

ОБЪЕДИНЕННЫЙ ИНСТИТУТ ЯДЕРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ЛАБОРАТОРИЯ РАДИАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ

*На правах рукописи*



**Мунхбаатар Батмунх**

**Математическое моделирование формирования радиационных  
повреждений в нервных клетках при действии ускоренных  
протонов и тяжёлых ионов**

1.5.1 – Радиобиология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание учёной степени

кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:  
доктор физико-математических наук  
Бугай Александр Николаевич

Москва – 2022

**Оглавление**

Введение.....	6
Научная новизна:.....	8
Глава 1. Анализ современного состояния проблемы .....	14
1.1 Дозы космического и медицинского облучения.....	14
1.1.1 Дозиметрия .....	14
1.1.2 Космическое облучение.....	15
1.1.3 Медицинское облучение.....	16
1.2 Воздействие ускоренных заряженных частиц на мозг.....	19
1.2.1 Описание структурных элементов в ЦНС .....	19
1.2.2 Нарушения структуры ЦНС и нейрогенез после облучения.....	25
1.3 Молекулярно-клеточные механизмы действия излучений .....	30
1.3.1 Первоначальное действие на биомолекулы.....	30
1.3.2 Механизмы восстановления и гибели клеток .....	34
1.4 Теоретические основы количественной радиобиологии .....	38
1.4.1 Метод Монте-Карло и физические системы .....	38
1.4.2 Микродозиметрия – характер передачи энергии частиц веществу .....	40
1.4.3 Характер кривых доза-эффект .....	42
1.5 Выводы к Главе 1 .....	45
Глава 2. Модели чувствительных структур ЦНС для микродозиметрических расчетов.....	47
2.1 Моделирование стохастической структуры треков заряженных частиц .....	47
2.1.1 Geant4 Монте-Карло программный пакет: .....	47
2.1.2 Geant4-DNA физические модели.....	49

2.1.3	Формирование радиолиза воды в треках частиц .....	52
2.2	Объемные модели нейронов и их субклеточных структур при моделировании треков частиц .....	56
2.2.1	Новое радиобиологическое приложение .....	56
2.2.2	Модели дендритных шипиков и синаптических рецепторов .....	60
2.2.3	Модели генетической структуры в ядрах нейронов .....	63
2.2.4	Модели нейронных сетей и гиппокампа .....	64
2.3	Настройка облучения и расчёт повреждений .....	68
2.3.1	Характеристики падающих частиц .....	68
2.3.2	Модель расчёта радиационных повреждений .....	69
2.3.3	Модель расчёта выживаемости клеток гиппокампа .....	71
2.3.4	Вычислительные ресурсы .....	72
2.4	Выводы к Главе 2 .....	73
Глава 3.	Моделирование физико-химических процессов при действии излучений на нервные клетки .....	75
3.1	Вероятность попадания частиц при прохождении их через нейроны .....	75
3.2	Количественная оценка поглощённой дозы .....	78
3.2.1	Микрораспределение дозы в структурах пирамидальных нейронов .....	78
3.2.2	Оценка энерговыделения в субклеточных структурах нейрона .....	81
3.2.3	ЛПЭ-зависимость поглощённой дозы в нейронной сети .....	82
3.3	Оценка уровня продуктов радиолиза, образующихся в нейронах .....	87
3.3.1	Радиационно-химический выход в зависимости от времени .....	87
3.3.2	Зависимость продуктов радиолиза воды от ЛПЭ .....	90
3.3.3	Оценка накопления свободных радикалов в синапсе .....	93
3.4	Сравнение различных моделей нейронов гиппокампа .....	94

3.5 Обсуждение полученных результатов .....	99
3.6 Выводы к Главе 3 .....	104
Глава 4. Закономерности формирования повреждений ДНК и летального действия излучений на клетки гиппокампа .....	106
4.1 Формирование молекулярных повреждений в нейронах .....	106
4.1.1 Относительный вклад прямых и косвенных повреждений ДНК .....	106
4.1.2 Прогнозирование повреждений ДНК разного типа .....	107
4.1.3 Эффективность кластеризации повреждений ДНК.....	109
4.1.4 Выход премутационных повреждений ДНК в отдельных генах .....	109
4.1.5 Зависимость микро-ОБЭ тяжёлых заряженных частиц от ЛПЭ .....	111
4.2 Анализ действия тяжелых ионов на гиппокамп .....	112
4.2.1 Количественная оценка облучённых клеток при прохождении частиц через гиппокамп .....	112
4.2.2 Дозовая зависимость количества клеток разных типов .....	114
4.2.3 Выживаемости радиочувствительных клеток гиппокампа .....	115
4.3 Обсуждение полученных результатов .....	118
4.4 Выводы к Главе 4 .....	123
Заключение .....	125
Список сокращений и условных обозначений.....	127
Основные публикации по теме диссертации.....	129
Список литературы .....	133
Приложение .....	147
А.1 Структура приложения «neuron» в Geant4 и формата SWC .....	147
А.2 Листинги программного кода .....	150
А.3 Набор расширенных команд, управляющих моделированием .....	158

А.4 Структура выходного файла и расширение формата PDB. ....	160
А.5 Физические параметры и выходные данные .....	162
Благодарности.....	164

## Введение

**Актуальность работы.** Среди современных проблем, связанных с действием радиации на любое вещество, в том числе на живые организмы, качество ионизирующего излучения играет решающую роль. По сравнению с распространенными видами излучений (рентгеновскими и гамма-лучами) поражающее действие тяжёлых заряженных частиц на биологические структуры значительно выше. Это связано с тем, что в отличие от ионизирующих излучений электромагнитной природы, энергия которых равномерно распределяется по объему ядра облучаемой клетки, при прохождении тяжёлых ионов через вещество энергия распределяется вдоль трека частицы, вызывая сложные повреждения ДНК. Изучение биологической эффективности пучков ускоренных частиц чрезвычайно важно для медицины из-за расширяющегося применения адронных пучков в радиотерапии рака, в особенности, при лечении труднодоступных опухолей мозга. Кроме того, возникновение интереса к радиобиологии тяжелых ионов связано с развитием космических программ длительных полётов за пределами магнитосферы Земли, где организм космонавтов подвергается облучению тяжёлыми заряженными частицами высоких энергий, входящими в состав галактических космических лучей (ГКЛ). Традиционный подход к оценке радиационного риска для космонавтов связан с отдаленными стохастическими эффектами, такими как развитие рака и катаракты. Однако, в последнее время развивается новая концепция эргономического риска, связанного с нарушением высших интегративных функций мозга и операторской деятельности при облучении в ходе полета. Таким образом, исследования действия тяжелых заряженных частиц на структуры и функции центральной нервной системы (ЦНС), в настоящее время являются крайне актуальными.

Для оценки эффективности воздействия тяжёлых заряженных частиц на ЦНС необходима детальная информация не только о конечных нарушениях, но и о начальных процессах и механизмах формирования радиационных повреждений. В

наземных экспериментальных исследованиях на ускорителях заряженных частиц было выявлено, что облучение грызунов тяжёлыми ионами в низких дозах порядка 0.2 Гр, соответствующих спектру ГКЛ, вызывает нарушения пространственной ориентации и угнетение когнитивных функций. Эти нарушения в основном связываются с гиппокампом, как наиболее чувствительной областью ЦНС. При воздействии фотонных видов излучений таких эффектов не было выявлено даже при больших дозах порядка 10 Гр. Наблюдаемые когнитивные нарушения связаны не только с гибелью радиочувствительных нервных клеток в гиппокампе, но и с повреждением синаптических контактов, участвующих в передаче межнейронных сигналов. Данные эффекты являются следствием комплексных повреждений генетических структур в клеточном ядре нейронов при облучении тяжёлыми ионами, что приводит к гибели клеток или закрепляется в виде генных и структурных мутаций, проявляющихся, в частности, в виде нарушений структуры белков синаптических рецепторов. Таким образом, пространственное микрораспределение событий передачи энергии (энерговыведения) в треках заряженных частиц играет важную роль и проецируется на все уровни ЦНС: от повреждений ДНК до нарушений в работе отдельных клеток и отделов мозга. Начальные физико-химические события во время прохождения треков заряженных частиц через чувствительные мишени ЦНС, приводящие к радиационно-индуцированным повреждениям нейронов, вплоть до настоящего времени были изучены очень слабо. Проводились лишь расчеты макроскопической дозы и статистика попаданий в различные отделы мозга при оценке радиационного риска в космосе. В связи со сложностью экспериментальной оценки радиационных рисков для ЦНС при действии тяжёлых ионов требуется развитие методов моделирования, позволяющих предсказывать повреждения нервных клеток головного мозга, что представляется актуальной задачей, имеющей методическую и научно-практическую значимость.

**Целью** данной работы является выявление особенностей повреждающего действия разных видов ионизирующих излучений на клетки центральной нервной системы путём моделирования взаимодействия частиц с веществом. Для достижения поставленной цели решались следующие основные **задачи**:

1. Разработать модели клеток и структур головного мозга с чувствительными мишенями для дозиметрического анализа.
2. Рассчитать вероятности попаданий заряженных частиц различных типов при прохождении их через нейроны.
3. Провести количественную оценку распределения поглощённой дозы и продуктов радиолиза воды в объемных структурах нейронов при действии заряженных частиц с различными физическими характеристиками.
4. Исследовать формирование первичных молекулярных повреждений в ядрах нейронов с учётом элементарных актов передачи энергии и процесса радиолиза воды при облучении частицами различного типа и энергии.
5. Рассчитать количество поврежденных нейронов разных типов при прохождении тяжёлых ионов через гиппокамп.
6. Произвести расчет выживаемости радиочувствительных клеток в гиппокампе после облучения.

**Научная новизна:**

1. Впервые реализована модель переноса излучения с использованием детальных геометрических моделей нервных клеток для изучения особенностей повреждающего действия ускоренных заряженных частиц на структуры центральной нервной системы.
2. Разработана оригинальная биофизическая модель, позволяющая рассчитывать вероятности попаданий и индукции возможных радиационных повреждений в нервных клетках.
3. Впервые исследованы физические и химические параметры при прохождении заряженных частиц через детальные модели нейронов, в том числе критические структуры, такие как ДНК и синаптические рецепторы.



4. Получены новые данные о качественных и количественных закономерностях формирования первичных молекулярных повреждений после прохождения через ДНК нейронов тяжёлых заряженных частиц в широком диапазоне энергий.
5. Сформулированы и рассчитаны распределение поглощенной дозы в гиппокампе и гибель радиочувствительных нервных клеток после облучения.

#### **Теоретическая и практическая значимость.**

- Разработанные теоретические модели могут быть использованы для дальнейшего развития методов радиационных нарушений структур ЦНС, а также для экстраполяции ограниченных радиобиологических экспериментальных данных на различные виды ионизирующих излучений в широком диапазоне физических характеристик.
- Разработан прикладной программный пакет “neuron” для моделирования радиационных повреждений нервных клеток, включенный в дистрибутив Geant4-DNA.
- Полученные данные и разработанные методы вносят вклад в оценку радиационных рисков для ЦНС космонавтов при реализации длительных космических полётов.
- Разработанные модели могут быть применены для оценки побочных эффектов в здоровых тканях и расчета гибели опухолевых клеток при планировании адронной терапии рака мозга.

**Методология и методы исследования.** В работе использовались общенаучные и специальные методы. При проведении исследований в рамках одного модельного подхода был использован самосогласованный набор современных количественных методов: метод Монте-Карло в программном комплексе Geant4 и специализированном коде Geant4-DNA для моделирования фундаментального взаимодействия излучения с веществом на физической и химической стадии; дополнительные архивы и библиотеки, содержащие набор экспериментальных данных для сечений рассеяния; метод реконструкции детальной геометрии

нервных клеток разных типов ЦНС и их молекулярных структур на основе экспериментальных данных; язык программирования C++ для описания программ и алгоритмов; программные инструменты QT и Blender с графическим пользовательским интерфейсом (GUI) для трехмерной визуализации структуры треков частиц и геометрии нейронов; метод анализа Шолля для измерения количества дендритных пересечений нейронов после облучения. Для анализа и визуализации полученных данных использовались статистические методы, реализованные в ROOT и Python, а также программные пакеты Wolfram Mathematica и OriginLab. Моделирование электрической активности различных моделей нейронов было реализовано в программной среде NEURON. Для проведения вычислительных экспериментов использовался суперкомпьютер «Говорун».

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Разработанный алгоритм позволяет смоделировать любую геометрию нервных клеток и областей мозга в программном пакете Geant4 для микродозиметрических расчетов и вычисления повреждений ДНК при действии тяжелых заряженных частиц.
2. Результаты микродозиметрических расчетов показывают, что большая часть поглощенной дозы в нервной клетке приходится на дендриты, что существенно зависит от геометрии клеток и типа частиц, а вероятность попадания в клетку уменьшается с ростом линейной передачи энергии при одинаковой поглощенной дозе излучения в заданной области мозга.
3. Предложенный модельный подход позволяет детально произвести расчет количества и степени кластеризации повреждений оснований, однонитевых и двунитевых разрывов ДНК в нервных клетках с учетом вкладов прямых ионизаций и реакций со свободными радикалами при действии тяжелых заряженных частиц в широком диапазоне энергий.
4. Модель на основе расчета повреждений ДНК, индуцированных тяжелыми заряженными частицами, позволяет предсказать выживаемость

радиочувствительной популяции клеток субгранулярной зоны гиппокампа крыс.

**Достоверность** результатов диссертационной работы обеспечивается применением корректных теоретических расчётных методов Монте-Карло моделирования транспорта заряженных частиц через вещество, радиационной химии в треках, нейробиологии, а также каждого этапа их моделирования и все параметры на основе экспериментальных данных. Полученные результаты находятся в согласии с известными экспериментами в области радиобиологии.

**Апробация работы.** Основные результаты обсуждены на следующих международных и российских научных конференциях и совещаниях: VIII Съезд по радиационным исследованиям (2021, ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва; устный доклад); 1st Workshop «AI for Hyperspectral Image Processing» (2021, Slănic-Moldova, Romania; устный доклад); Международная конференция «Актуальные вопросы биологической физики и химии» (2019, МГУ, Москва; устный доклад); International conference «Mathematics. Computing. Education» (2013, 2016, 2018-2020, Pushchino, Dubna, Russia; устный и стендовый доклад); «JINR Young Scientists and Specialists Association Workshop» (2020, Alushta, Crimea; устный доклад); «Geant4 International Tutorial and Workshop» (2019, Ulaanbaatar, Mongolia; устный доклад); «ESA-FAIR Space Radiation School» and workshop on heavy ion applications in physics, biology and medicine (2019, Darmstadt, Germany; устный доклад); Школа-конференция молодых ученых «Ильинские чтения», (2018, ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва; устный доклад); International Conference «Modern Trends in Natural Sciences and Advanced Technologies in Science Education» (2018, Ulaanbaatar, Mongolia; устный доклад); International Conference «Topical Issues in Space Radiobiology and Astrobiology» (2018, Dubna, Russia; устный доклад); International Baldin Seminar on High Energy Physics Problems «Relativistic Nuclear Physics and Quantum Chromodynamics» (2018, Dubna, Russia; устный доклад); International Conference «Mathematical Modeling and Computational Physics» (2017, Dubna, Russia; устный доклад); Российская научная

конференция с международным участием «Медико-биологические проблемы токсикологии и радиобиологии» (2015, Санкт-Петербург, Россия; устный доклад); Международная научная конференция «Объединения молодых ученых и специалистов» ОИЯИ (2014-2016, 2020, Дубна, Россия; устный и стендовый доклад); 6th International Conference on «Contemporary Physics (2016, Ulaanbaatar, Mongolia; устный доклад); IV International conference «Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology, and evolution» (2015, St. Petersburg, Russia; стендовый доклад); «ICTP-ICTS Winter School-Workshop on Quantitative Systems Biology: Neuroscience» (2014, Trieste, Italy; устный и стендовый доклад); International Workshop «Computational and Theoretical Modeling of Biomolecular Interactions» (2013, Dubna, Russia; устный доклад).

Соискатель руководил образовательными проектами международной студенческой практикой Учебно-научного центра ОИЯИ (1 этап 2015, 2 и 3 этап 2018) «Моделирование радиационно-индуцированных эффектов на молекулярно-клеточном уровне», а также исследовательскими грантами ОИЯИ № 14-092-04 и № 18-702-02. Соискатель был удостоен III премии ОИЯИ для молодых учёных за 2020 год в номинации «Научно-методические работы».

**Личный вклад.** При планировании, организации и проведении исследований по всем разделам и этапам работы доля участия соискателя составила не менее 80%. Основные научные результаты и выводы, содержащиеся в диссертации, получены автором самостоятельно.

**Публикации.** Основные результаты диссертации изложены в 20 опубликованных работах, в том числе в 9 статьях [A1-A9] в рецензируемых научных журналах (Web of Sciences, Scopus и RSCI), определенных п. 2.3 Положению о присуждении учёных степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова и 1 статье [A10] в журнале, входящем в перечень изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

**Объем и структура работы.** Диссертация объемом 164 страниц состоит из введения, 4 глав и выводов, включает 46 рисунков, 12 таблиц, 24 формул, 1 приложение и список цитируемой литературы из 156 наименований.

## **Глава 1. Анализ современного состояния проблемы**

В первой главе диссертации приведён анализ научной литературы о современном состоянии исследований влияния ускоренных заряженных частиц на ЦНС в связи с проблемами радиационной безопасности дальних космических полётов и использования ТЗЧ в медицине при лучевой терапии злокачественных опухолей мозга. Обсуждаются радиочувствительные структуры нервных клеток головного мозга на основе современных экспериментальных данных. Рассмотрены фундаментальные основы механизмов формирования молекулярных повреждений, индуцированных факторами физической и химической природы. Представлены теоретические основы моделирования процесса прохождения заряженных частиц через вещество методом Монте-Карло и принципы количественной радиобиологии в рамках микродозиметрической концепции.

### **1.1 Дозы космического и медицинского облучения**

#### **1.1.1 Дозиметрия**

С момента открытия X-лучей В.К. Рентгеном в 1895 году, началось развитие радиобиологических исследований, и которые широко использовались в промышленности и медицине для сохранения здоровья человека. Воздействие радиации на живые организмы зависит от полученной дозы облучения (поглощённой дозы) и качества ионизирующего излучения (поток фотонов и заряженных частиц). Единицей поглощённой дозы является 1 Гр (Грей) = 1 Дж/кг, который соответствует 1 Зв при воздействии фотонных видов излучения, и 20 Зв при воздействии тяжёлых заряженных частиц.

Эффективная доза даёт возможность измерить ионизирующее излучение с точки зрения потенциала нанесения вреда. Среднее значение годовой эффективной дозы облучения населения мира (Россия, США, Японии и Европейских государств) от всех источников ионизирующего излучения составляет ~3.01 (3.76, 6.24, 3.83 и 3.65) мЗв в год [1-5]. При этом ~79.7 (86.1, 49.6, 39.2, 55.0) % дозы дают естественные природные источники и ~20 (13.6, 48.1, 60.0, 45.0) % – медицинское

облучение. Если человек получать больше 50 мЗв в год, то возникает возможный риск заболевания раком, а если за раз получить 300 мЗв, может начаться лучевая болезнь [5].

### 1.1.2 Космическое облучение

Одним из важнейших источников естественного ионизирующего излучения являются космические излучение, и, его интенсивность возрастает с возвышенностью [6]. Значение эффективной дозы составляет 0.37 мЗв/год на уровне моря, а в высокогорных городах (Денвер, США) достигая или превышая 1 мЗв/год. Аналогично, ввремя полёта на самолёте на высоте 10 – 12 км, каждый авиапассажир получает дозы космического излучения от 3–9.7 мкЗв/ч, составляя в 20 – 40 раз большей, чем у земной поверхности [7]. Далее, доза облучения на МКС, высота орбиты которой — 400 км получает 0.3-0.8 мЗв/сут (~600 мЗв/год в среднем 200 раз больше, чем на Земле) [8]. По оценкам в ходе марсианской миссии космонавт получает дозы космического излучения в среднем 1000 мЗв (до 750 раз больше, чем на Земле) [9; 10]. На поверхности Земли люди хорошо защищены от ГКЛ и СКЛ магнитосферой, но в межпланетном космосе такой защиты нет. На текущий момент принципиальной нерешённой проблемой остаётся защита от потоки высокоэнергетических сильно ионизированных частиц, известных как ГКЛ во время перелёта к Марсу. На рисунке 1.1 показаны потоки и спектр ГКЛ в открытом пространстве. По потоку ГКЛ на 85-92% состоят из протонов, на ~11% из ядер гелия, около 1% электронов, и примерно 1% составляют тяжёлые заряженные частицы [10]. Энергетический спектр ГКЛ на 43% состоит из энергии протонов, ещё на 23% — из энергии ядер гелия и 34% энергии, переносимой остальными частицами. Однако, годовая эффективная доза составила примерно 68 мЗв/год при протонах, 26 мЗв/год при ионах гелия и 245 мЗв/год при группах ионов железа ( $z=26$ ) на солнечном минимуме [11]. Такие высокоэнергетические частицы (более 10 МэВ) могут проходить через материал космического аппарата и через мозг космонавтов. Таким образом, в условиях длительных полетов к Марсу и другим планетам Солнечной системы необходимо оценить радиационные риски на

здоровые ткани, в первую очередь, на структуры центральной нервной системы, повреждение которых может привести к изменениям когнитивных функции космонавтов.

