений остаются до конца нераскрытыми причины такого возрастания, неясным остается и биофизический смысл функций g(x), v(x) и т.д.

Более совершенной попыткой связать чувствительность клеток к действию разных типов излучений с молекулярными событиями, происходящими в клетке при облучении, является модель Гюнтера-Шульца /28/. В ней предполагается, что чувствительной структурой в ядре клетки является молекула ДНК. Выделение определенного количества энергии в пределах ДНК может привести к образованию биологически значимых повреждений, играющих роль в инактивирующем действии излучений. Передача энергии вне ДНК не вызывает образования таких повреждений. Предполагается, что повреждения ДНК возникают пропорционально дозе облучения (D):

$$N' = Y \cdot s \cdot D, \quad /40/$$

где N' - количество повреждений, Y - размер клеточного генома, s - коэффициент пропорциональности. В модели используется следующая аппроксимация для среднего количества повреждений при выделении удельной энергии z в клетке:

$$N = Y \cdot s \cdot z. \quad /41/$$

При пуассоновском характере распределения повреждений в клетке количество таких повреждений для данной удельной энергии z будет:

$$P(k) = (Ysz)^k / k! \cdot e^{-Ysz}, \quad /42/$$

где $P(k)$ - вероятность того, что при выделении в клетке энергии z образуется k повреждений. Если вероятность выживания клетки при образовании k повреждений будет $H(k)$ независимо от типа излучения, то функцию G можно записать в следующем виде:

$$G(z) = \sum_{k=0}^{\infty} \{H(k) \cdot (Y \cdot s \cdot z)^k / k! \cdot e^{-Y \cdot s \cdot z}\} \quad /43/$$

Вид функции G в модели зависит не только от z , но и от величины s , определяемой качеством излучения. Вводится так называемое микроскопическое ОБЭ (r), $r = s/s_0$, где s_0 - выход ДР ДНК при y -облучении. На основании этого кривая выживания описывается как

$$S(D) = \int_0^{\infty} G(z, r) \cdot f(z, D) dz \quad /44/$$

После преобразования /44/ для расчета s следует вычислить лишь интегралы $\int e^{-\eta z} f_1(z) dz$. При расчете кривых выживания необходимо знать характер функции $H(k)$ /сведения о ней авторы получают из кривой выживания при y -облучении/, величину поперечного сечения ядра клетки для вычисления $\int e^{-\eta z} f_1(z) dz$ и значения микроскопического ОБЭ, величину которого авторы получают или путем подгонки параметров, или же берут из экспериментальных данных о выходе ДР при разных L . Для описания выхода ОР и ДР от L авторами /26/ предложена собственная модель.

Таким образом, мы рассмотрели основные группы моделей, в которых с разных позиций предприняты попытки описания кривых выживания клеток. На основании проведенного анализа можно прийти к выводу о том, что в настоящее время отсутствует концепция, которая позволяла бы с единых позиций понять, какие процессы, происходящие в клетке при облучении, вызывают ее инактивацию и в итоге определяют характер кривой выживания; какие механизмы лежат в основе модификации этих кривых в условиях влияния многих приводящих факторов. Сейчас можно с уверенностью сказать, что без учета этих механизмов нельзя понять природу кривых выживания.

Поскольку к настоящему времени накоплена большая информация о закономерностях организации генетического аппарата клеток про- и эукариот, возникли реальные предпосылки конкретизации тех биологических процессов, которые оказывают определяющее влияние на характер дозовых кривых. Прежде всего это относится к клеткам прокариот, а именно к *Escherichia coli*. В исследова-