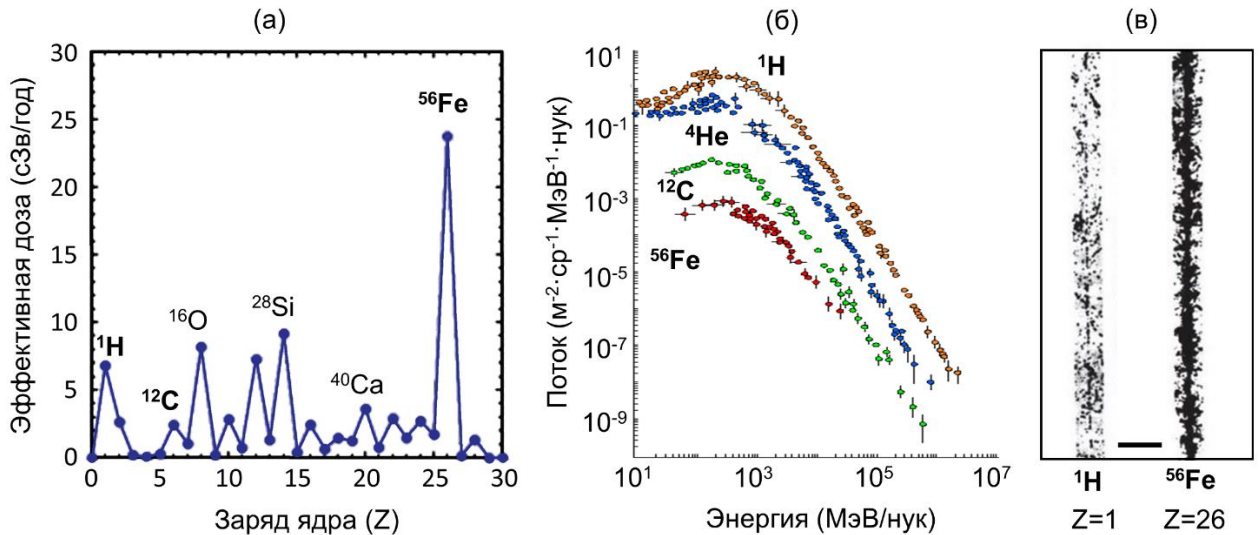


Рисунок 1.1 – Вклад в годовой эквивалент дозы (а) и энергические спектры главных компонент ГКЛ (б) в межпланетном пространстве: протонов ( $^1\text{H}$ ), ядер гелия ( $^4\text{He}$ ), углерода ( $^{12}\text{C}$ ) и железа ( $^{56}\text{Fe}$ ). Спектр имеет максимум при 300-1000 МэВ/нук. в) Треки протона ( $Z=1$ ) и иона железа ( $Z=26$ ), наблюдаемые в толстослойной ядерной эмульсии после облучения в верхних слоях атмосферы Земли. Отрезок указанной шкалы составляет 50 микрон [11-13].

### 1.1.3 Медицинское облучение

На Земле люди каждый день подвергаются воздействию радиации из искусственных источников – от производства ядерной энергии ( $<0.01$  мЗв/год), продуктов питания (около 0.1 мЗв/год) до медицинского использования ( $> 0.5$  мЗв/год) [14]. На медицинское использование радиационной диагностики или лечения приходится 98% всей дозы облучения из всех искусственных источников; оно составляет 20-60% от общего воздействия на население (см. 1.1.2). Для диагностических целей существует своя допустимая доза облучения: Флюорография, маммография – 0.8 мЗв; зубной рентген – 0.15-0.35 мЗв; Рентгенография органов грудной клетки – 0.15-0.40 мЗв; КТ – 2.3-10 мЗв [15; 16]. Для рентгенологов не должен получить больше 20 мЗв в год. В настоящее время



наиболее эффективным средством лечения многих типов рака является лучевая терапия. Ее рекомендуется применять в 50-70 % случаев как самостоятельно, так и в комбинации с другими методами лечения (например, хирургия и химиотерапия), и показания к ее применению постоянно расширяются [17; 18]. В этом случае возникает проблема, как целенаправленно убить злокачественная опухоль при минимальном риске повреждения здоровых тканей, и как это сделать наиболее эффективно, чтобы можно было обойтись минимальной дозой излучения. Потому что пучки ионизирующих излучений на своём пути смогут повредить тысячи клеток головного мозга. По сравнению с излучениями электромагнитной природы, частицы больших энергий имеют обратное глубинное распределение дозы: минимальная энергия при прохождении частиц через вещество ткани выделяется на начальном участке (при прохождении через здоровые ткани), и передача энергии частиц веществу (энерговыведения) резко возрастает в конце пробега (пик Брэгга). Таким образом, пучки заряженных частиц (протоны и ионы углерода) в космическом излучении используются в медицине для терапии, особенно глубоко залегающих опухолей головного мозга [19; 20]. Протоны с энергией в 100 - 200 МэВ/нук успевают до полного торможения пробежать в воде (тело человека на 90 % состоит из воды) путь длиной ~7 - 25 см (Рисунок 1.2). В этом случае при облучении глубоко залегающих опухолей достигается максимальный уровень облучения опухоли при меньшем уровне облучения нормальных, прилегающих к опухоли тканей, а также критических органов. Такая особенность протонной терапии позволяет значительно уменьшить радиационную нагрузку на здоровые ткани по сравнению с пучками фотонов. Ещё большие различия в уровне поглощённых доз присущи ускоренным ионам углерода и достигают значений, равных 3 и более [23]. С учётом этого в ряде стран созданы специализированные центры для адронной терапии. В настоящее время во всем мире работают 89 протонных центров (+31 в процессе строительства) и 12 углеродных центров (+6 в процессе строительства и) [24]. Одно из них, в Медико-техническом комплексе на исследовательском большом ускорителе ОИЯИ (г. Дубна) проводятся регулярные

сеанс протонной терапии онкологических и некоторых других заболеваний (около 100 пациентов в год) [17]. При терапии опухолей ЦНС, облучение протонами проводится в дозах 45-70 Гр (=3в) [21; 22].

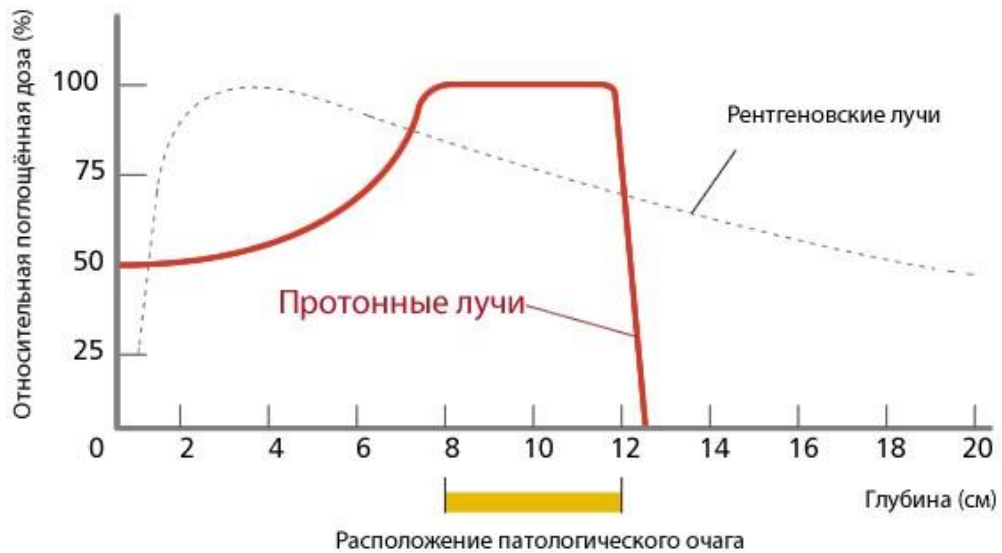


Рисунок 1.2 – Глубинное распределение доз для ионизирующих излучений (протоны и фотоны) [21].

Для планирования адронной терапии широко используются различные вычислительные коды, основанные на Монте-Карло моделировании выделения терапевтической дозы в различных фантомах [25]. Однако, следует заметить, что в коммерческих медицинских программах до сих пор не учитываются биологические процессы, в частности выход повреждений ДНК и гибели клеток. В связи с этим такое моделирование представляет собой наиболее активно развивающуюся область.

## 1.2 Воздействие ускоренных заряженных частиц на мозг

### 1.2.1 Описание структурных элементов в ЦНС

#### *Морфология нейрона*

Структурно-функциональной единицей нервной системы является нервная клетка — нейрон. Нейроны обладают разнообразными размерами, формами, связями, а также специализацией нейротрансмиттеров и рецепторов [26]. Типичный нейрон состоит из тела клетки (сома), одного аксона, и дендритного дерева на них шипиками и рецепторы (Рисунок 1.3). Сомы содержат ядро клетки (генетическую структуру - ДНК) и другие органеллы, которые необходимы для поддержания функционирования клетки. Аксон – это длинное волокно, иногда разветвляющееся, которое выходит из сомы и у человека простирается на большое расстояние до 1 м. Дендриты — это тонкие придатки, которые также возникают из сомы и становятся более узкими по мере удаления от тела клетки. Они включают тысячи дендритных шипиков (расположение большинства синапсов), которые представляют собой крошечные компартменты, которые выступают из дендритов и образуют постсинаптические структуры синапсов [27; 28].

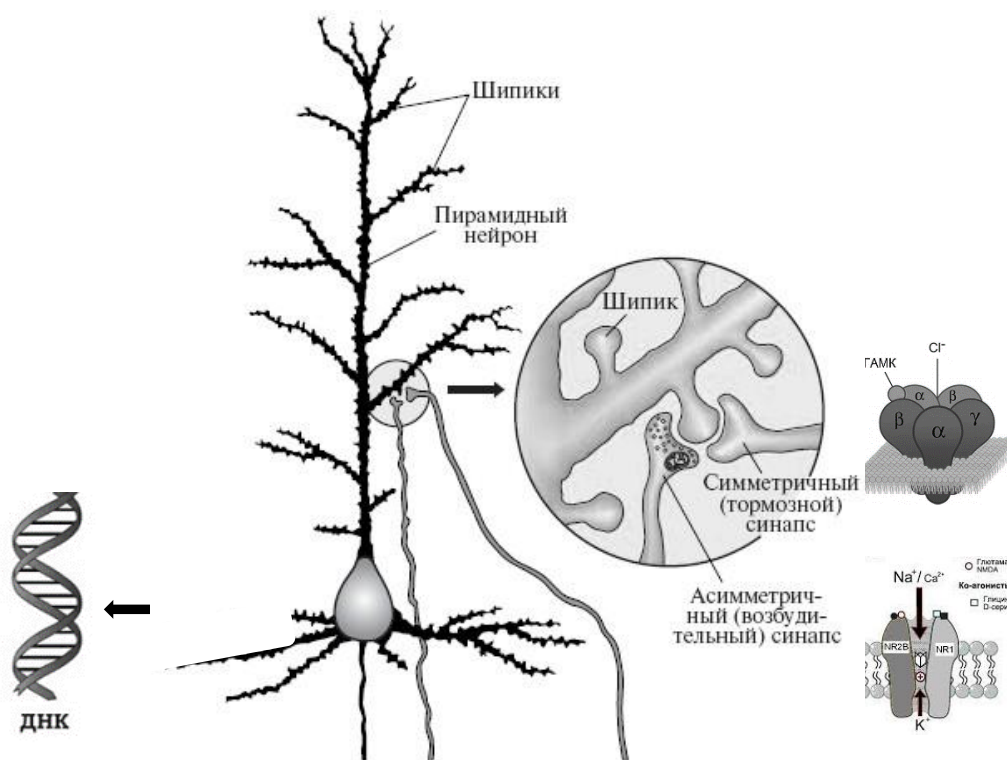


Рисунок 1.3 – Основная структура нейрона – сома, содержащая ДНК (слева от нейрона) аксон и дендриты с шипиками и рецепторами (ГАМК и NMDA – справа от нейрона) [29].

### ***Синаптическая структура нейронов***

На соме и дендритах нейрона расположены синапсы двух типов: тормозные и возбуждающие, участвующие в регуляции ионных токов, реализующих межнейронное взаимодействие [28]. Возбуждающие синапсы содержат многочисленные NMDA (*N-метил-D-аспарат*) рецепторы и мало или совсем без AMPA (*α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота*) рецепторов, которые расположены на поверхности дендритных шипиков. Большинство тормозных синапсов содержат ГАМК (*гамма-аминомасляная кислота, GABA*) рецепторы, которые в основном расположены на соме. Структурно NMDA- и AMPA-рецепторы представляют собой полимер из 4 субъединиц — 2 из подтипа NR1 и 2 из подтипа NR2. Известно, что ионотропный ГАМК<sub>A</sub>-рецептор представляет собой гетеропентамер, где все пять субъединиц имеют одинаковую третичную структуру (Рисунок 1.3 справа).

Синаптический рецептор включает в себя два составляющих, первый можно назвать «узнающим центром», второй – «ионным каналом». Ионный канал открывается только в том случае, если молекулы медиатора занимают определенные места (узнающий центр) на рецепторе [29]. После открытия ионного канала ионы начинают входить в клетку (ионы натрия –  $Na^+$ ) или выходить (ионы калия –  $K^+$ ) из клетки. Мембрана возбуждающих синапсов пропускает ионы натрия и калия, при этом мембрана нейрона деполяризуется. Мембрана тормозных синапсов пропускает только ионы хлора ( $Cl^-$ ). В этом случае мембрана гиперполяризуется. Так, нейрон вследствие воздействия через соответствующие синапсы может возбуждаться или затормозиться.

### *Генетическая структура нейронов*

Одним из наиболее важных компонентов ядра нервной клетки является дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). В этой молекуле хранится генетическая информация, которая будет использоваться во время развития, функционирования и воспроизводства клетки. Роль этой молекулы фундаментальна, поэтому она считается одной из критических мишеней действия ионизирующего излучения. Молекула ДНК представляет собой полимер, состоящий из двух скрученных s-образных цепей, образующих у человека двойную спираль диаметром примерно 2 нм и длиной примерно 2 м [30].

Основным элементом ДНК является нуклеотид (А-аденин, Т-тимин, Г-гуанин и С-цитозин) и сахарофосфатной группы (S и P). А может соединяться только с Т, а G может соединяться только с С, связанные водородными связями (Рисунок 1.4). Исходя из структуры молекул, основания, входящие в состав нуклеотидов, разделяют на две группы: пурины (А и G) образованы соединёнными пяти- и шестичленным гетероциклами; пиримидины (С и Т) — шестичленным гетероциклом. Пятиуглеродный сахар в ДНК называется дезоксирибоза и имеет номера 1', 2', 3', 4' и 5'. На 5'-конце, в начале цепи, расположена 5'-фосфатная

группа первого нуклеотида. На 3'-конце, находится 3'-гидроксильная группа последнего нуклеотида. Последовательность нуклеотидов в ДНК обычно записывается в направлении от 5' к 3' концу, что означает, нуклеотид на 5'-конце идёт первым, а нуклеотид на 3'-конце является последним. Это называется антипараллельной ориентацией и важно для копирования ДНК.

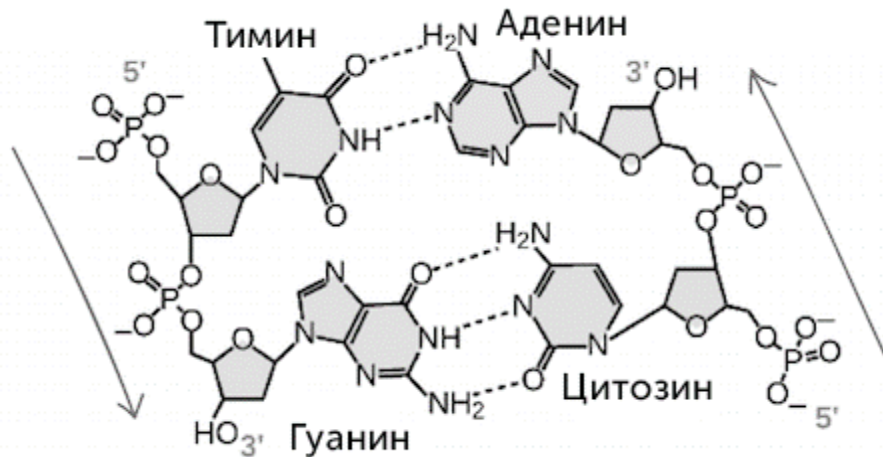


Рисунок 1.4 - Химическое представление двух пар нуклеотидов ДНК: аденин-тимин и гуанин-цитозин [31]. Две нити спирали направлены в противоположные стороны, то есть 5'-конец одной нити соответствует 3'-концу второй.

Известно [32], что упаковка ДНК в ядре эукариотической клетки (диаметр ~10-20 мкм) осуществляется в несколько этапов (Рисунок 1.5). Сначала нить ДНК укладывается в нуклеосомы (10-11 нм), при этом ее длина составляет в 146 – 200 п.н. (пар нуклеотид). Затем нуклеосомная нить складывается в так называемую 25-30 нм фибриллу (соленоид или зигзагообразную нить). Далее фибрилла организуется в большие (50 и более тысяч пар нуклеотидов) петли, что существует в двух формах: менее спирализованной (эухроматин) и более плотно-компактной (гетерохроматин). Дальнейшая упаковка этой хроматины может подвергаться разным уровням уплотнения с образованием хромосом. ДНК человеческих клеток конденсируется в 46 хромосом, каждая из которых содержит около 35 000 генов (или несколько миллионов пар нуклеотидов).

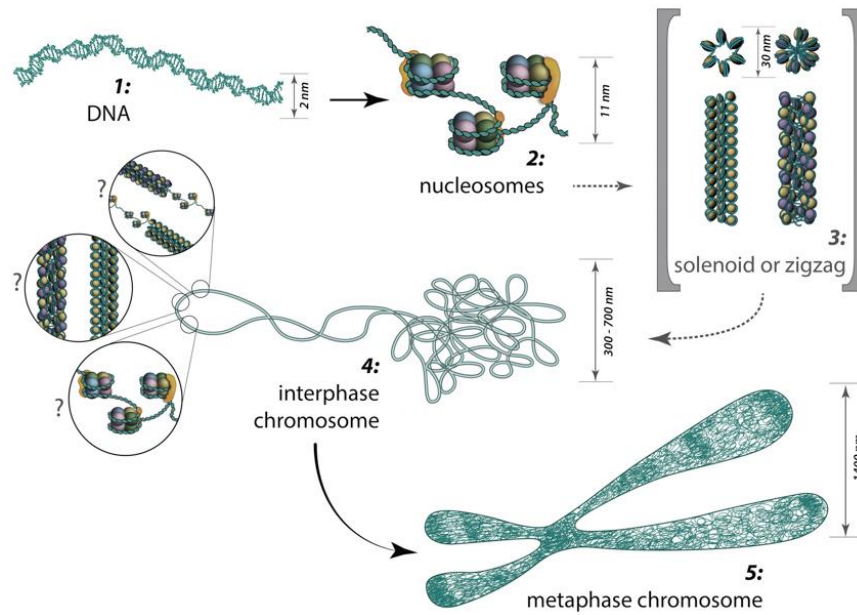


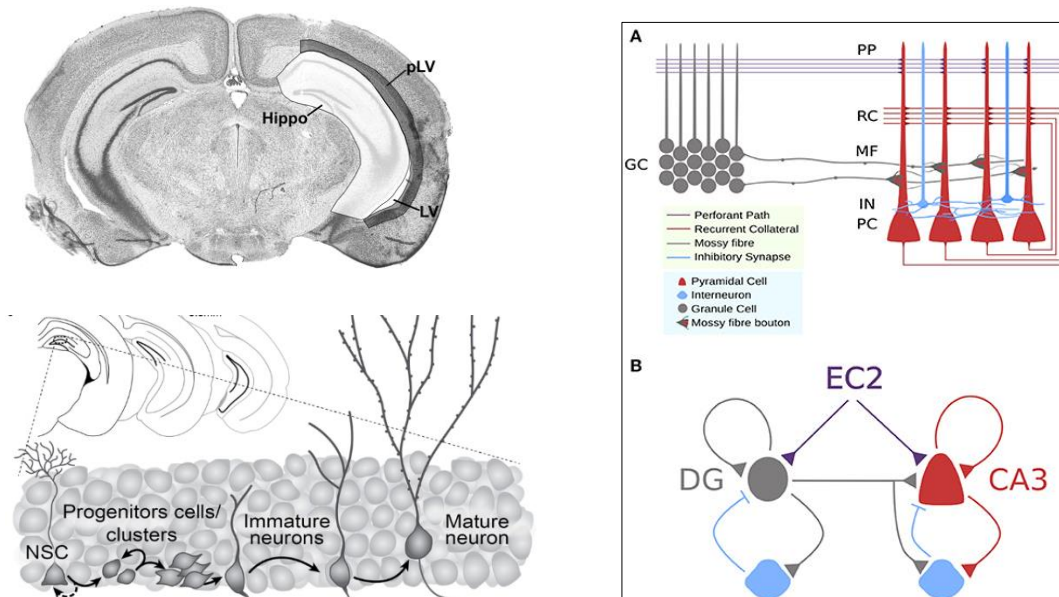
Рисунок 1.5 - Уровни упаковки ДНК в ядре эукариотической клетки [33].

Развитие новых экспериментальных технологий, основанных на высокопроизводительном секвенировании ДНК, даёт возможность картирования хромосомных контактов в геноме [34]. С 2009 года активно развивается технология Hi-C, который позволяет определять все хромосомные контакты в ядре клетки [35].

### *Гиппокамп*

В головном мозге имеется важная структура - гиппокамп, в котором постоянно идёт нейрогенез - образование новых нейронов из клеток-предшественников (нейрональные стволовые клетки). Клетки-предшественники нейронов пролиферируют на протяжении всей жизни у млекопитающих и дифференцируются в глиальные клетки (астроциты, олигодендроглии и микроглии) и нейроны, которые включены в нейронные цепи. Клетки гиппокампа, организованные в различные нейросети, играют важную роль в обучении, консолидации памяти, ориентации (навигации) в пространстве и формировании эмоций, а также в обработке информации, полученной одновременно из разных источников [37; 38].

Гиппокамп грызунов - одна из наиболее изученных нервных систем. На рисунке 1.6 показаны расположение гиппокампа в головном мозге и микросхем клеток гиппокампа. В гиппокампе крысы существует два основных типа нейронов: популяция примерно 1.2 миллиона гранулярных клеток в области DG (Dentate Gyrus – зубчатая фасция или зубчатая извилина) и популяция примерно 0.6 миллиона пирамидных клеток в области CA1/CA2/CA3 (Cornu Ammonis – область рогового аммония) соответственно [39; 40]. Эти нейроны характеризуются сложными дендритными деревьями с большим количеством ветвей [41].



Рисунке 1.6 – Расположение гиппокампа в мозге и слое DG гранулярных клеток, участвующих в стадиях нейрогенеза (слева): нейральные стволовые клетки (NSC), пролиферирующие клетки и кластеры, незрелые нейроны и зрелые гранулярные нейроны. Схема микросхемы клеток DG и CA3 в гиппокампе (справа) [42; 43].

На всех стадиях нейрогенеза клетки-предшественники, незрелые гранулярные клетки и зрелые нейроны можно измерить с помощью различных маркеров *Ki67*, *DCX* и *NeuN* соответственно [42]. В этом случае *Ki67* маркирует ядра клеток на всех фазах клеточного цикла, который состоит из двух периодов: 1) Интерфаз (фазы G1/G0, S, G2) - период клеточного роста, во время которого идёт



синтез ДНК и белков и осуществляется подготовка к делению клетки. Эта фаза соответствует 90% срока продолжительности клетки. Во время интерфазы каждая хромосома занимает пространственно-ограниченный, примерно эллиптический или сферический домен, который известен как территория хромосомы. 2) Митоз (период клеточного деления) является относительно короткой фазой цикла, а также сложной и высоко регулируемой. Во время этой фазы хроматин наматывается на хромосомы. Каждая копия хромосомы тянется за один или другой полюс клетки, и ядерная оболочка перестраивается вокруг каждого набора копий генома. ДНК разрушается, клетка делится на две дочерние клетки.

После выхода из клеточного цикла клетки-предшественники считаются незрелыми и зрелыми нейронами. До недавнего времени считалось, что дифференцировавшиеся зрелые нейроны находятся в фазе покоя G<sub>0</sub>, и невозможна повторная инициация клеточного цикла и процессы деления. Оказалось, что для данного нейрона возможна повторная дифференцировка [36]. Однако природа этого постоянного выхода из клеточного цикла и повторного входа все ещё плохо изучена.

### **1.2.2 Нарушения структуры ЦНС и нейрогенез после облучения**

В современной радиобиологии наименее изученным является влияние пучков заряженных частиц на активность различных структур ЦНС [44; 45]. Было показано, что радиационным поражением ЦНС нельзя пренебрегать при проведении радиационной терапии [46; 47], а также при планировании пилотируемых межпланетных перелётов [48–50], где организм космонавтов подвергается облучению тяжёлыми заряженными частицами, входящими в состав ГКЛ. Текущие оценки уровней неопределённости рисков рака как при наземном, так и при космическом облучении показаны на рисунке 1.7. Как показано здесь, неопределённости для космонавтов, находящихся в космосе, больше, чем для типичных экспозиций на Земле. Один из больших вопросов в этом случае: могут ли разработать эффективные меры противодействия риску повреждения ЦНС?

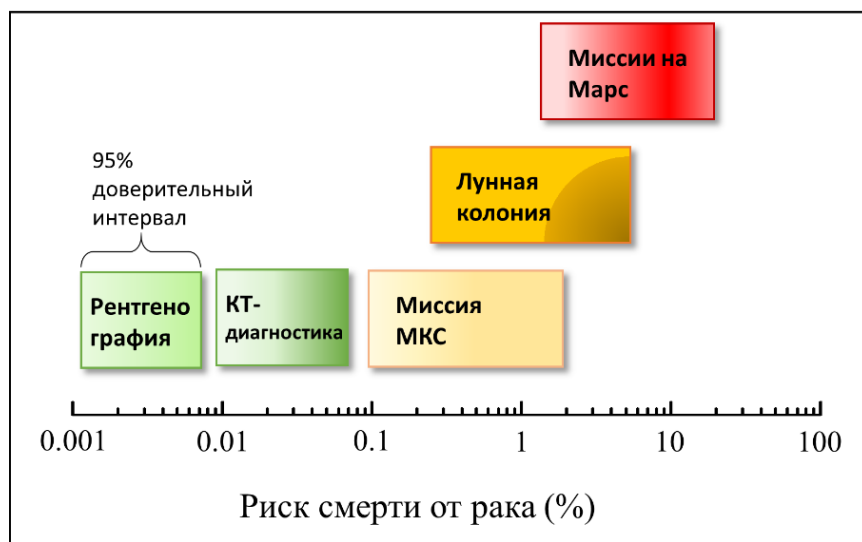


Рисунок 1.7 – Неопределённости в прогнозировании рисков для наземного и космического облучения. На этом рисунке показаны текущие оценки риска рака (ромбики) и 95% доверительные интервалы для взрослых в возрасте 40 лет, что является типичным возрастом астронавтов в космических полётах, для нескольких наземных экспозиций и миссий на МКС, а также прогнозы для лунная колония и миссия на Марс [51].

В наземных экспериментах на ускорителях тяжёлых ионов было показано, что при действии ядер тяжёлых ионов в достаточно низких дозах ( $< 1$  Гр), у лабораторных животных возникают многочисленные неврологические нарушения в ЦНС, приводящих к различным поведенческим и когнитивным нарушениям [50; 52]. Что касается животных, то было доказано, что воздействие ТЗЧ вызывает как ранний, так и длительный дефицит в ЦНС. Ранние эффекты, возникающие в течение нескольких месяцев после облучения, включают нарушение кратковременной памяти, снижение двигательной функции и изменения поведения. Поздние изменения ЦНС могут быть представлены различными неврологическими расстройствами с симптомами, соответствующими ускоренному старению, болезни Альцгеймера и другим когнитивным нарушениям [53]. Примечательно, что облучение ионами железа с высокой энергией (1 ГэВ/нук) в дозе 20 сГр, вызывает большие нарушения пространственной ориентации и угнетение когнитивных функций, которые не было выявлено при действии рентгеновских лучей в дозах 10 Гр [52]. Гибель нейронов происходит при огромных дозах, порядка  $\sim 50$  Гр, а повреждение нейроглии (не нейрональные

клетки) – после более 10 Гр фотонных видов излучений (рентген и гамма). Большинство этих нарушений связано не только с гибелью нервных клеток (прежде всего, гиппокампа, как наиболее чувствительной областью ЦНС), но и с нарушением механизмов синаптической передачи [52-55]. С учётом того обнаружено, что в гиппокампе крыс после облучения ионами железа с энергией 1 ГэВ/нуклон в низких дозах (0.6 Гр) отмечается значительное снижение уровня субъединиц NR1, NR2A и NR2B рецептора NMDA через 3 мес после облучения [56]. Данное исследование показывает, что глутаматергическая передача гиппокампа чувствительна к облучению заряженными частицами с высоким значением линейной передачи энергии (ЛПЭ). К известным результатам можно отнести изменение морфологии нейронных сетей гиппокампа, потерю дендритных ветвей и дендритных шипиков, что ограничивает передачу сигналов [57-59]. Конфокальные цифровые реконструированные EGFP-положительные нейроны, проанализированные в DG гранулярном слое гиппокампа, было показано значительное дозозависимое снижение сложности дендритов через 10 или 30 дней после воздействия протонов с энергией 250 МэВ (Рисунок 1.8).

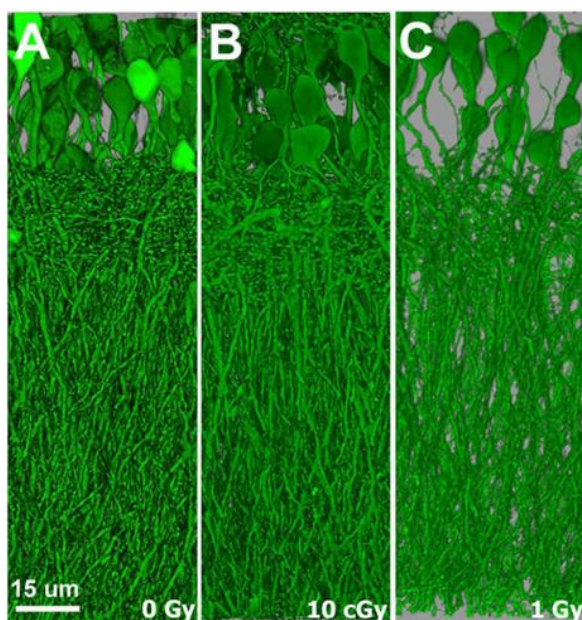


Рисунок 1.8 – Уменьшение структуры дендритной сложности DG нейронов гиппокампа после облучения протонами (0.1 Гр на панели В и 1 Гр на панели С). Панель А представляет изображение с более высоким разрешением реконструированных нейронов до облучения [55].

С другой стороны, радиационные повреждения генетических структур и также в отдельных генах нейронов (например гены *Arc* и *GRIN*), приводящих к мутациям различного типа, могут обуславливать экспрессию мутантных форм белков, участвующих в формировании структуры рецепторов, что может сказаться на их нормальном функционировании [60-62]. Наиболее значимо это может проявляться при возникновении кластерных повреждений ДНК, вызывающих тяжёлые нарушения генома и сопровождающихся возникновением структурных мутаций. Следовательно, изучалась корреляция снижения когнитивных функций в связи с тяжёлыми повреждениями ДНК, в особенности двунитевыми разрывами, а также изменением в профиле экспрессии генов, дефицит в ответах на повреждение ДНК *in vitro*, нейрогенез гиппокампа *in vitro* после воздействия ТЗЧ [63-65]. Такие исследования показали, что различные типы ионизирующего излучения нарушают не только пролиферацию нервных клеток-предшественников (что являются наиболее радиочувствительными клетками мозга млекопитающих), но также постоянно нарушают их дифференцировку в нейроны и другие нервные клетки (Рисунок 1.9).

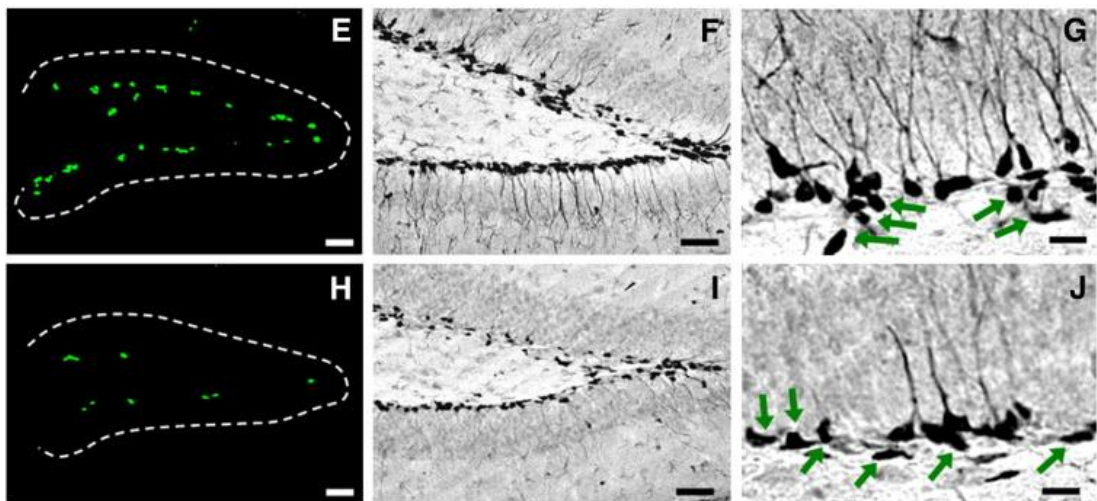


Рисунок 1.9 – Облучение ионами железа (1 ГэВ/нук  $^{56}\text{Fe}$ ) привело к значительному уменьшению количество клеток в слое DG гиппокампа. Репрезентативные микрофотографии слоёв DG от контрольных (E, F, G) и облучённых (H, I, J) животных [64].

Облучение ионами железа привело к значительному увеличению фокусов ДНК в клетках гиппокампа, что свидетельствует о долговременной геномной

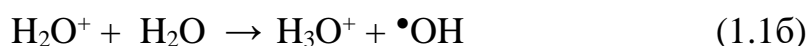
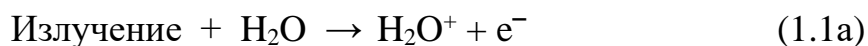
нестабильности в головном мозге [66]. Исследования *in vitro* с использованием клеток-предшественников нейронов грызунов из гиппокампа выявлено развитие окислительного стресса [67; 68], что при дозе менее 1 сГр ТЗЧ привели к значительно более высоким уровням окислительного стресса в нейросфере клеток-предшественников по сравнению с редкими ионизирующими излучениями (фотоны и протоны). При этом исследование остаётся недостаточно детальным анализом и количественными оценками структурных повреждений клеток ЦНС на молекулярном уровне после облучения ТЗЧ.

Радиационное поражение отдельных нейронов – это начальное событие, которое в дальнейшем приводит к нарушению функции ЦНС. Следовательно, вышеупомянутые эффекты нельзя полностью понять без изучения самых ранних стадий лучевого поражения отдельных нейронов и нейронных сетей. Нейрональные клетки имеют сложную морфологию, что делает их уникальными мишенями для излучения ТЗЧ [69]. В случае теоретических исследований, доступно меньше данных об оценках количества пересечений частиц на тело нейронной клетки при воздействии ГКЛ [70-72]. По оценкам в ходе марсианской миссии от 2-х до 13-ти процентов нервных клеток космонавтов будут пересекаться как минимум одним ионом железа. Также, около 20 миллионов нервных клеток из примерно 43 миллионов, входящих в структуры гиппокампа и 230 тысяч ядер клеток из 1.3 миллиона, входящих в структуры таламуса, будут пересекаться одной и более частиц с зарядом  $Z > 15$ . А сквозь ядро каждой клетки космонавта раз в три дня будет пролетать один протон, ионом гелия в каждые 3 недели и тяжёлыми ионами в несколько месяцев [73]. Однако, неясно моделирование начальных молекулярно-клеточных нарушений ЦНС при действии ТЗЧ. В прошлом не было рассматривались взаимодействия треков заряженных частиц с дендритными структурами нейронов и повреждения чувствительных элементов на уровне отдельных клеток и популяций клеток ЦНС.

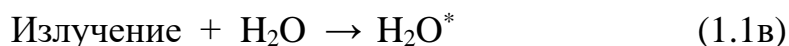
### 1.3 Молекулярно-клеточные механизмы действия излучений

#### 1.3.1 Первоначальное действие на биомолекулы

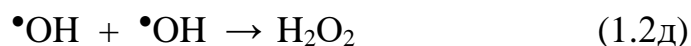
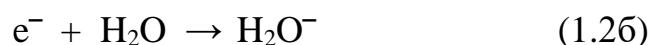
Первичные радиационно-индуцированные повреждения биомолекул формируются либо за счет прямого физического действия (возбуждение, ионизация), либо непрямого (косвенного) химического действия (диффузия и реакции) образующихся продуктов радиолиза воды [74]. Поскольку живые организмы на 60-90% состоят из воды, то ионизация ( $\text{H}_2\text{O}^\pm$ ) и возбуждение ( $\text{H}_2\text{O}^*$ ) при прохождении излучения через воду, приводят к образованию свободных радикалов и активных форм кислорода. Типичный процесс образования свободных радикалов можно продемонстрировать для воды:



и



в результате радиолиза воды образуется главный радикал гидроксила – это  $\bullet\text{OH}$ , которая обладает наиболее высокой реакционной способностью и может взаимодействовать с биомолекулами и компонентами окружающей их среды (молекулами воды и других веществ). Также, выброшенные вторичные электроны из первой реакции взаимодействуют с окружающими молекулами воды, пока не достигнут тепловых энергий (0.025 эВ), при этом возникает возбужденная молекула, которая диссоциирует с образованием двух радикалов  $\bullet\text{OH}$  и  $\text{H}^\bullet$ , пероксид водорода –  $\text{H}_2\text{O}_2$ :



В результате реакция свободных радикалов друг с другом, с аминокислотными остатками в белковой молекуле или нуклеотидами в молекуле ДНК, приводит к формированию первичных структурных повреждений клеток и тканей. Одной из наиболее важных молекулярных мишеней в нервных клетках является ДНК, поскольку она играет роль в правильном функционировании клетки и в передаче генетической информации потомству. На рисунке 1.10, представлена иллюстрация прямого и косвенного действия ионизирующего излучения на молекулу ДНК. Поскольку события энергосвободного выделения (ионизация и возбуждение) являются дискретными, производимые свободные радикалы, и они могут привести к потере основания или целого нуклеотида или к вырезанию сахарно-фосфатного остова, включая одну или обе цепи ДНК. Разрыв одной из нитей называют — однонитевым разрывом (ОР).

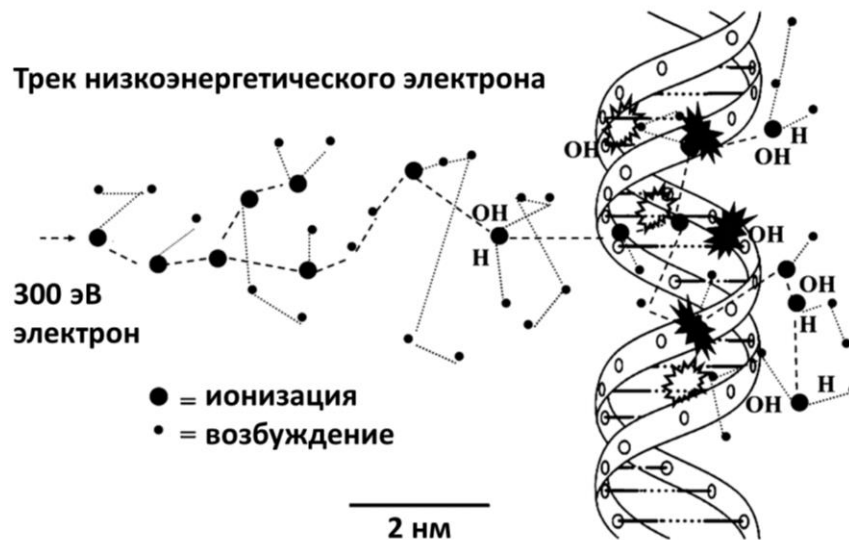


Рисунок 1.10 - Трек низкоэнергетического электрона (0.3 кэВ), пересекающий схематическую диаграмму молекулы ДНК, чтобы проиллюстрировать возможность разрыва цепи ДНК и повреждения основания в результате прямой и косвенной действия ионизации и свободных радикалов. Сплошные или открытые символы взрыва обозначают разрывы цепей ДНК или повреждённые основания, соответственно [76].