ниях на бактериях получена обширная информация, касающаяся структурно-функциональной организации генома, механизмов репарации и репликации ДНК, выделены чувствительные и суперрезистентные мутанты. Указанные обстоятельства позволяют провести теоретический анализ влияния биологических и физических факторов на характер кривых выживания при действии излучений с разной величиной L на бактерии *E. coli*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Timofeeff-Ressovsky N.W., Zimmer K.G. Das Trefferprinzip in der Biologie 1947, Leipzig S. Hirzel Verlag.
2. Циммер К.Г. Проблемы количественной радиобиологии. Госатомиздат, М., 1962.
3. Ли Д.Е. Действие радиации на живые клетки. Атомиздат, М., 1963.
4. Хуг О., Келлерер А. Стохастическая радиобиология. Атомиздат, М., 1969.
5. Payne M.G., Garrett W.R. Radiat. Res., 1975, 63, p. 201.
6. Локайчек М., Прокеш К. Медицинская радиология. 1979, №3, с. 22-28.
7. Капутьевич Ю.Г. Количественные закономерности лучевого поражения клеток. Атомиздат, М., 1978.
8. Naufles R.H. Radiat. Res., 1966, Suppl. 6, p. 1-29.
9. Рубанович А.В. Радиобиология, 1978, 18, с. 366-370.
10. Андреев А.Д. Радиобиология, 1982, 22, с. 399-402.
11. Wideröe R. Proc. of the Fourth Symp. on Microdosimetry, Verbania-Pallanza, 18-24, Sept., 1973, p. 405-413.
12. Laurie J., Orr J.S., Foster C.J. Brit. J. Radiol., 1972, 45, p. 362-368.
13. Lokajiček M. Československá Akademie Věd, FZU-81-5, 1981.
14. Chadwick K.H., Leenhaus H.P. Phys. Med. Biol., 1973, 18, p. 78-87.
15. Обатуров Г.М., Семенов В.П. Радиобиология, 1980, 20, с. 163-168.
16. Бреслер С.Е., Носкин Л.А. Радиобиология, 1978, 18, с. 548-555.
17. Todd P. Radiat. Res. Suppl., 1967, 7, p. 196-207.
18. Howard-Flanders P. Advances in Biol. and Med. Phys., 1958, 6, p. 553.
19. Neary C. Int. J. Radiat. Biol., 1965, 9, p. 477-502.
20. Wideröe R. Radiol. Clin. Biol., 1968, 36, p. 308-322.
21. Buttes J., Katz R. Radiat. Res., 1967, 30, p. 855-871.
22. Rossi H. Radiat. Res. Suppl., 1960, 2, p. 290.

23. Booz J. In: Second Symp. on Microdosimetry. Ed. H.G.Ebert, 1970, Brussel, Euratom, p. 737.
24. Kellerer A., Rossi H. Curr.Top.Radiat.Res.Q., 1972, 8, p. 85-158.
25. Kellerer A., Rossi H. Radiat.Res., 1978, 75, p. 471-488.
26. Günther K., Schulz W. Biophysical Theory of Radiation Action. Akademie-Verlag., Berlin, 1983.

НЕТ ЛИ ПРОБЕЛОВ В ВАШЕЙ БИБЛИОТЕКЕ?

Вы можете получить по почте перечисленные ниже книги, если они не были заказаны ранее.

	Труды VI Всесоюзного совещания по ускорителям заряженных частиц. Дубна, 1978 /2 тома/	7 р. 40 к.
	Труды VII Всесоюзного совещания по ускорителям заряженных частиц, Дубна, 1980 /2 тома/	8 р. 00 к.
D11-80-13	Труды рабочего совещания по системам и методам аналитических вычислений на ЭВМ и их применению в теоретической физике, Дубна, 1979	3 р. 50 к.
D4-80-271	Труды Международной конференции по проблемам нескольких тел в ядерной физике. Дубна, 1979.	3 р. 00 к.
D4-80-385	Труды Международной школы по структуре ядра. Алушта, 1980.	5 р. 00 к.
D2-81-543	Труды VI Международного совещания по проблемам квантовой теории поля. Алушта, 1981	2 р. 50 к.
D10,11-81-622	Труды Международного совещания по проблемам математического моделирования в ядерно-физических исследованиях. Дубна, 1980	2 р. 50 к.
D1,2-81-728	Труды VI Международного семинара по проблемам физики высоких энергий. Дубна, 1981.	3 р. 60 к.
D17-81-758	Труды II Международного симпозиума по избранным проблемам статистической механики. Дубна, 1981.	5 р. 40 к.
D1,2-82-27	Труды Международного симпозиума по поляризационным явлениям в физике высоких энергий. Дубна, 1981.	3 р. 20 к.
P18-82-117	Труды IV совещания по использованию новых ядерно-физических методов для решения научно-технических и народнохозяйственных задач. Дубна, 1981.	3 р. 80 к.
D2-82-568	Труды совещания по исследованиям в области релятивистской ядерной физики. Дубна, 1982.	1 р. 75 к.
D9-82-664	Труды совещания по коллективным методам ускорения. Дубна, 1982.	3 р. 30 к.
D3,4-82-704	Труды IV Международной школы по нейтронной физике. Дубна, 1982.	5 р. 00 к.
D2,4-83-179	Труды XV Международной школы молодых ученых по физике высоких энергий. Дубна, 1982.	4 р. 80 к.
	Труды УШ Всесоюзного совещания по ускорителям заряженных частиц. Протвино, 1982 /2 тома/	11 р. 40 к.
D11-83-511	Труды совещания по системам и методам аналитических вычислений на ЭВМ и их применению в теоретической физике. Дубна, 1982.	2 р. 50 к.
D7-83-644	Труды Международной школы-семинара по физике тяжелых ионов. Алушта, 1983.	6 р. 55 к.
D2,13-83-689	Труды рабочего совещания по проблемам излучения и детектирования гравитационных волн. Дубна, 1983.	2 р. 00 к.