Интересно, что ОР и повреждение азотистых оснований (ПО) нуклеотидов ДНК возникают в клетке в нормальных условиях и без всякой связи с облучением в

результате теплового движения молекул, окислительных процессов и др. При действии плотно-ионизирующих излучений, совпадение разрывов противоположных нитей ДНК в одной точке приводит к появлению — двунитевых разрывов (ДР). ДР ДНК – тяжёлые повреждения и проводят клетке к гибели и хромосомным aberrациям, т.к. клетки не могут реплицировать ДНК. Частота образования ОР и ДР различно. На каждые 3-10 ОР приходится 1 ДР. Принято считать, что ДР образуется при возникновении двух ОР, разнесённых друг от друга на 7-10 нуклеотидов [75; 76].



Рисунок 1.11 – Временной масштаб процессов, происходящих в биологических системах при их облучении ионизирующим излучением (процессы разделены на стадии) [74].

После прохождения ионизирующего излучения через клетки основные радиобиологические процессы рассматриваются во временном масштабе на 3 основных стадии (Рисунок 1.11): 1) *физические взаимодействия* первичных процессов поглощения энергии излучения атомами и молекулами биологического структура, в результате они могут претерпевать возбуждение, ионизацию или



диссоциацию (расщепление); Эти процессы протекают за очень короткое время ( $10^{-24}$  –  $10^{-14}$  с). 2) *физико-химические взаимодействия и биомолекулярные повреждения* ( $10^{-14}$  –  $10^{-3}$  с). Характер таких процессов крайне разнообразен, тем не менее можно выделить наиболее типичные реакции и изменения: разрывы цепей; реакции восстановления; удвоение молекулы в результате реакции присоединения; внутримолекулярные изменения [74]. 3) *биологические эффекты (ранние – несколько часов; отдаленные до года и столетия)*. Последствие воздействие ионизирующей радиации на живые организмы может приводить к гибели клетки или иному событию (генетическую эффекту). Все эти проявления на высоком уровне биологической организации являются следствием энергосвободы и последующего индуцирования изменений на молекулярном уровне. Описание этих стадий имеет решающее значение при моделировании радиационного повреждения ДНК и биологических систем, особенно первых двух из перечисленных. В литературных данных [76; 77], при дозе редко-ионизирующего излучения в 1 Гр в ядре клетки млекопитающих создается около  $10^5$  ионизаций,  $2 \times 10^3$  ионизаций в ДНК, приводящих к  $\sim 1000$  ОР ДНК, 40 ДР ДНК,  $\sim 0.5 - 1$  хромосомных aberrаций,  $10^{-5}$  HPRT мутаций и  $10^{-5}$ /Гр рак, соответственно. Ранее с использованием различных подходов радиобиологических исследований, таких как экспериментальные методы (*in vivo* и *in vitro*) и моделирование хорошо исследовано первичных ДР ДНК в традиционных объектах исследований, примерами которых являются фибробласты кожи, лимфоциты периферической крови, некоторые виды раковых клеток, бактериальных клеток и др. [78-84]. В настоящее время компьютерное моделирование (*in silico* Монте-Карло методом) индукции и репарации повреждений ДНК заряженным частицами в генетических структурах клеток представляет собой наиболее активно развивающуюся область.

### 1.3.2 Механизмы восстановления и гибели клеток

Было упомянуто, что в результате прямой ионизации молекул ДНК и ее атаки свободными радикалами происходит разрыв химических связей между атомами. Конечный эффект облучения является результатом не только первичного повреждения генетических структурах клеток, но и последующих процессов их восстановления [84]. Однако, основной причиной репродуктивной гибели клеток является тяжёлое повреждение ДНК – ДР когда механизмы репарации ДНК оказываются неуспешными. Репарация ДР ДНК имеет большое значение для выживания терминальное дифференцированных клеток высокоспециализированных тканей млекопитающих, имеющих значительную продолжительность жизни, например нейронов. Двумя основными путями, ответственными за репарацию ДР, являются негомологичное соединение концов (Non-homologous end-joining, NHEJ) и гомологичная рекомбинация (Homologous recombination, HR) [85]. Считается, что NHEJ – это первичный путь восстановления в клетках млекопитающих, функционирующий на протяжении всего клеточного цикла и предполагающий легирование концов ДНК с минимальной ферментной обработкой в сайте соединения концов. HR является более активная в поздней S и G2 фазы клеточного цикла, использует в качестве репарационной матрицы неповреждённую сестринской хроматиды. Экспериментальными методами, позволяющими оценить повреждений и репарации ДНК и, таким образом, число ДР ДНК, являются метод гель-электрофореза в импульсном поле (PFGE), метод электрофореза в одноклеточном геле (Кометный анализ) и метод фосфорилирования гистона H2A (гамма-H2AX) [86; 87]. Гамма-H2AX - наиболее распространённый метод измерения кинетики репарации ДР ДНК после облучения (Рисунок 1.12).

Экспериментальные исследования показывают, что воздействие ионизирующих излучений разных типов излучений при одинаковых значениях поглощённых доз приводит к различным биологическим эффектам на клеточном уровне [88; 89]. На рисунке 1.13 показана зависимость количества фокусов гамма–

H2AX ДНК и выживаемости опухолевых клеток человека от поглощённой дозы при воздействии редко- и плотно-ионизирующего излучения [89]. Уменьшение плеча указывает либо на увеличение отношения летального к потенциально летальному повреждению, либо на снижение вероятности правильной репарации ДНК. Для количественной оценки качества ионизирующего излучения введено понятие ОБЭ – определяется как отношение дозы стандартного излучения (обычно жёсткие рентгеновы или  $\gamma$ -лучи) к дозе изучаемого излучения.

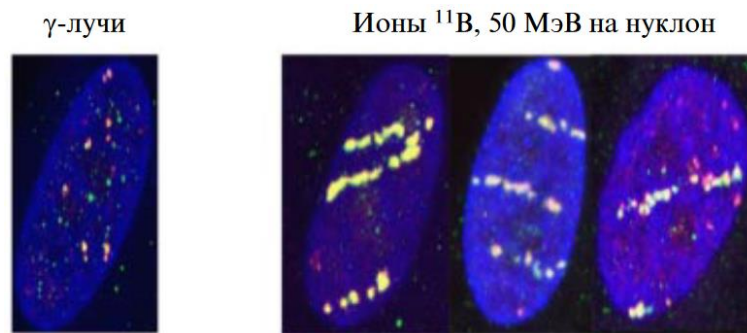


Рисунок 1.12 – Формирование фокусов репарации  $\gamma$ -H2AX в клетках человека как показателя ДНК повреждений при  $\gamma$ -облучении и действии ускоренных ионов бора [88].

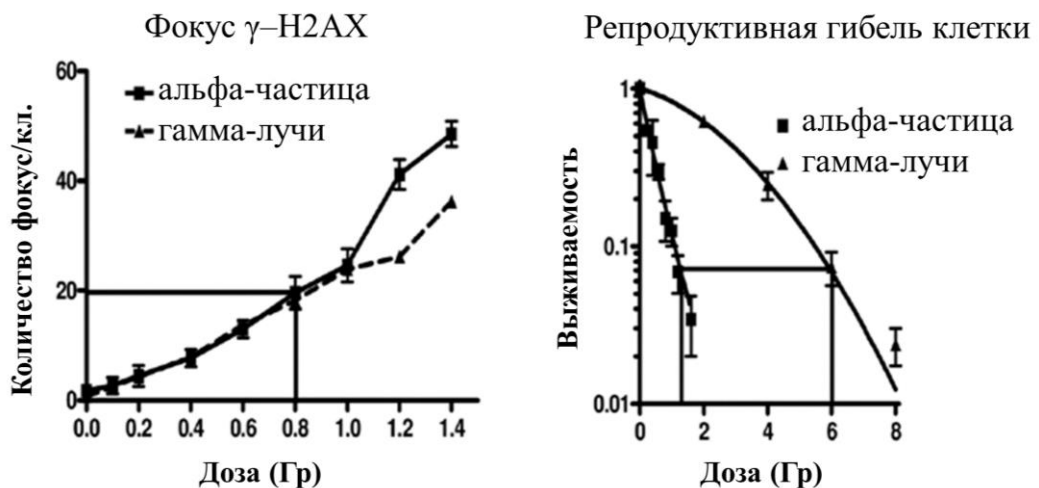


Рисунок 1.13 – Количества фокусов  $\gamma$ -H2AX ДНК (слева) и кривые выживаемости (справа) опухолевых клеток лёгких человека SW-1573 при облучении гамма-лучами и альфа-частицами [89].

На рисунке 1.14 приводятся значения ОБЭ заряженных частиц, оцениваемая по индукции летальных повреждений, делеционных мутаций и точковых (генных)

мутаций. Для летального действия, кривая проходит максимум при значениях ЛПЭ около 100 кэВ/мкм и возникает «критическое» число ионизации, достаточное для гибели клеток. Дальнейшее увеличение плотности ионизации неэффективно (клетка уже гибнет). По критерию индукции генных и делеционных мутаций величина максимума приходится на значения ЛПЭ  $\sim 20$  кэВ/мкм и  $\sim 50$  кэВ/мкм [88]. Такие разные эффекты обусловлены разным характером повреждений ДНК, проводящих к реализации генного мутагенеза и летальных эффектов. В первом случае преимущественно повреждаются основания, во втором – происходят ДР ДНК. Для кластерных ОР ДНК положение максимума сдвинуто почти на порядок в область меньших значений ЛПЭ. Это обстоятельство может объяснить различия в положении максимумов зависимостей ОБЭ от ЛПЭ в рамках микродозиметрической концепции.

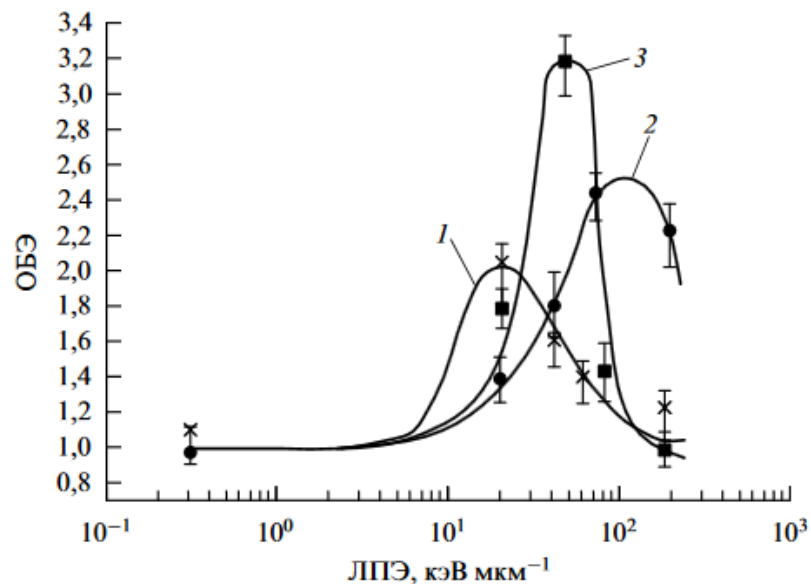


Рисунок 1.14 – Зависимость ОБЭ излучения от ЛПЭ, оцениваемая по различным критериям облучения: 1 – индукция генных мутаций; 2 – летальное действие; 3-индукция делеционных мутаций [88].

В условиях длительных орбитальных полётов при воздействии ТЗЧ на нейроны коры головного мозга и хрусталик глаза космонавтов оцениваемые величины коэффициентов ОБЭ в диапазоне ЛПЭ 50-200 кэВ/мкм могут иметь

значения от 50 до 100 [90]. Однако, при анализе влияния излучений на структуры ЦНС неясными и нерешёнными остаются многие молекулярные и клеточные механизмы на более ранние стадии радиационного воздействия, которые крайне важны для оценки дальнейшего развития радиационного эффекта в ЦНС. Ясно, что полноценное изучение наблюдаемых явлений представляется крайне затруднительным без применения математических моделей и компьютерных подходов. Благодаря значительному увеличению скорости и общих возможностей современных компьютеров стало возможным использовать более физически реалистичные стохастические модели. Поскольку, компьютерное моделирование на основе принципов метода Монте-Карло представляет собой эффективный инструмент для понимания механизмов возможных нарушений и экстраполяции экспериментальных результатов в широком диапазоне характеристике излучения.

## 1.4 Теоретические основы количественной радиобиологии

### 1.4.1 Метод Монте-Карло и физические системы

Для изучения процесса транспорта частиц в веществе наиболее подходящим способом является метод Монте-Карло. Метод специализирован для изучения заданной статистики при проведении большого количества выборок, в связи с этим, способ существенно нагружает оборудование вычислительной техники. При использовании метода Монте-Карло машина генерирует псевдослучайные числа, моделируя данные из исследуемой совокупности. После проведения большого числа повторений, выходные данные достаточно точно имитируют реальное распределение выборочной статистики [93]. Эксперимент в области ядерной физики измеряет совокупность реальных случайных (случайных) процессов – взаимодействия частиц и прохождения их через детектор. Метод Монте-Карло требует очень много времени на компьютерах, но это наиболее эффективный способ оценки количества в трёхмерной (3D) геометрии по сравнению с аналитическим (детерминированным) методом первого порядка [94]. Существуют математические доказательства, демонстрирующие, что методы Монте-Карло становятся выгодными по мере увеличения сложности проблемы (Рисунок 1.16).

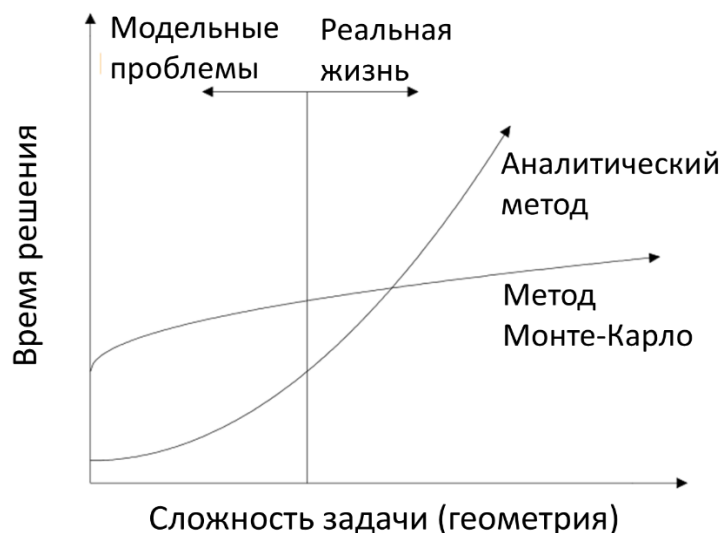


Рисунок 1.16 – Время решения сложных задач с 3D геометрией (сложность задачи) с помощью методов Монте-Карло и аналитических (детерминированных) уравнений [94].

Глубокое понимание физических и физико-химических механизмах взаимодействий, лежащих в основе биологических процессов на молекулярном уровне невозможно без широкого использования фундаментальных представлений современной физики, в том числе квантовой теории. Например, принцип неопределённости ( $\Delta p \Delta x \sim \hbar$ , где  $\hbar$  – постоянная Планка) – это фундаментальный закон в микромире, и в зависимости от расстояния и энергии частиц происходят различные взаимодействия: *молекулярная физика* ( $10^{-7} - 10^{-9}$  м, энергии  $\sim 1$  эВ – 1 кэВ); *атомная физика, антиматерия* ( $10^{-13}$  м, энергии  $\sim 10$  МэВ); *ядерная физика* ( $10^{-15}$  м, энергии 100 МэВ – 1 ГэВ); *физика высоких энергий* ( $10^{-15} - 10^{-17}$  м и меньше, энергии  $\sim 10 - 100$  ГэВ и больше).

В настоящее время есть множество компьютерных программ, основанных на экспериментальных данных и математических моделях для моделирования такого (фундаментального) случайного физического взаимодействия различных частиц в разных средах методом Монте-Карло: «универсальные» компьютерные коды (Fluka, Phits, Mсnрх, Srim, Shield-hit, Geant4) в макрообъемах [95-97] и «специализированные» компьютерные коды (Partrac, Kurbuc, Spa100, Ritrac, Trion, Geant4-DNA) в микро- и нано-объемах [82; 95; 98]. «Специализированные» компьютерные коды – единственный метод для измерения молекулярных повреждений на уровне одной пары оснований (п.н.) ДНК, что невозможно экспериментальными методами (только больше, чем 1 миллиона п.н.). Geant4-DNA пакет низкоэнергетической электромагнитной физики Geant4 обеспечивает мощные и универсальные инструменты для моделирования взаимодействия частиц с молекулярной структурой биологических материалов до низких энергий.

### 1.4.2 Микродозиметрия – характер передачи энергии частиц веществу

Микродозиметрия изучает стохастическое распределение первичных актов передачи энергии (энерговыведение) в чувствительных микрообъёмах в области 0.01-10 мкм (на молекулярном и клеточном уровнях) при прохождении заряженных частиц через вещество. Дозиметрия ионизирующих излучений также пользуется понятием статистического распределения дозы, но только в значительно больших, макроскопических объёмах, в которых только возможно непосредственное измерение дозы физическими приборами. Поглощённая доза ( $D = dE/dm$ ) – это энергия, поглощённая на единицу массы в микродозиметрии, и она равна статистическое среднее значение удельной энергии (*specific energy*,  $z = E/m$ ) [74]. При этом, наиболее важной особенностью взаимодействия ионизирующего излучения с веществом является случайный и дискретный характер энерговыведения внутри микроскопической биологической мишени (Рисунок 1.15). Энергия ( $E$ ), выделяемая на единицу массы ( $m$ ), отложена в зависимости от массы областей с уменьшающимся объёмом с центром в одной и той же точке в однородной среде и подвергнуты нескольким облучениям равной продолжительности.

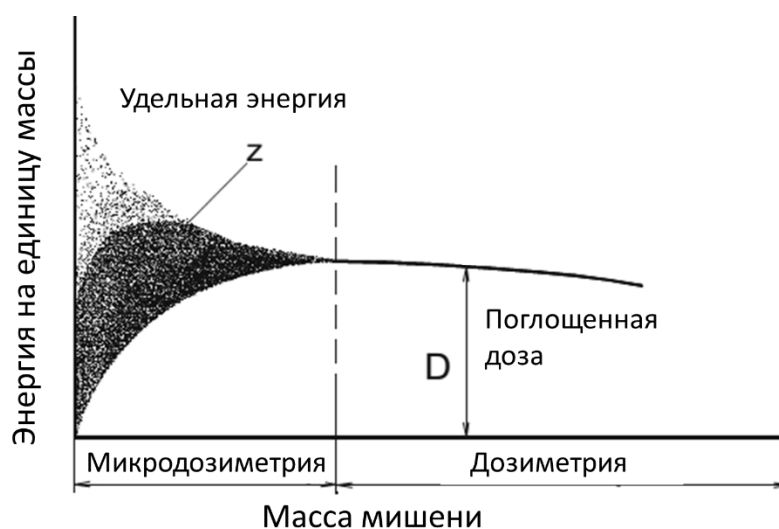


Рисунок 1.15 – Стохастический характер процесса энерговыведения в небольших микроскопических (0.01 – 10 мкм) и больших макроскопических объёмах биологических структур [74].



Для больших объёмов поглощённая доза сходится к заданному значению, в то время как по мере уменьшения объёма участка колебания поглощённой дозы возрастают. Таким образом, для достаточно больших объёмов концепция поглощённой дозы является хорошим представлением вложенной энергии, что относится к области макродозиметрии. Для меньших объёмов становится очевидной случайность энерговыделения (локальные характеристики поглощения энергии веществом), которая относится к области микродозиметрии.

Учитывая стохастическую характеристику, микродозиметрические величины описываются распределениями вероятностей, которые зависят от структур энерговыделения в микрообъёмах и типов облучения. Чтобы иметь возможность сравнивать эти события энерговыделения для различных типов излучения, концепция линейной энергии ( $y$ ) была введена Международной комиссией радиационных единиц и измерений (ICRU) [91]. Это линейная энергия  $y$  – стохастическая величина, равная отношению энергии  $E$ , переданной в одном событии поглощения микрообъёму, к средней длине  $l$  треков, пересекающих этот микрообъём:

$$y = E / l \quad (1.3)$$

здесь, для сферического объёма радиусом  $r$ , средняя длина хорды  $l = 4r/3$  и  $l = 2rh/(r + h)$  для цилиндрического объёма радиусом  $r$  и высотой  $h$ . Для характеристики величины переданной энергии на длине тупи введена величина ЛПЭ – количество переданной энергии на единице пути (в единицах кэВ/мкм), и она равна статистическое дозовое-среднее значения линейной энергии ( $y_D$ ), как:

$$y_D = \int y d(y) dy = \int y^2 f(y) dy / \int y f(y) dy \quad (1.4)$$

где  $f(y)$  и  $d(y)$  представляют собой частотное и дозовое распределение линейной энергии, соответственно. Линейная энергия, как и ЛПЭ, не зависит ни от дозы, ни от потока частиц, поскольку относится к единичным трекам или к событиям пересечения ими микрообъёма.

Микродозиметрические величины принципиально непредсказуемы и могут быть определены экспериментально с помощью ионизационных измерений ТЕРС (tissue-equivalent proportional counter), который упрощает применение биофизических моделей в радиобиологических экспериментах [91; 92]. Однако, если субклеточные структуры, такие как ДНК, меньше, чем предел измерения ТЕРС в 100 нм, моделирование методом Монте-Карло является альтернативой для получения информации о распределении энергии в нано-объёмах.

### 1.4.3 Характер кривых доза-эффект

Для описания закономерности выживаемости клеток после облучения было предложено несколько математических моделей, таких как *классические, стохастические, вероятностные, репарационные и молекулярные модели, и модели, учитывающие влияние качества излучения* [84]. В основе таких моделей лежали «*принцип попадания и теория мишеней*» и в соответствии с этим отдельные акты передачи энергии имеют случайный характер и не зависят друг от друга. Соответственно, при попадании  $k$  в мишень объёма  $V$  и несколько  $m$  чувствительных объёмов внутри клетки, вероятность  $P$  выживания клетки при дозе облучения  $D$  определяется распределением Пуассона:

$$P = e^{-VD} \frac{(VD)^k}{k!} \quad (1.5)$$

$$P = 1 - 1 - e^{-VD} m \quad (1.6)$$

В результате нескольких  $n$  попаданий, многомишенно-многоударная формула получается:

$$P_{(n,m)} = 1 - \left( 1 - e^{-VD} \sum_{k=0}^{n-1} \frac{(VD)^k}{k!} \right)^m \quad (1.7)$$

При этом важные радиобиологические параметры  $m$  и  $n$  не имеют реальной биофизической интерпретации и значительно варьируют при изменении некоторых факторов физической или биологической природы.

Конкретная связь между летальными повреждениями ДНК и выживаемостью клеток была предложена в рамках молекулярной модели [84]. Это стало известно как «линейно-квадратичная» (LQ) модель, включающих подробные биофизические механизмы, описываемая формулой

$$S = e^{-\alpha D - \beta D^2} \quad (1.8)$$

где  $\alpha$  и  $\beta$  – параметры, соответствующие вероятностям образования прямых ДР (пДР) и ДР из двух перекрывающихся ОР, которые являются летальными событиями для гибели клеток. Модель хорошо описает кривые выживания клеток, в том числе и зависимость летального эффекта от мощности дозы облучения. Ясно что при действии плотно-ионизирующих излучений, высокий выход прямых ДР ДНК определяет характер кривых выживания. При этом отмечалось, что ДР ДНК из перекрывающихся независимых ОР у клеток млекопитающих образоваться не могут. В отличие от этого при действии редко-ионизирующих излучений ( $\gamma$ -лучи) и у бактерий вследствие обширной деградации ДНК имеет место высокий выход ДР из двух перекрывающихся ОР [84]. При образовании энзиматических ДР (эДР) из перекрывающихся одностранных брешей на противоположных нитях ДНК, кривая выживания может быть описана следующим образом:

$$-\alpha D - \beta D^2 = N_{пДР} D - N_{кОР} D \frac{q_3}{p_3 + q_3} (1 - e^{-N_{кОР} D l_0 / M}) \quad (1.9)$$

где  $N_{кОР}$  – количество кластерных ОР ДНК с вероятностью  $p_3$  восстановиться и с вероятностью  $q_3$  перекрываются, трансформируясь в эДР ДНК.  $l_0$  – размер бреши в нити ДНК,  $M$  – размер генома. Клетка (т.п. нейрон) может также погибнуть от *кумулятивного действия* отдельных  $\delta$ -электронов, то вероятность инактивации клетки от прохождения одного иона описывается выражением

$$P = (1 - e^{-z^2/c\beta^2})^m \quad (1.10)$$

где  $m$  – число мишеней в клетке,  $z$  – эффективный заряд частицы,  $\beta$  – отношение ее скорости  $c$  света в вакууме. Здесь параметр  $P$  имеет реальный физический смысл. В рамках микродозиметрической концепции, когда в чувствительной области выделяется некоторая пороговая удельная энергия  $z_0$ , то вклад в выживаемость описывается уравнением

$$S = \int_0^{z_0} f_D(z) dz \quad (1.11)$$

В этом случае, была рассмотрена попытка учесть процессы репарации (восстановления клеток), вводя представление об эффективной удельной энергии  $z_{\text{eff}} = \max \{z_i\}$ , где  $z_i = z_{i-1} \exp(-D/m\tau\rho_0 + z_i)$  – удельная энергия, накопленная в чувствительном объеме после  $i$ -го попадания. Временной фактор  $\exp(-D/m\tau\rho)$  учитывает уменьшение выхода повреждений за время между событиями абсорбции энергии в мишени, где  $\rho_0$  – мощность дозы,  $m$  – число событий абсорбции,  $\tau$  – время релаксации, отражающее эффективность репарации.

Выведенные модели учитывают микрораспределение поглощенной энергии в клетках, стохастическую структуру треков, формирование первоначальных молекулярных повреждений, и также процессы репарации при облучении. Было продемонстрировано, что без учёта этих механизмов физической и биологической природы нельзя понять характер выживания клеток после облучения [84; 127; 128].

## 1.5 Выводы к Главе 1

В связи с проблемами радиационной безопасности дальних космических полётов, каждый космонавт на МКС получает дозы космического излучения от 0.2-0.6 мЗв/сут, составляя в среднем 200 раз больше, чем у земной поверхности. Далее, в течение полета на Марс и обратно, оценивается в 1000 мЗв (200-750 раз больше, чем на Земле). При этом самый большой вклад вносит группа ядер железа. По литературным данным примерно 13% клеток гиппокампа космонавтов будет пересекаться как минимум одним ионом железа. С другой стороны, при проведении лучевой терапии опухолей головного мозга с использованием пучков ускоренных заряженных частиц, такими как протоны или ионы углерода необходимо оценивать и прогнозировать возможных побочных эффектов облучения на здоровые структуры ЦНС. В экспериментах на ускорителях тяжёлых ионов было показано, что большинство неврологических нарушений связано с повреждением ДНК и с повреждением синаптических элементов нейронов при действии тяжёлых ионов в низких дозах. Однако, возникновение первичных молекулярных повреждений в критических структурах сложных и высокоспециализированных клеток, таких как нейроны при моделировании структуры треков ТЗЧ, ранее плохо изучено. При этом важно иметь информацию не только о конечных нарушениях, но и о начальных процессах формирования радиационных повреждений. Ясно, что глубокое понимание основных механизмов повреждения нейронов и других клеток ЦНС при воздействии ТЗЧ невозможно без широкого использования фундаментальных представлений современной физики, радиационной химии, нейробиологии и методов математического моделирования. Благодаря значительному увеличению скорости и общих возможностей современных компьютеров стало возможным использовать более реалистичные модели (*in silico*) на основе экспериментальных данных биологических структур. Моделирование методом Монте-Карло в рамках микродозиметрии является эффективным инструментом для получения подробной информации о реальных физических процессах прохождения элементарных частиц через вещество. В

случаях со сложностью проведения экспериментов на живых организмах необходимо разработать новую биофизическую модель с учётом детального описания сложных структур клеток ЦНС и количественной информации о физико-химических процессах, слабо доступных для радиобиологических экспериментов. С применением таких моделей в рамках вычислительного эксперимента требуется прогнозировать повреждения нервных клеток головного мозга при действии ТЗЧ. Решение задач исследования представлено в последующих главах.

## Глава 2. Модели чувствительных структур ЦНС для микродозиметрических расчетов

Во второй главе диссертации представлена разработка модели взаимодействия заряженных частиц с детальными клеточными структурами ЦНС. С использованием программного пакета Geant4/Geant4-DNA на основе принципов метода Монте-Карло смоделированы основные этапы радиационного воздействия (ионизации атомов и молекул, генерации вторичных частиц, молекулярные возбуждения, формирования и диффузионного переноса продуктов радиолиза воды и др.) при прохождении заряженных частиц через нервные клетки.

### 2.1 Моделирование стохастической структуры треков заряженных частиц

#### 2.1.1 Geant4 Монте-Карло программный пакет:

Geant4 (Geometry And Tracking) представляет собой свободно распространяемый программный пакет, написанный на объектно-ориентированном языке программирования C++, для моделирования прохождения частиц через вещество с использованием методов Монте-Карло [96; 97]. Программное обеспечение разработано и поддерживается международным сотрудничеством учёных из разных стран для открытого поделения научными знаниями и методами. Он обладает широкой функциональностью, включающей трекинг, построение геометрии, химический состав материалов, образующих его, типы частиц, отклик детектора, управление запусками, событиями, визуализация, пользовательский интерфейс и т.д. Физические модели Geant4 очень хорошо согласуются с экспериментальными данными. Область применения Geant4 – физика высоких энергий, ядерная и ускорительная физика, астрофизика, исследования в сфере медицины и космоса.

Структура Geant4 основана на 17 основных категориях классов, определённых анализом пользовательских требований: *global* включающая в себя систему единиц, константы, числа и обработку случайных величин; *geometry*

включающая в себя объёмы для описания детектора и навигации в геометрической модели; *materials, particles, graphical representations* описывающая материалы, частицы и графическое представление; *intercoms* обеспечивающая одновременно общение пользователя с Geant4 через пользовательский интерфейс, а также взаимодействие между модулями; *track* включает классы для треков и шагов; *processes* вызывает несколько физических моделей, которые вычисляют полное сечение и полностью описывают конечное состояние взаимодействия; *tracking* управляет их влиянием на состояние трека и в значительном объёме обеспечивает информацией для попаданий и оцифровки; *event* управляет событиями в терминах их треков; *run* управляющая Он управляет наборами событий, которые имеют общую реализацию пучок и детектора; *readout* позволяет обрабатывать «нагромождение»; *visualization, persistency* и *[user] interface* используются всё выше описанное категории и взаимодействуют с внешними дополнениями.

Набор инструментов моделирования Geant4 включает в себе серию пакетов для моделирования физических взаимодействий частиц с веществом. Стандартный пакет Geant4, реализующий физические процессы для ионизационной потери энергии при прохождении частиц через вещество, определяется известной формулой Бете-Блоха:

$$\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi N_A}{m_e c^2} \cdot \frac{Z\rho}{A} \left(\frac{ze^2}{\beta}\right)^2 \cdot \left[ \ln \frac{2m_e c^2 \beta^2}{I(1-\beta^2)} - \beta^2 \right] \quad (2.1)$$

Здесь  $dE/dx$  – потери энергии на единицу длины ( $dx$ ) пути трека частицы,  $N_A$  – число Авогадро,  $Z$  и  $A$  – атомный номер и массовое число вещества,  $\rho$  – плотность материала,  $I$  – его средний потенциал ионизации,  $z$  – заряд (в единицах  $e$ ) ионизирующей частицы,  $\beta$  – её скорость (в единицах скорости света  $c$ ),  $e$  и  $m$  – заряд и масса электрона. Основная закономерность, вытекающая из формулы (2.1) является потерь энергии квадратично зависят от заряда частицы и её скорости. Поскольку, в конце пробега ( $\beta \rightarrow 0$ ) отдача энергии максимальная (торможение резко усиливается), что приводит к характерному распределению ионизаций,



описываемому известной кривой Брэгга, с конечным максимум – пиком Брэгга (в области низких энергий).

Физические модели и процессы для точного моделирования электромагнитных взаимодействий в небольших чувствительных объёмах (микродозиметрия и микроэлектроника) при низких энергиях (<1 кэВ) были доступны в Geant4, в так называемый специализированный пакет Geant4-DNA.

### 2.1.2 Geant4-DNA физические модели

Основное направление Geant4-DNA – моделирование задач физики низких энергий, или молекулярной физики, т.е. рассмотрение случайные природы на очень малых расстояниях (нанометр) с целью исследования биологических повреждений, вызванных ионизирующим излучением [98; 99]. Для расчёта сечений физических процессов и генерации конечных распределений состояний доступные точные модели, специализированные для материалов, типов частиц и энергического диапазона.

Физические процессы Geant4-DNA предоставляют пользователю полный набор моделей сечений до масштаба эВ для взаимодействия ионизирующего излучения ( $\gamma$ ,  $e^-$ ,  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}^+$ ,  $^4\text{He}$ ,  $^4\text{He}^+$ ,  $^4\text{He}^{2+}$ ,  $^7\text{Li}^{3+}$ ,  $^9\text{Be}^{4+}$ ,  $^{11}\text{B}^{5+}$ ,  $^{12}\text{C}^{6+}$ ,  $^{14}\text{N}^{7+}$ ,  $^{16}\text{O}^{8+}$ ,  $^{28}\text{Si}^{14+}$ ,  $^{56}\text{Fe}^{26+}$ ) с жидкой воды. В этом случае, поскольку вода считается основным компонентом биологической материалов, тогда сечения взаимодействий связаны только с молекулярными орбиталями жидкой воды. Основной вклад в эти физические взаимодействия вносят 5 уровней ионизации ( $1b_1$ ,  $3a_1$ ,  $1b_2$ ,  $2a_1$  и кислородная К-оболочка) и 5 состояний возбуждения ( $A^1B_1$ ,  $B^1A_1$ , ридберговские состояния (Ryd A+B, Ryd C+D), полоса диффузии, диссоциативное возбуждение и плазмон) молекулы  $\text{H}_2\text{O}$ , соответствующие энергии ионизации 10.79, 13.39, 16.05, 32.30, 539.00 эВ, и энергии возбуждения 8.22, 10.00, 11.24, 12.64, 13.77 эВ, соответственно.

Каждое физическое взаимодействие описывается физическим процессом, который может вызывать несколько моделей в различных диапазонах энергий: *теоретические модели* (ионизация и возбуждение  $> 500$  кэВ); *полуэмпирические модели* (ионизация и возбуждение  $< 500$  кэВ); *модели представлены экспериментальными данными* (молекулярное присоединение и возбуждение электронами 0-100 эВ). Неупругие сечения (ионизация и возбуждение) были рассчитаны с использованием первого приближения Борна плоских волн (Plane-Wave First Born Approximation - FBA), описанного Ландау и Лифшицем [100]. Согласно FBA, передача энергии ( $E$ ) и импульса ( $q$ ) связана с функцией потерь энергии  $\text{Im}[-1/\varepsilon(E,q)]$ , где  $\varepsilon(E,q)$  - комплексная функция диэлектрического отклика (dielectric-response function-DRF) молекулы-мишени, основанная на полуэмпирическая модель. Для описания упругого рассеяния до полной термализации (0.025 эВ) в моделях *UeharaScreenedRutherfordModel* и *Champion* используется параметр экранирования (screening), основанный на экспериментальных измерениях в жидкой воде [101]. Модели Geant4-DNA полного сечения и пробега электронов в жидкой воде показаны на рисунке 2.1.

В Geant4-DNA взаимодействия тяжёлых заряженных частиц с молекулярными орбиталями жидкой воды определяется полуэмпирической моделью Rudd [102] в рамках FBA:

$$\frac{dE}{dx} = \int_{E_{min}}^{E_{max}} E Z^{*2} \frac{d\sigma_{proton}(v)}{dE} dE \quad (2.2)$$

Здесь  $\sigma_{proton}(v)$  и  $d\sigma_{proton}(v)/dE$  – сечение (в единице длины<sup>-1</sup>) и дифференциальное сечение (в единицах (энергии, умноженных на длину)<sup>-1</sup>) взаимодействия протонов в зависимости от скорости частиц,  $v$ .  $E_{min}$  и  $E_{max}$  – минимальная и максимальная энергии, которые могут быть переданы первичной частицей вторичному электрону.

$$Z^*/Z = 1 - \exp(-1.316x + 0.112x^2 - 0.0650x^3) \quad (2.3)$$

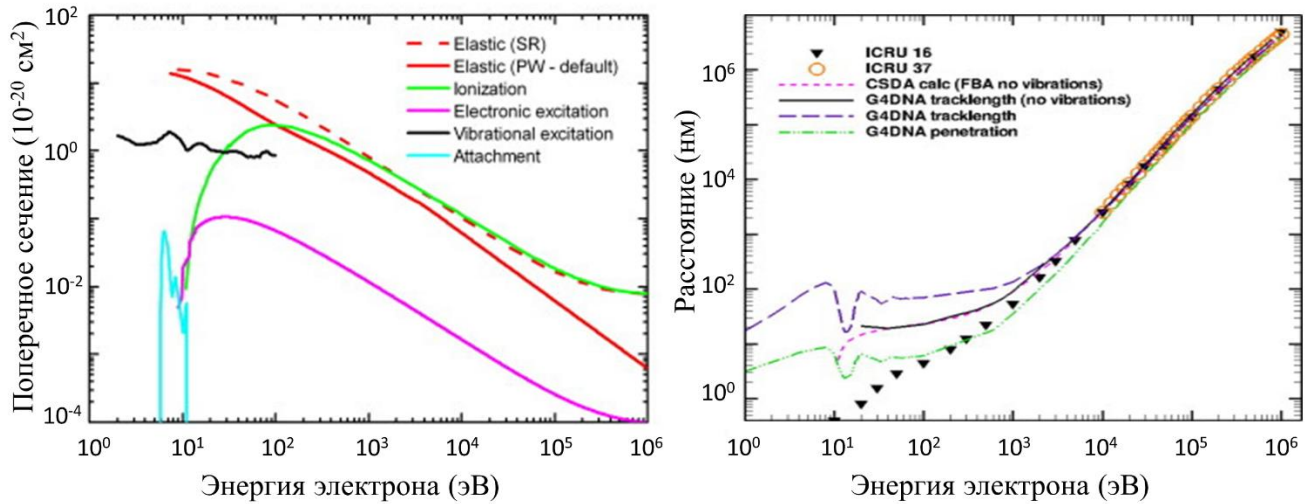


Рисунок 2.1 – Geant4-DNA модели взаимодействия электронов с жидкой водой: (слева) – модели полного сечения как функции кинетической энергии падающих электронов (упругое рассеяние, ионизация, электронное возбуждение, колебательное возбуждение и присоединение молекул); (справа) – длина пробега электронов, полученные с учётом и без колебательного возбуждения, и сопоставлены с литературными данными [101].

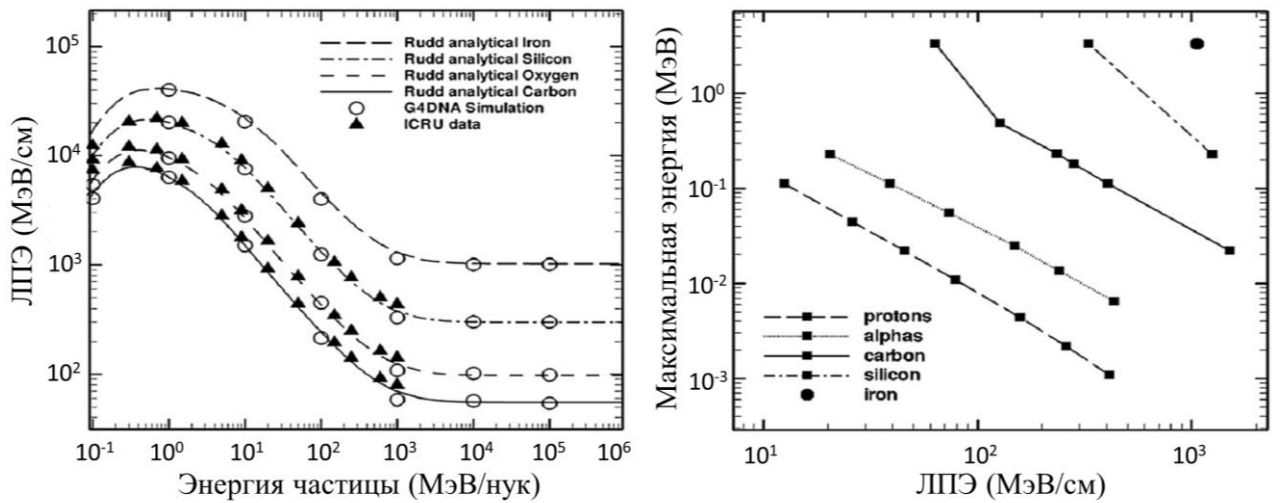


Рисунок 2.2 – Тормозная способность ионов углерода, кислорода, кремния и железа в воде в зависимости от кинетической энергии (слева) и максимальная энергия (справа), которая может быть передана вторичным электронам за одно столкновение для различных тяжёлых ионов, в зависимости от их ЛПЭ ( $dE/dx$ ), полученные с помощью моделирования Geant4-DNA с использованием полуэмпирических релятивистских моделей Радда [102].