Рукопись поступила в издательский отдел
2 февраля 1984 года.

Заказы на упомянутые книги могут быть направлены по адресу:
101000 Москва, Главпочтамт, п/я 79
Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований

ТЕМАТИЧЕСКИЕ КАТЕГОРИИ ПУБЛИКАЦИЙ
ОБЪЕДИНЕННОГО ИНСТИТУТА ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ

Индекс	Тематика
1.	Экспериментальная физика высоких энергий
2.	Теоретическая физика высоких энергий
3.	Экспериментальная нейтронная физика
4.	Теоретическая физика низких энергий
5.	Математика
6.	Ядерная спектроскопия и радиохимия
7.	Физика тяжелых ионов
8.	Криогеника
9.	Ускорители
10.	Автоматизация обработки экспериментальных данных
11.	Вычислительная математика и техника
12.	Химия
13.	Техника физического эксперимента
14.	Исследования твердых тел и жидкостей ядерными методами
15.	Экспериментальная физика ядерных реакций при низких энергиях
16.	Дозиметрия и физика защиты
17.	Теория конденсированного состояния
18.	Использование результатов и методов фундаментальных физических исследований в смежных областях науки и техники
19.	Биофизика

Козубек С., Красавин Е.А. 19-84-55
Факторы, определяющие характер кривых выживания бактерий *ESCHERICHIA COLI* при действии излучений с разной линейной передачей энергии. Математические модели кривых выживания

Проведен анализ математических моделей, описывающих кривые выживания (S) клеток от дозы облучения (D) ионизирующей радиацией с разной линейной передачей энергии (L). Отмечена преемственность идей в развитии представлений о механизмах, определяющих характер зависимости S(D) у разных типов клеток. Показано, что однозначная интерпретация дозовых кривых в рамках развитых формальных представлений невозможна. При выяснении природы зависимости S(D) у клеток про- и эукариот необходимо учитывать закономерности структурно-функциональной организации их генетического аппарата. Обосновывается возможность проведения теоретического анализа роли физических и биологических факторов в формировании характера кривых выживания бактерий *E. coli*.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Сообщение Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1984

Перевод О.С.Виноградовой

Kozubek S., Krasavin E.A. 19-84-55
Factors Determining the Shape of *E. coli* Survival Curves for Radiation of Different LET. Mathematical Models Describing Survival Curves

Mathematical models describing the dependence of the cell survival (S) on the dose (D) of ionizing radiation of different LET are reviewed and evaluated. The consecution of ideas concerning the mechanisms determining S(D) dependences have been noticed. It has been shown that an unambiguous interpretation is not possible within the framework of the analysed models. When explaining the nature of S(D) dependences in the case of pro- and eucaryotes the structural and functional organization of their genetic apparatus must be considered. The possibility of the theoretical analysis of the role of physical and biological factors influencing the shape of survival curves is substantiated.

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

Communication of the Joint Institute for Nuclear Research, Dubna 1984