где  $Z$  – заряд тяжёлых заряженных частиц,  $Z^*$  – эффективный заряд,  $x = 100\beta Z^{-2/3}$  с  $\beta$  отношением скорости частицы к скорости света в вакууме. На рисунке 2.2

показано количество переданной энергии на единице пути ( $dE/dx$ ), так называемые значения ЛПЭ (в единицах кэВ/мкм) ТЗЧ и максимальная энергия их вторичных электронов, полученные с помощью моделирования Geant4-DNA с использованием релятивистских сечений Радда.

### 2.1.3 Формирование радиолиза воды в треках частиц

Выпуск Geant4 (версия 10.1) [99] включает моделирование трёх основных стадий радиолиза воды: (1) *физическая стадия*, описывающая элементарные физические взаимодействия, вызывающие ионизированные молекулы воды ( $H_2O^+$ ), возбуждённые молекулы воды ( $H_2O^*$ ) и электронов недовозбуждения ( $e^-_{aq}$ ) в диапазоне от примерно  $10^{-18}$  с до  $10^{-15}$  сек; (2) *физико-химическая стадия*, достигаемая примерно при  $10^{-14} - 10^{-12}$  сек после облучения и заключаются в основном в диссоциации или релаксации молекул и ионов воды; (3) *химическая стадия* ( $10^{-12} - 10^{-6}$  сек), описывающих диффузию и реакцию химических виды. Детали методики моделирования треков частиц, реализованной в Geant4-DNA, описаны в [103].

Таблица 1 - Коэффициенты ветвления и схемы диссоциации, используемые в Geant4-DNA в конце физико-химической стадии ( $10^{-12}$  с).

Электронное состояние	Канал диссоциации	Фракция (%)
Все состояния ионизации	$H_3O^+ + \cdot OH$	100
Все состояния возбуждения		
A1B1	$\cdot OH + H\cdot$	65
(1b1) $\rightarrow$ (4a1/3s)	$H_2O + \Delta E$	35
B1A1	$H_3O^+ + \cdot OH + e^-_{aq}$	55
(3a1) $\rightarrow$ (4a1/3s)	$H_2 + \cdot OH + \cdot OH$	15
	$H_2O + \Delta E$	30
Ридберг, диффузные полосы	$H_3O^+ + \cdot OH + e^-_{aq}$	50
	$H_2O + \Delta E$	50

После физической стадии, возбуждённые и ионизированные молекулы воды могут распадаться и диссоциировать на новые молекулы ( $e^-_{aq}$ ,  $\cdot OH$ ,  $H_3O^+$ ,  $H\cdot$ ,  $H_2$ ), которые могут диффундировать и взаимодействовать друг с другом с образованием

других молекул ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). В конце физико-химической стадии, до начала химических реакций, различные каналы диссоциации молекулы воды и их коэффициенты ветвления, реализованные в Geant4-DNA, представлены в таблице 1.

Моделирование химической стадии ( $10^{-12} - 10^{-6}$  с) в Geant4-DNA начинается с начального пространственного распределения продуктов радиолиза воды в треке частицы, и основано на представлении континуума частиц (или на основе частиц). Это представление связано со стохастической трактовкой диффузии молекул (Броуновские движения) на основе уравнения Эйнштейна–Смолуховского, который даёт нам функцию плотности вероятности  $p(r,t)$  для нахождения молекулы «А» относительно молекулы «В» на расстоянии  $r$  в момент времени  $t$ :

$$\frac{\partial p(r,t)}{\partial t} = \nabla \cdot \left[ D \left[ \nabla p(r,t) - \beta F(r)(r,t) \right] \right] \quad (2.4)$$

Здесь  $\beta = 1/k_B T$ ,  $k_B$  – постоянная Больцмана,  $T$  – температура,  $F$  – внешняя сила,  $D$  – коэффициент диффузии (Таблица 2), который даёт длину свободного пробега  $\lambda$  молекулы при диффузии за время  $\tau$ :  $\lambda = (6D\tau)^{1/2}$ .

Таблица 2 – Коэффициенты диффузии для молекулярных продуктов радиолиза воды в Geant4-DNA.

Молекулярные продукты радиолиза	Коэффициенты диффузии $D$ ( $10^{-9}$ м <sup>2</sup> с <sup>-1</sup> ) при 25 °С
$e^-_{\text{aq}}$	4.9
$\cdot\text{OH}$	2.8
$\text{H}\cdot$	7.0
$\text{H}_3\text{O}^+$	9.0
$\text{H}_2$	4.8
$\text{OH}^-$	5.0
$\text{H}_2\text{O}_2$	2.3

Таблица 3 – Статические временные шаги  $\Delta t$  по отношению к физическому времени во время химической стадии в Geant4-DNA.

Временной интервал (сек)	$\Delta t$ ( $10^{-12}$ с)
До $10^{-11}$	0.1
$10^{-11} - 10^{-10}$	1
$10^{-10} - 10^{-9}$	3
$10^{-9} - 10^{-8}$	10
Выше $10^{-8}$	100

Таблица 4 – Список реакций и наблюдаемых констант скорости реакций ( $k$ ), использованных в Geant4-DNA.

Химические реакции	Скорость реакции ( $10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )
$e_{\text{aq}}^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}\cdot \rightarrow \text{OH}^- + \text{H}_2$	2.65
$e_{\text{aq}}^- + \cdot\text{OH} \rightarrow \text{OH}^-$	2.95
$e_{\text{aq}}^- + e_{\text{aq}}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2 + 2\text{OH}^-$	0.5
$e_{\text{aq}}^- + \text{H}_3\text{O}^+ \rightarrow \text{H}\cdot + \text{H}_2\text{O}$	2.11
$\text{H}_2 + \cdot\text{OH} \rightarrow \text{H}\cdot + \text{H}_2\text{O}$	0.00417
$e_{\text{aq}}^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{OH}^- + \cdot\text{OH}$	1.41
$\cdot\text{OH} + \cdot\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0.44
$\cdot\text{OH} + \text{H}\cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	1.44
$\text{H}\cdot + \text{H}\cdot \rightarrow \text{H}_2$	1.2
$\text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	14.3

Решение уравнения (2.4):

$$p(r, t) = \frac{4\pi r^2 e^{-r^2/4Dt}}{(4\pi Dt)^{3/2}} \quad (2.5)$$

При этом устанавливаются заранее заданные статические временные шаги ( $\Delta t$ ) с учётом пространственного распределения молекулярных продуктов радиолиза воды в начале химического моделирования (при  $10^{-12}$  сек) и в соответствии с эволюцией во времени (Таблица 3). С другой стороны, минимальное время встречи (или динамические временные шаги –  $t_D$ ) определяется расстоянием разделения ( $d_0$  при  $t=0$ ) и радиусом реакции ( $r_{AB}$ ) между молекулой «А» и «В»:

$$t_D = (d_0 - r_{AB})^2 / 64(D_A + D_B + 2(D_A D_B)^{1/2}) \quad (2.6)$$

Радиус реакции между молекулами «А» и «В» можно рассчитать как

$$r_{AB} = k / 4 \pi N_A (D_A + D_B), \quad (2.7)$$

где  $k$  – константа скорости реакции (Таблица 4) комплексообразования и зависит от окружающей среды, температуры и давления, и  $N$  – число Авогадро.

## 2.2 Объемные модели нейронов и их субклеточных структур при моделировании треков частиц

### 2.2.1 Новое радиобиологическое приложение

Разработка подхода к моделированию *in silico* – сложная задача современной количественной радиобиологии. Такой подход определяется как моделирование транспорта излучения методом Монте-Карло вместе с реалистичной геометрической моделью биологических структур. Важным аспектом этого моделирования является геометрическое описание клеточной структуры и их субклеточных мишеней.

С помощью программного пакета Geant4 и Geant4-DNA на основании метода Монте-Карло фундаментальных процессов транспорта частиц через вещество была разработана в данной работе оригинальная биофизическая модель, позволяющая моделировать реальную геометрию нервных клеток и их структурных элементов, стохастическую структуру трека заряженных частиц на физической стадии и воздействие свободных радикалов на радиационно-химической стадии. Разработанные алгоритмы реализованы и объединены в программно-библиотечное приложение под названием «neuron», который включен в свободно распространяемый Монте-Карло программный пакет Geant4. Оно содержит 34 класса, 12 файлов и скриптов:

- исходные коды и библиотека на C++ (*src, include, neuron.cc*)
- *README*
- *.in, plotDend.C* и файлы визуализации
- *GranuleCell-Nr2.CNG.SWC* (по умолчанию загружается файл примера, описывающий отдельный нейрон гранулы)
- *NeuralNETWORK.dat* (пример файла, описывающего сеть из 10 пирамидальных нейронов):

В исходном коде библиотека геометрии (класс *NeuronLoadDataFile*) переводит сложную структуру нейронов из файла SWC (Стандартизированный нейроморфометрический формат) в Geant4 для целей визуализации с учетом форм, пространственных преобразований, материалов и других биологических данных



(алгоритмы представлены на Рисунок 2.3 и в Приложении А). Для того чтобы детализировать, хранить и делиться сложной структурой нейронов или глиальных клеток, созданной с помощью инструментов цифровой трассировки на основе изображений трехмерной конфокальной микроскопии, широко используется формат морфологии нейронов SWC [104]. Стандартный формат SWC – это стандартизированный выходной файл ASCII, который начинается с раздела заголовка с произвольным текстом (обозначается символом #) и содержит матрицу шириной в 7 столбцов (Таблица 5 в Приложении А). Записи в каждой строке организованы по структуре: номер индекса, компонент нейрона (1 – сома, 2 – аксон, 3 – базальный дендрит и 4 – апикальный дендрит, а значения 5+ используются для пользовательских параметров), координаты ( $x$ ,  $y$ ,  $z$  в единицах мкм), радиус (в единицах мкм) и родительская связь. Такие файлы в формате SWC можно найти или скачать из доступных баз данных, таких как *NeuroMorpho.Org* [105], где хранится более 100000 цифровых реконструкций, основанных на экспериментальных данных по изучению морфологии многих типов клеток головного мозга у разных животных из более чем 600 лабораторий по всему миру.

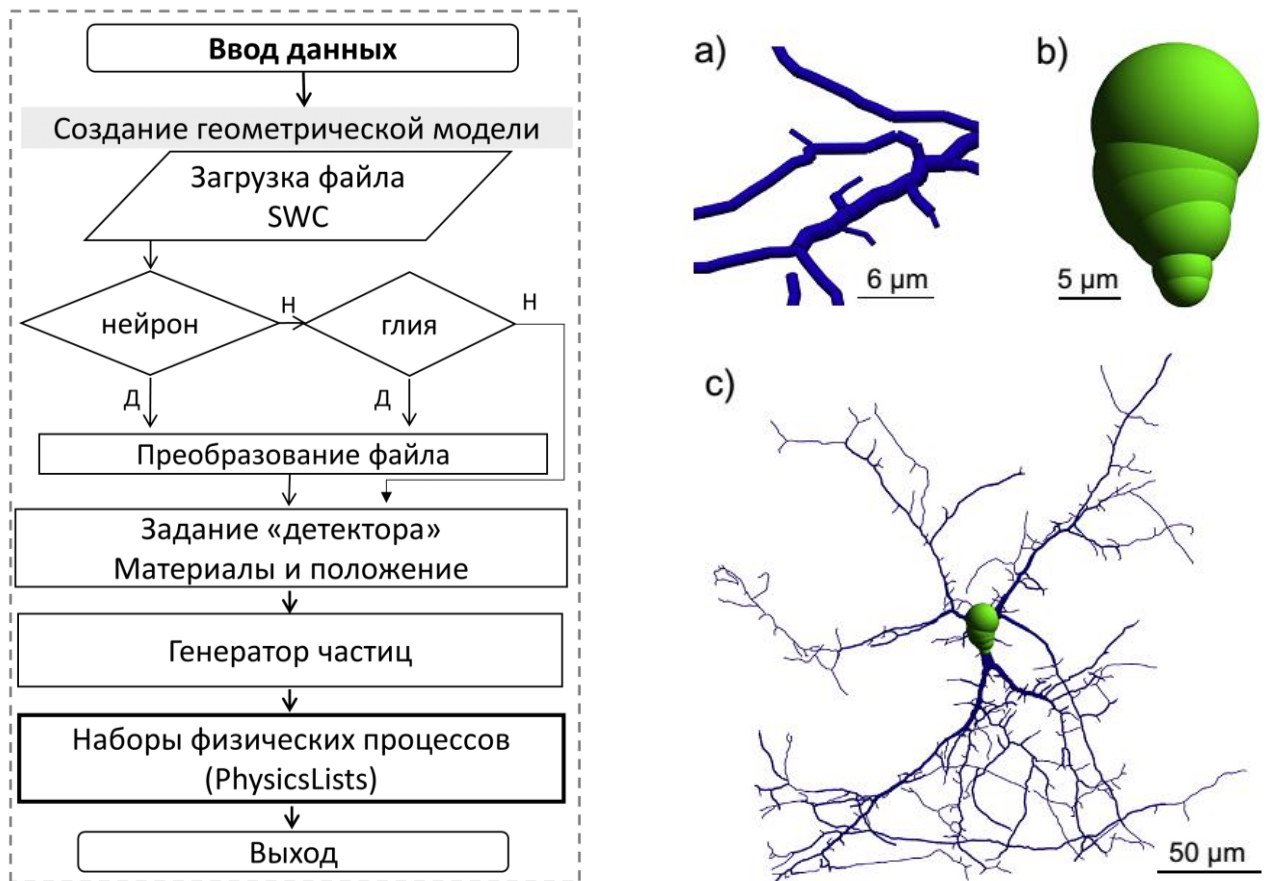


Рисунок 2.3 – Блок-схема, описывающая реализацию геометрии нейронов в Geant4 (слева). 3D-модель одиночного пирамидального нейрона (справа): а – цилиндрические сегменты, составляющие дендриты; b – сферические сегменты, составляющие сому; c – полный состав нейрона.

С использованием геометрических баз Geant4, все деревья (дендриты и аксон) нейронной структуры моделируются посредством комбинации небольших цилиндрических объёмов (через *G4Tubs*), представляющих мельчайшие нейронные элементы (Рисунок 2.3а), известные как компартменты (две взаимосвязанные морфологические точки). Когда сома кодируется как одна точка в формате файла SWC, тело клетки представлено геометрией эллипсоида (*G4Ellipsoid*), если сома закодирована как несколько точек в файле данных, тело клетки будет состоять из нескольких сфер (*G4Orb*), объединённых в единая конструкция (Рисунок 2.3б). Чтобы избежать геометрического перекрытия, которое может вызвать ошибки в отслеживании Geant4, эти цилиндры и сферы «вырезаны», чтобы соответствовать друг другу без перекрытия. Дополнительные алгоритмы расчёта площади и объёма

перекрывающихся нейронных сегментов представлены в Приложении А. Построение всей геометрии морфологии нейрона задаётся в классе *DetectorConstruction* исходного кода. Далее, основная структура исходного кода, включая реализацию объединения морфологических точек, геометрические преобразования, вращения, расчёт объёма и габаритных размеров нейрона, ограничивающий объём и т.д., входящих в класс *NeuronLoadDataFile*. Это позволяет моделировать не только любую геометрию отдельного нейрона, но и небольшую нейронную сеть. В этом случае, модели Geant4-DNA (физические и химические процессы) смоделированы внутри структуры нейрона (Таблица 6 в Приложении А.1), которая объявлена как *G4Region*. Модели стандартной конденсированной физики Geant4 (электромагнитные и адронные процессы) использовались вне структуры нейронов (Рисунок А.1 в Приложении А.1).

Основные выходные файлы содержат следующую информацию после моделирования взаимодействия частиц со структурами нейрона:

- количество падающих и вторичных частиц, пересекающих компартменты нейрона
- количество физических событий внутри и вне нейронной структуры
- энерговыделение в каждой структуре нейрона (в килоэлектронвольтах)
- координаты ( $x$ ,  $y$ ,  $z$  в микрометрах) компартментов нейрона при прохождении трека частиц
- аксонное и дендритное (базальное и апикальное) расстояние компартментов от сомы (в микрометрах).
- количество продуктов радиолиза воды внутри нейрона, когда радиохимия активирована

Далее результаты моделирования можно анализировать с использованием программного обеспечения ROOT [106] с помощью скрипта *plotDend.C* (C++ код в Приложении А).

В настоящей работе, гранулярные и пирамидные клетки в гиппокампе крысы были смоделированы на основе экспериментальных данных, морфологические параметры которых доступны из архива *Claiborne* [41] в базе данных

*NeuroMorpho.Org* [105]. В качестве морфологических параметров общая длина и площадь дендритов на клетку составляет около  $2940 \pm 164$  мкм и  $9800 \pm 518$  мкм<sup>2</sup> для гранулярных нейронов и  $12136 \pm 894$  мкм и  $20681 \pm 1240$  мкм<sup>2</sup> для пирамидных нейронов. При этом, диапазон длины хорды ядра и площади сомы нейрона составляет 6.5 – 11.2 мкм и 142.2 – 418.6 мкм<sup>2</sup>.

### 2.2.2 Модели дендритных шипиков и синаптических рецепторов

В частых случаях, файл SWC не включает дендритные шипики, расположенные вдоль деревьев нейрона. Более 90% всех возбуждающих синапсов, возникающих в ЦНС, локализованы в дендритных шипиках, которые небольшие выступы на дендритной мембране, помогают хранить и передавать нейротрансмиттеры и играют жизненно важную роль в головном мозге. Миллиарды нейронов контактируют и общаются друг с другом через синапсы. Широко признано, что регулирование количества, размера и формы дендритных шипиков имеет важное значение для пластичности синапсов, а также для обучения и памяти.

Распределение шипиков по дендритным ветвям была смоделирована в соответствии с экспериментально измеренной плотностью позвоночника [107; 108]. Каждый шипик представлен совместными цилиндрическими и сферическими объемами, перпендикулярными поверхности дендрита и случайно расположенными на дендритах в соответствии с нормальным (Гауссовым) распределением с заданной плотностью  $12.8 \pm 4$  (гранулярные клетки) и  $10.5 \pm 2$  (пирамидальные нейроны) шипиков на 10 мкм. Размеры шипика были получены случайным образом из распределения Пуассона в соответствии с измеренным диаметром ( $0.28 \pm 0.16$  мкм) и длиной ( $0.36 \pm 0.17$  мкм) шейки шипика и диаметром ( $0.48 \pm 0.21$  мкм) головки шипика [108]. Что касается морфологических параметров, количество дендритных шипиков на клетку составляет ~ 4000 для гранулярных нейронов и ~15000 для пирамидных нейронов. Также, смоделированные шипики можно разделить по заданным морфологическим

характеристикам: грибовидные, короткие и тонкие (длинные) шипики. Грибовидный шипик – шея короче, чем ширина, а диаметр головы больше ( $> 0.6$  мкм) ширина шеи. Короткий шипик – диаметр головы почти равен общей длине шипика ( $< 0.5$  мкм). Тонкий (длинный) шипик – длина больше ( $> 1$  мкм) диаметра шеи, а диаметры головы и шеи равны. Такая конструкция также предназначена для сохранения правильных электрических свойств нейронных компартментов, как это обычно делается в вычислительной нейробиологии.

Кроме того, наша библиотека позволяет моделировать другие потенциальные мишени в дендрите, включая сложные молекулы (например, мембранные ионные каналы и рецепторы), необходимые для нормальной синаптической функции. По экспериментальным данным [109; 110], глутаматические ионотропные рецепторы NMDA были обнаружены практически во всех синапсах на дендритных шипиках нейронов гиппокампа, но рецепторы AMPA не обнаруживались (в среднем в 12% синапсов). Поэтому, измеренное количество (6-35) рецепторов NMDA случайным образом расположены на поверхности каждой головки шипика. При этом среднее количество NMDA-рецепторов на клетку составляет  $69870 \pm 3948$  для гранулярных нейронов и  $282500 \pm 15180$  для пирамидных нейронов. Для построения 3D реалистичной полноатомной модели NMDA-рецептора нужны структурные шаблоны: лучше всего – подходящие конструкции из базы данных PDB (Protein Data Bank) [111]. Он содержит более 100 000 биологических макромолекулярных 3D структур, включая белки и нуклеиновые кислоты. В этой работе, библиотека *Geant4 PDBlib (pdb4dna)* была адаптирована для создания геометрии структур аминокислот в Geant4 из файлов PDB [112]. На рисунке 2.4 показана моделирование случайного распределения NMDA-рецепторов и дендритных шипов на сложной структуре нейрона. Алгоритмы случайного распределения дендритных шипов и рецепторов, и также смоделированы различные типы синаптических рецепторов (NMDA, AMPA, GABA) и морфологии шипика (грибовидный, короткий и тонкий), которые продемонстрированы на Приложение А.

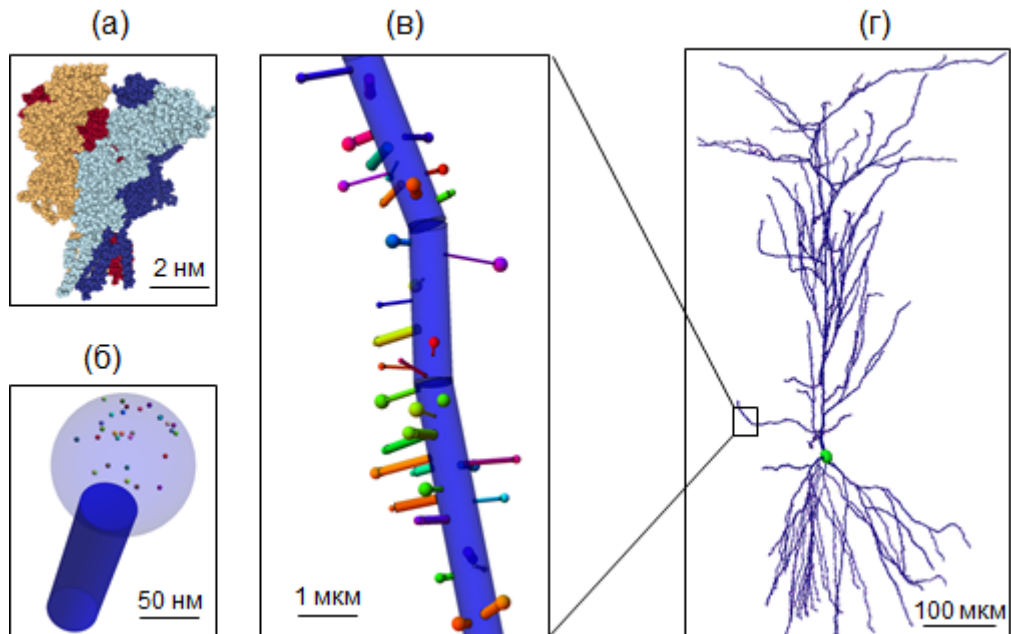


Рисунок 2.4– Схема моделирования случайного распределения структурных элементов в дендритах нейрона. (а) – модель глутаматного рецептора NMDA представлена атомами с радиусами Ван-дер-Ваальса в четырёх субъединицах пар NR1а и NR2b. (б) – модель дендритного шипика, состоящая из двух компартментов головы и шеи. Рецепторы глутамата случайно расположены на поверхности головки дендритного шипика. (в) – сегмент дендритной ветви с шипиками, которые случайно расположены на дендритах. (г) – модель одного нейрона смоделированы клеточное тело (зелёный) и дендриты (темно-синий), с распределёнными на них шипиками и синаптическими рецепторами.

Более детальный расчет энерговыделения в треках, попадающих в аминокислотные структуры рецепторов, были выполнены с использованием математического алгоритма [113], требующего использование полноатомных структурных моделей молекул. Этот алгоритм также модифицирован для расчёта повреждения белка и предполагает вычисление попадания события в окрестность ближайшего атома (в соответствии радиусам Ван-дер-Ваальса) молекулы-мишени и дальнейший расчёт разрыва связи, ионизации и других эффектов. Основной выходной файл моделирования взаимодействия частиц с структурами NMDA-рецептора в Geant4, адаптированный к стандартному формату PDB, представлен в Таблице 6 (Приложение А).

### 2.2.3 Модели генетической структуры в ядрах нейронов

С использованием библиотеки *Geant4 PDBlib* и структуры нуклеосом из базы данных PDB смоделирована полноатомная модель ядерной ДНК в нейронах гиппокампа крысы и отдельных генах, кодирующих белки синаптического рецептора NMDA. Координаты и объем ДНК в длине нуклеосомного повтора (NRL) нейронов крысы рассчитываются из атомных координат нуклеосомы и линкерной ДНК (код PDB: *1kx5* и *1fzx*). Состав основания ядерной ДНК назначается в соответствии с базой данных *NCBI* (National Center for Biotechnology Information) *RefSeq* последовательности генома крысы, которая содержит 5459.9 млрд.п.н. [114]. Эта модель ядра нейрона представляет собой сферу с заданным диаметром различных клеток, и состоит из 27198360 нуклеосом и 21586 доменов хроматина, представляющих 21 пару хромосомных территорий [115]. Алгоритмы для цепочек случайных блужданий по хроматину и кластеризации хромосомных территорий представлены в Приложении А. Предварительные оценки составило около 12736 генов в геноме головного мозга крысы. Как демонстрация в модели генома крысы смоделированы гены *GRIN1* и *GRIN2b* длиной 26920 п.н. и 458343 п.н. (код NCBI: *NC\_005102.4* и *NC\_005103.4*). Состав основания ДНК, содержание А-Т и G-C рассчитано как 46.9% и 53.1% для *GRIN1* и 55.9% и 44.1% для *GRIN2b* в местах *3p13* и *4q43* в хромосоме 3 и 4 крысы, соответственно. На рисунке 2.5 показана модель ядра одного нейрона крысы, заполнена сферическими доменами хроматина, включающих модели ДНК при прохождении трека заряженной частицы. После образования продуктов радиолиза воды в треках заряженных частиц, попадающих в ядро клетки, гидроксильные радикалы ( $\bullet\text{OH}$ ) обладают высокой реакционной способностью и могут взаимодействовать, находясь вблизи молекулы ДНК, с атомами, составляющими ДНК [116]. Химические реакции между радикалами  $\bullet\text{OH}$  и молекулами ДНК (цепями и нуклеотидами) представлены в таблице 7.

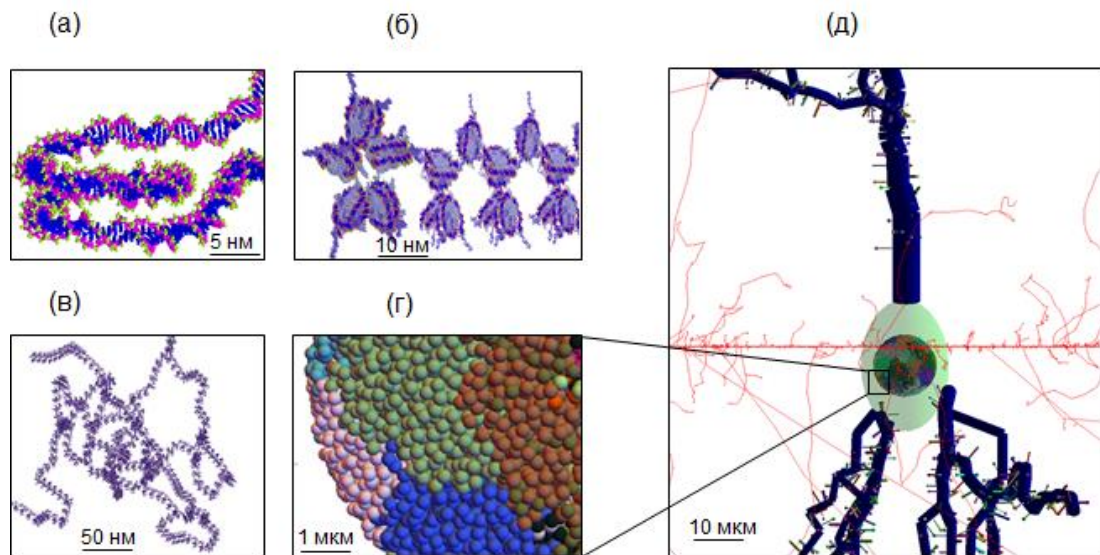


Рисунок 2.5 – Схема моделирования организации структур ДНК в ядре нейрона. (а) – модель двойной спирали ДНК в нуклеосоме, представлена атомами с радиусами 0.1 нм. (б) и (в) – модели структуры хроматина, состоящая из нескольких нуклеосом. (г) – модель хроматиновых доменов, случайно распределённых в ядре клетки, представляющих хромосомные территории. (д) – модель одного нейрона смоделированы клеточное тело (зелёный), содержащее ядерную ДНК, и дендриты (темно-синий), с распределёнными на них шипиками и синаптическими рецепторами при прохождении трека заряженной частицы (600 МэВ/нук  $^{56}\text{Fe}$ ).

Таблица 7 – Список реакций и наблюдаемых констант скорости реакций, использованных в этом работе.

Реакции гидроксильных радикалов с ДНК	Скорость реакции ( $10^9 \text{ M}^{-1}\text{сек}^{-1}$ )
$\bullet\text{OH} + \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5\text{P}$ (СФ)	2.50
$\bullet\text{OH} + \text{C}_5\text{H}_4\text{N}_5$ (А)	6.10
$\bullet\text{OH} + \text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_2$ (Т)	6.40
$\bullet\text{OH} + \text{C}_5\text{H}_4\text{N}_5\text{O}$ (G)	9.20
$\bullet\text{OH} + \text{C}_4\text{H}_4\text{N}_3\text{O}$ (С)	6.10
$\bullet\text{OH} + \text{H}_2\text{A}$ (Гистоны)	-

## 2.2.4 Модели нейронных сетей и гиппокампа

В связи с высокой сложностью морфологию нейронов возникают проблемы при моделировании радиационно-индуцированных эффектов в большой популяции клеток. Для преодоления вычислительных трудностей необходимо



разработать оптимальные с точки зрения расчётов нейронных сетей большой размерности объёмные модели основных типов нейронов гиппокампа. При моделировании крупномасштабных нейронных сетей, модели со сложной морфологией часто заменяются небольшими компартментальными моделями нейрона, представляющими упрощённую структуру дендритного дерева [117-120]. Основные морфологические параметры смоделированных упрощённых и реалистичных моделей гранулярных и пирамидных нейронов в этой работе для обеих целей микродозиметрического и электрофизиологического моделирования представлены в таблице 8. Примеры 3D геометрии обеих моделей нейронов показаны на рисунке 2.6.

Таблица 8 – Морфологические параметры основных компонентов нейронов гиппокампа крысы.

Модель	Объем (мкм <sup>3</sup> )		Число сегментов	
	Реалистичная	Упрощённая	Реалистичная	Упрощённая
CA1 пирамидная клетка				
Сома	2234.8 ± 321.6		1	
Дендриты	27384.7 ± 5992.8	26951.2 ± 6078.3	2643 ± 186	63
Шипики	3564.4 ± 667.8	3387.9 ± 786.4	14687 ± 3894	3782 ± 1874
Общее	33184.9 ± 6982.3	32573.9 ± 7186.3	17331 ± 4080	3846 ± 1874
3Ф гранулярная клетка				
Сома	912.3 ± 207.3		1	
Дендриты	8849.5 ± 2381.3	8167.2 ± 1967.2	567 ± 263	8
Шипики	801.3 ± 198.5	758.9 ± 227.2	3897 ± 304	1198 ± 231
Общее	10563.1 ± 2787.1	9838.4 ± 2401.7	4465 ± 567	1207 ± 231

Для каждой модели нейрона определено минимальное число сегментов дендритов нейрона для корректного воспроизведения морфологии, а также электрических свойств, моделирующих генерацию потенциала действия. Пирамидные нейроны в CA3/CA1 области гиппокампа представлены хорошо известной компартментальной моделью [117; 118], согласующейся с множеством экспериментальных данных, как *in vitro*, так и *in vivo*. Такие модели нейронов воспроизводят аналогичные электрические свойства, включая следующие

мембранные ионные токи: быстрый натрий ( $\text{Na}^+$ ), калиевый выпрямитель с задержкой, переходный ток калия, пост-гиперполяризация калия, зависимый от кальция и зависимый от напряжения калий ток и высокопороговый ток  $\text{Ca}^{2+}$ .

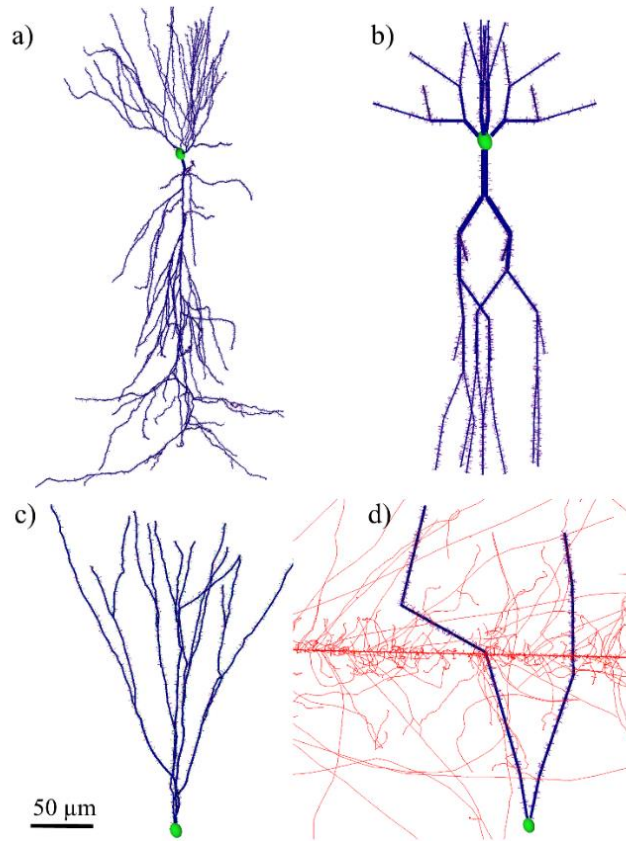


Рисунок 2.6 – 3D реалистичная и упрощённая модель пирамидальной (a, b) и гранулярной клетки (c, d) с дендритными шипиками. Пример смоделированной трековой структуры (красный онлайн, тонкие длинные линии на печати) прохождения ионов железа с энергией 600 МэВ/нук по упрощённой модели гранулярной клетки (d).

Распределение ионных каналов по компартментам клетки и количество синаптических связей было похоже на нейронную сеть, описанную в оригинальной статье [118]. Параметры DG-клеток были взяты из исследований изменений морфологии клеток при возбудимости сети зубчатой извилины [119; 120]. Были изучены зернистые клетки как с реалистичной, так и с упрощенной морфологией. Модель гранулированных клеток сохранила основные характеристики этих моделей, включая следующие ионные токи: натрий, калиевый, быстрый и медленный выпрямитель с задержкой, переходный ток калия, калиевый А-тип,

кальций-зависимый и зависимый от напряжения калиевый ток и три типа токов Са. Моделирование генерации и распространения потенциалов действия на мембранах реалистичных и упрощенных моделей нейронов также были протестированы с помощью программного обеспечения NEURON [121].

Из данных нейронов моделируется сеть согласно реальной морфологии слоёв и отделов гиппокампа. Реконструкция вокселизированной структуры гиппокампа основана на цифровой цитоархитектонической сегментации областей гиппокампа крысы, а детали структурных свойств описаны в литературе [122]. Такая модель содержит популяции размером  $1.9 \times 10^6$  клеток в разных областях гиппокампа [39; 123]. Тела нейронов с заданным количеством размещаются случайным образом без перекрытия (с использованием оператора *G4bool*) внутри вокселизированных объёмов различных областей. Ядра выбранных клеток представляют собой сферу диаметром 5.4 – 12.8 мкм [124; 64]. Используя упрощённые модели нейронов, смоделированы 3D модель гиппокампа крысы в масштабе 1:100 по отношению к реальной структуре. Модель содержит разные типы нервных клеток - пирамидные клетки CA3/CA1 и DG гранулярные клетки, а также интернейроны и нервные стволовые клетки. Масштабная модель гиппокампа содержит популяции 11960 гранулярных клеток DG, 3480 CA1 пирамидных нейронов и 2401 CA3/CA2 пирамидных нейронов, 496 мшистых клеток в хилусе, 560 DG незрелых нейронов и 110 нервных стволовых клеток в субгранулярной зоне. Нейроны расположены в областях гиппокампа внутри водяного бокса с габаритными размерами  $4608 \times 7106 \times 1000$  мкм. Единичная нервная стволовая клетка, незрелый нейрон и прикорневая мшистая клетка представлены объёмами  $3284.4 \pm 468.1$  мкм<sup>3</sup>,  $6786.7 \pm 1206.4$  мкм<sup>3</sup> и  $6328.7 \pm 1513.1$  мкм<sup>3</sup>. Количество сегментов составляло 5, 7 и 9 соответственно. Для такого небольшого количества сегментов и клеточной популяции создание упрощённых моделей нейронов в субгранулярной зоне было бессмысленным.

## 2.3 Настройка облучения и расчёт повреждений

### 2.3.1 Характеристики падающих частиц

В данной работе модели нейронов облучались протонами ( $^1\text{H}$ ), ионами гелия ( $^4\text{He}$ ), ионами углерода ( $^{12}\text{C}$ ) и ионами железа ( $^{56}\text{Fe}$ ) в широком диапазоне энергий (1 – 1000 МэВ/нук) и доз (0.01 – 3 Гр). Выбор таких частиц (особенно  $^1\text{H}$  и  $^{12}\text{C}$ ) в этой работе был мотивирован развитием современных методов лучевой терапии и планированием лечения глубоко расположенных опухолей головного мозга [19; 20]. С другой стороны, падающие частицы с заданными физическими параметрами широко используются в радиобиологических экспериментах на ускорителях частиц, что требует предсказания космических радиационно-индуцированных эффектов ЦНС на клеточном уровне [70-73].

Модели Geant4-DNA использовались для моделирования физических и химических процессов производства низкой энергии внутри структур нейронных клеток. Вторичный разрез продукции использовали как 1 нм на молекулярном уровне. Именно эти первоначальные оскорбления от частиц, взаимодействующих с биомолекулами, приводят ко всем биологическим повреждениям от радиации. Вне клеток моделировались Geant4 стандартные электромагнитные модели (*option4*) и адронные процессы (*QGSP\_BIC\_HP*) как для транспорта первичных, так и вторичных частиц. Полная модель гиппокампа помещена в боковой куб 10 мм. Клетки гиппокампа были заполнены  $1.0 \text{ г/см}^3$  воды (*G4\_WATER*), и  $1.04 \text{ г/см}^3$  материала ткани мозга (*G4\_BRAIN\_ICRP*) было выбрано в качестве внутренней среды куба. Таким образом, микроскопические распределения энергии и окислительных свободных радикалов в различных компонентах нейрональных клеток были оценены и проанализированы.

Вероятность попадания при прохождении заряженных частиц через нейроны здесь рассчитывалась как отношение количество сегментов, пересекаемых частицами к общему количеству сегментов нейронов. ЛПЭ рассчитывается как вся энергосвободная ( $E$ ) на длину треки единичной падающей частицы ( $l_p$ ), пересекающей через нейроструктуру. В случае ядра нейрона ЛПЭ оценивается

дозовой-средней значения линейной энергии, ранее описанной формулой (1.4) в рамках микродозиметрической концепции.

Микроскопическая доза ( $D_{\text{neuron}}$ ) также получается из всех энерговыделения ( $E$ ) падающих и вторичных частиц, которые произошли в объемных структурах отдельных нейронов:

$$D_{\text{neuron}} = E/M_{\text{neuron}}, \quad (2.8)$$

Здесь,  $M_{\text{neuron}}$  – масса компонентов нейрона (сома, ядро, компартменты шипов и дендритов) или целая структура нейрона.

Путём моделирования можно рассчитать число падающих частиц  $N_{\text{част}}$  от заданной дозы  $D$  (0.01 – 3 Гр):

$$N_{\text{част}} = D(\text{Гр}) \times A(\text{мкм}^2)/[0.1602 \times \text{ЛПЭ}(\text{кэВ/мкм})], \quad (2.9)$$

где  $A$  – площадь виртуального шара с диаметром диагонального протяжения отдельных нейронов или площадь виртуального бокса, включая клеточные популяции и гиппокамп.

Радиохимический выход ( $G$ ) продуктов радиолиза воды в зависимости от времени, физические характеристики падающих частиц и морфологические свойства клеток, рассчитывается как количество молекул, созданных или разрушенных 100 эВ энерговыделения:

$$G(t) = N(t) / (E/100 \text{ эВ}), \quad (2.10)$$

где  $N(t)$  – количество молекул, а  $E$  – полное энерговыделение падающей ионизирующей частицы в различных компонентах нейронов, выраженное в эВ. Здесь  $G$  выражается в молекулах на 100 эВ (для перевода в единицы СИ: 1 молекула/100 эВ  $\approx$  0.10364 мкмоль/Дж).

### 2.3.2 Модель расчёта радиационных повреждений

На уровне биомолекул электроны с низкой энергией (0–20 эВ) являются наиболее распространёнными вторичными частицами, которые вызывают

различные биологические повреждения (например, ДНК, NMDA). Основное повреждение клеток ионизирующим излучением является повреждённые участки ДНК, которые могут быть вызваны прямым действием энергосвободного и косвенным действием окислительных свободных радикалов, образующихся в водной среде, окружающей молекулярную мишень. Известно, что энергосвободное выше определенного порога в структурах биомолекул вызывает в ней различные формы повреждений [81].

Вероятность образования хотя бы одного повреждения молекулы ДНК здесь рассчитывалась с помощью экспоненциального распределения Пуассона  $P_{\text{пов}}$  на основе экспериментальных сечений первичных взаимодействий в молекулах ДНК [125].

$$P_{\text{пов}} = 1 - \exp [-(\varepsilon/\varepsilon_0)^2] \quad (2.11)$$

где  $\varepsilon$  - общее энергосвободное (эВ), накопленных одним молекулам ДНК от низкоэнергетических электронов,  $\varepsilon_0$  - относительная энергия разрушения ковалентных связей молекулы, которая принимается за 8.22 эВ [126]. Вероятность непрямого (косвенного) повреждения от свободных радикалов ( $\bullet\text{OH}$ ), взаимодействующих с молекулами ДНК составляет 0.65 через 1 наносекунд после облучения [81]. После предыдущих шагов прямое или косвенное повреждение, вызванное сахаро-фосфатными остовами или нуклеотидами ДНК, рассматривается как ОР или ПО ДНК. Если два ОР находятся в противоположных цепях в пределах 10 п.н. друг от друга, это будет считаться ДР. Кластерные ОР (и ДР) ДНК образуются в результате двумя или более ОР (и ДР), включающих ПО за счёт прямого и косвенного воздействия излучения. На основании представленных данных рассчитывалась микроскопическое ОБЭ [84], определяемая отношением выхода индукции ДР ДНК ( $N_{DSB}$ ) для тяжёлых заряженных частиц и протонов высоких энергий (аналогично стандартному рентгеновскому излучению).

### 2.3.3 Модель расчёта выживаемости клеток гиппокампа

Гибель радиочувствительных клеток в субгранулярной зоне гиппокампа, вызванная облучением, здесь рассчитывалась на основе полученных данных о повреждениях ДНК и модели выживаемости клеток в рамках молекулярной модели. В последние годы линейно-квадратичная (LQ) модель широко используется в количественной радиобиологии, поскольку она довольно хорошо соответствует экспериментальным данным по выживаемости клеток млекопитающих и человека [84; 127-130]. После прохождения заряженных частиц через ядро клеток в субгранулярной зоне гиппокампа выживаемость облучённых клеток  $N_{\text{ит}}$  была описана следующим образом

$$N_{\text{ит}} = N_0 \cdot \exp(-\alpha D - \beta D^2) \quad (2.12)$$

где  $N_0$  – количество клеток,  $\alpha D + \beta D^2$  – количественно описывает гибель клеток  $N_{\text{death}}$ , определяемая формулой

$$N_{\text{death}} = N_{\text{DSB}} \cdot \mu_y \cdot P_{\text{contrib}} \cdot (1 - P_{\text{corr}}) \quad (2.13)$$

Здесь, начальными условиями в ней служили зависимости числа ДР ДНК ( $N_{\text{DSB}}$ ) на клетку на единицу поглощенной дозы и среднего количества первичных частиц ( $n_p$ ), вызывающих ДР ДНК при прохождении заряженных частиц через ядро клеток от параметров облучения, вычисленные методом Монте-Карло. Такая модель учитывает вероятность “перепоражения” структуры ДНК ( $P_{\text{contrib}}$ ), а также репарацию ДР ДНК ( $P_{\text{corr}}$ ) через NHEJ путь в качестве доминирующего пути в клетках млекопитающих [129; 130]. При этом  $P_{\text{contrib}}$  определяется распределением Пуассона и зависит от количества ДР ДНК ( $\lambda_p$ ), индуцированных одной трекой частиц

$$P_{\text{contrib}} = [1 - \exp(-\phi \lambda_p)] / \phi \lambda_p \quad (2.14)$$

Вероятность правильной репарацию ДР ДНК получается:

$$P_{\text{correct}} = \mu_x \cdot [1 - \exp(-\xi \lambda_p)] / \xi \lambda_p \cdot [1 - \exp(-\eta(\lambda_p)n_p)] / \eta(\lambda_p)n_p \quad (2.15)$$

Параметры модели ( $\mu_x$ ,  $\mu_y$ ,  $\phi$  и  $\xi$ ) были получены с экспериментальными данными (см. Главу 4).

### 2.3.4 Вычислительные ресурсы

Компьютеры (суперкомпьютеры) необходимо, чтобы построить модели нейронов (от молекул к популяциям клеток) и моделировать взаимодействия ионизирующего излучения со структурными элементами клетки головного мозга. Моделирование, вычислительные эксперименты и анализ данных проводились как на ПК, так и на гетерогенной вычислительной платформе *HybriLIT* через суперкомпьютер «ГОВОРУН» под ОС Scientific Linux (Nitrogen) в ЛИТ ОИЯИ (Дубна, Россия) [131]. Расчёты также выполнены на серверах вычислительного кластера ЛРБ ОИЯИ с использованием процессора *Intel® Xeon® Gold 6136 (256 GB RAM, 48 CPU @ 3.00GHz, GeForce RTX 2070)* и *AMD Ryzen Threadripper 3970X (126 GB RAM, 64 CPU @ 3.7GHz, GeForce GTX 1080 Ti)* под ОС openSUSE Leap.

Чтобы представить полную геометрию нейронов и ускорить процедуру вычислений, в стандартные процессы моделирования Geant4 были введены четыре дополнительных класса: «*G4PVParameterisation*» - для построения 3D структуры компартментов нейрона; «*G4PVOverlapping*» - для расчёта пересечения между двумя или более сегментами нейрона; «*G4FastComputing*» - для ускорения моделирования физических процессов, относящихся к протонам и электронам; «*G4Multi-Threading*» - для распараллеливания физических и химических процессов с большим количеством событий в случае высокой дозы облучения и ЛПЭ.



## 2.4 Выводы к Главе 2

Разработка новых радиобиологических приложений под названием «neuron», было описано с помощью программного пакета Geant4-DNA, позволяющий смоделировать любую геометрию нервных клеток для микродозиметрических расчетов, и получать важную количественную информацию о физико-химических процессах, слабо доступных для радиобиологических экспериментов. Для каждой модели нейрона определены клеточное тело (сома), содержащее ядерную ДНК, и дендриты, с распределёнными на них шипиками и NMDA-рецептарами. При моделировании физических и химических процессов внутри структур нейронных клеток реализован специализированный пакет Geant4-DNA на основе полуэмпирической модели Rudd в рамках FBA и уравнения Эйнштейна–Смолуховского. Стандартный пакет Geant4, реализующий электромагнитные процессы для ионизационной потери энергии при прохождении заряженных частиц через внешнюю среду клетки, определяется формулой Бете-Блоха.

Также было описано разработка упрощённых модели нейронных сетей по геометрическим и электрофизиологическим свойствам эквивалентные нейронам с реальной морфологией для преодоления вычислительных трудностей и изучения активности при моделирования радиационно-индуцированных эффектов в большой популяции клеток. С использованием различных моделей клеток создана объёмная модель гиппокампа крыс, включая основных типов клеток (нейрональные стволовые клетки, клетки-предшественники, незрелые и зрелые гранулярные клетки, пирамидальные нейроны) при моделировании структуры треков частиц. Описаны расчёт ЛПЭ, микроскопическая доза, количество падающих частиц и радиохимического выхода. Экспоненциальные функции использованы для анализа повреждений биомолекул и дендритных структур при прохождении тяжёлых заряженных частиц через нейрон. Также сформулированы модели радиационно-индуцированной гибели радиочувствительных клеток гиппокампа на основе полученных данных о повреждениях ДНК.

Полное моделирование, вычислительные эксперименты и анализ данных проводились с использованием гетерогенной платформы *HybriLIT* через суперкомпьютер «*ГОВОРУН*» ОИЯИ (Дубна, Россия).

### **Глава 3. Моделирование физико-химических процессов при действии излучений на нервные клетки**

В главе представлены результаты моделирования физических и химических процессов при действии заряженных частиц на нервные клетки разных типов. При помощи разработанной модели с учётом энерговыделения и продуктов радиолиза воды исследованы характер микроскопического поглощённой дозы и окислительных свободных радикалов в отдельных нейронах и в нейронных сетях, возникающие при воздействии тяжёлых заряженных частиц с различными физическими характеристиками.

#### **3.1 Вероятность попадания частиц при прохождении их через нейроны**

Статистику совпадения компартментов нейронов оценивали путём подсчёта процента сегментов, пройденных как первичными частицами, так и вторичными электронами. На рисунке 3.1 показана вероятность попадания заряженных частиц при прохождении их через нейроны в зависимости от ЛПЭ и дозы излучения. В случае протонного облучения вероятность близка к 100%, а для тяжёлых ионов она уменьшается в зависимости от ЛПЭ частиц. С другой стороны, вероятность попадания увеличивается при увлечении дозы, но она более сильно зависит от типа частиц при одинаковой дозе. Эта закономерность является следствием неравного количества частиц при одинаковой дозе излучения, что составляет несколько сотен для тяжёлых ионов и миллионы для протонов. При облучении в дозе 0.1 Гр общее количество прошедших протонов (100 МэВ), ионов углерода (300 МэВ/нук) и железа (600 МэВ/нук) рассчиталась значениями 372, 10 и 0.7 через каждое тело нейрона, 2392, 179 и 13.9 через дендриты и 135, 57 и 4.5 через дендритные шипики каждого нейрона, соответственно. По результатам расчётов дендриты имеют меньшую вероятность попадания, чем тело клеток. Следует также отметить, что в случае тяжёлых ионов большинство дендритных структур нейронов пересекаются только треками вторичных  $\delta$ -электронов, а при воздействии протонов дендриты пересекаются в основном первичными частицами. Кроме того, рассчитано, что

примерно 18%, 25% и ~31% дендритных шипиков пересекаются только вторичными электронами падающих частиц ( $^1\text{H}$ ,  $^{12}\text{C}$ ,  $^{56}\text{Fe}$ ), соответственно.

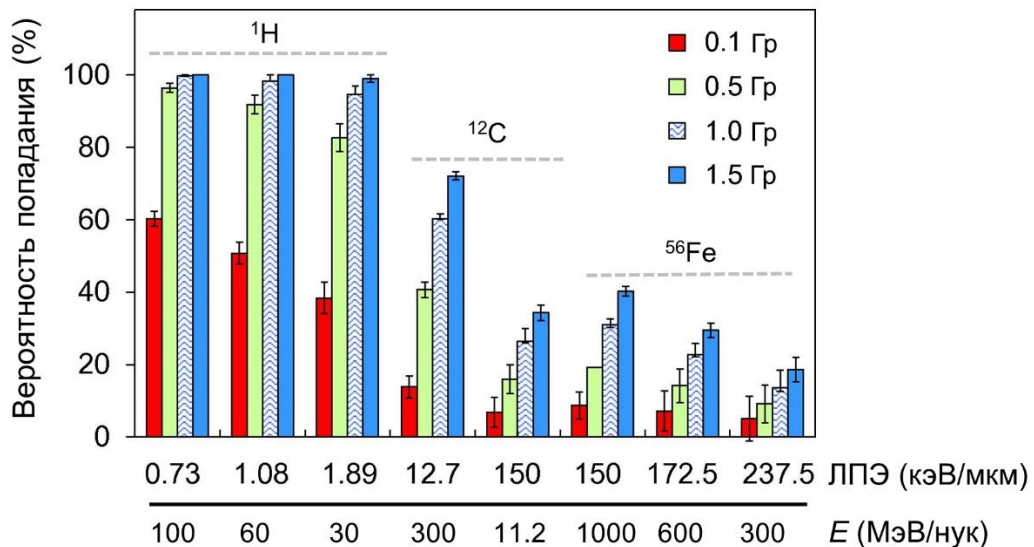


Рисунок 3.1 – Вероятность попадания в зависимости от ЛПЭ и дозы излучения при прохождении тяжёлых заряженных частиц через нейронную сеть, состоящая из 10 пирамидальных клеток. В планки погрешностей — это стандартное отклонение ( $\pm SD$ ) для всех испытаний.

Возможность повреждения нейронов также оценивалась как вероятность прохождения первичной частицы и вторичного электрона через нейроны. В настоящем исследовании значения, характеризующие частоту этих совпадений, были введены и названы полной вероятностью прохождения частиц и вторичных электронов соответственно. Чтобы выявить влияние качества излучения на повреждение нейронов, обе эти величины были оценены по отношению к ЛПЭ частицы (Таблица 11). Полученные результаты демонстрирует, что полная вероятность прохождения частицы возникает преимущественно от вторичных  $\delta$ -электронов, а не от трека первичной частицы. В то же время вклад  $\delta$ -электронов в общую вероятность наведения уменьшается с увеличением ЛПЭ. В случае протонного облучения вероятность первичных частиц было до 19.7 раз выше, чем вероятности  $\delta$ -электронов. При моделировании воздействия ионов углерода и

железа средняя изменчивость между вероятностью первичных частиц и  $\delta$ -электронов характеризовалась коэффициентом 2.7 и 1.8 соответственно.

Результаты моделирования также показывают, что доза мало влияет на обе эти величины. Среди всех полученных данных наибольшее отклонение вероятности между рассматриваемыми дозами не превышало 1.39%. Полученные результаты позволяют выделить основные особенности функции, которые можно было бы предложить для описания этих взаимосвязей. По мере увеличения ЛПЭ вероятность наведения сначала увеличивается медленно, а затем быстрее, когда ЛПЭ превышает 10 кэВ/мкм. В диапазоне от 10 до примерно 100 кэВ/мкм функция быстро увеличивается с увеличением ЛПЭ и достигает максимума при примерно 100–150 кэВ/мкм.

Такая форма функции объясняется в основном эффектами насыщения от передачи энергии в сегментах нейрона. Большое количество событий передачи энергии сосредоточено вблизи ядра трека частицы, в то время как количество рассеянных электронов на единицу расстояния увеличивается с увеличением ЛПЭ частиц и может распространяться далеко от местоположения частицы. Значительное увеличение доли электронов с длинным путём после примерно 150 кэВ/мкм приводит к снижению вероятностей нацеливания при более высоких ЛПЭ. В целом, все эти данные предполагают, что с геометрических и микродозиметрических соображений максимальная вероятность повреждения может быть связана с ЛПЭ в диапазоне от 100 до 150 кэВ/мкм.

## **3.2 Количественная оценка поглощённой дозы**

### **3.2.1 Микрораспределение дозы в структурах пирамидальных нейронов**

Пространственное микрораспределение дозы в сегментах отдельного нейрона области CA1 гиппокампа головного мозга при действии заряженных частиц на рисунке 3.2. Микрораспределение энерговыделения облучения проявляется только внутри нейрона. Распределение вне клетки пропускается. Более высокие значения энерговыделения изображены «красными» областями цветовой полосой в результате прямого прохождения первичных частиц и их вторичных электронов. Сегменты нейрона, получающие меньшую энергию и дозу, представлены «более холодными» областями, возникающими преимущественно в результате взаимодействий вторичных электронов. Установлено, что локальные плотности поглощённой дозы в основных компонентах нейронов различны для разных типов заряженных частиц при облучении пирамидального нейрона в дозе 1 Гр. При воздействии протонов, ионов углерода и железа примерно 14%, 11% и 8% поглощённой дозы в нервной клетке приходится на тело клеток (сома), а более 80% приходится на дендриты. Интересным наблюдением является примерно 7% поглощённой дозы в дендритах наблюдаются дозы более 1 Гр в случае протонного облучения, а для ионов углерода и железа 68% и 83% поглощённой дозы в дендритах наблюдаются дозы более 1 Гр. При воздействии протонов около 61% дендритных шипиков получают локальные дозы в диапазоне 0.01–10 Гр, а 45% и 32% дендритных шипиков наблюдаются локальные дозы ионов углерода и железа в диапазоне 0.01–50 Гр и 0.01–140 Гр, соответственно. Результаты расчётов показывают, что в случае тяжёлых ионов возникают большие локальные дозы в тонких структурах нейронов, чего не достигается при воздействии протонов. Анализ накопления локальной энергии и дозы в микро-сегментах нейронов при воздействии тяжёлых ионов, свидетельствует о значительном повышении вероятности повреждения различных нейронных компонентов.

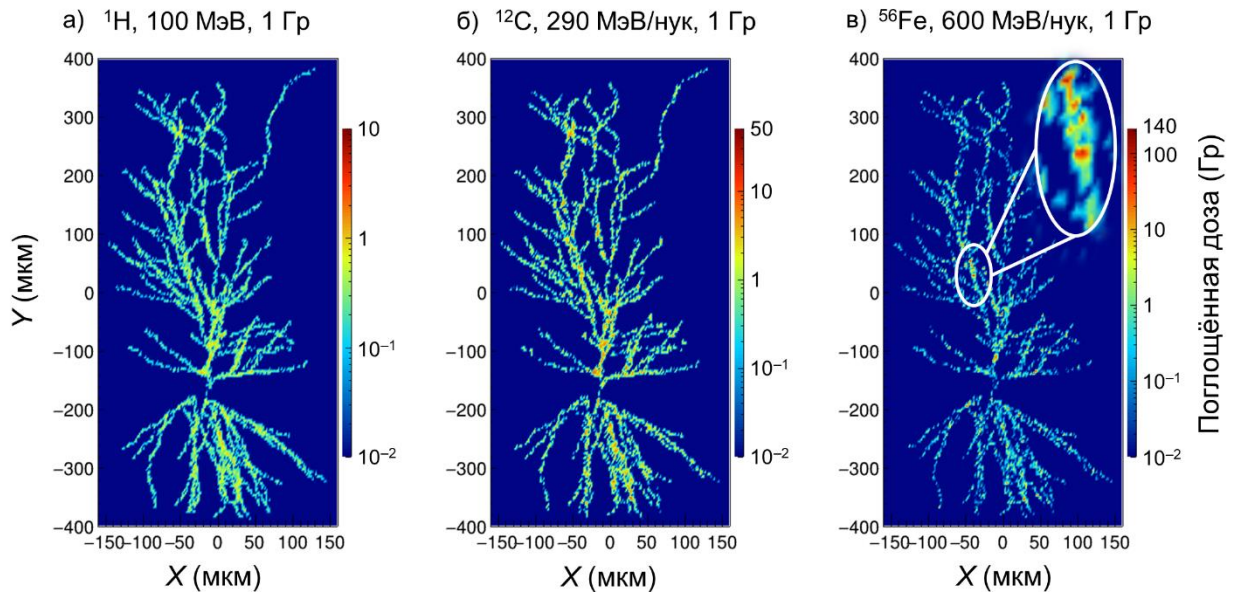


Рисунок 3.2 – Пространственное микрораспределение поглощённой дозы в сегментах пирамидального нейрона после облучения протонами (а), ионами углерода (б) и железа (в) в дозе 1 Гр. На панели показан крупный план области, выделенной белым кругом (в).

Перед оценкой стохастических величин и их распределений в компонентах нейронов наши микродозиметрические расчёты были проверены на данных по линейным энергетическим спектрам (не показано). На рисунке 3.3 представлены графики распределений переданной энергии, наблюдаемые внутри одного пирамидного нейрона при воздействии тяжёлых заряженных частиц. Эти данные могут быть представлены как частотная функция  $f(\varepsilon)$  в зависимости от переданной энергии. Нулевые значения  $f(\varepsilon)$  исключаются из анализа. На этих графиках дискретные наборы данных аппроксимируются полиномиальными функциями  $f(\varepsilon) = a_0 + a_1\varepsilon + a_2\varepsilon^2 + a_3\varepsilon^3 + a_4\varepsilon^4 + a_5\varepsilon^5 + a_6\varepsilon^6$  с параметрами, указанными в таблице 9 (Приложение А). Эти функции представляют собой нисходящие кривые двойной формы, которые имеют максимумы (пик) и минимумы (впадина). Положения пиков и впадин зависят от физических параметров ионных пучков. В случае ионов углерода минимумы непрерывных функций наблюдаются при 79 кэВ для 0.2 и 2 Гр для ионов 290 МэВ/нук и 59 кэВ для 1 Гр для ионов 500 МэВ/нук максимумы обнаруживаются при 134 кэВ (0.2 Гр, 290 МэВ/нук), 138 кэВ (2 Гр, 290 МэВ/нук) и

101 кэВ (1 Гр, 500 МэВ/нук). Сравнение данных для 0.2 и 2 Гр ионов углерода с энергией 290 МэВ/нук показывает различие в диаграммах энерговыделения в результате 10-кратного увеличения дозы облучения. Существенное изменение проявляется только в амплитуде кривой. Смещения кривых относительно переданной энергии не наблюдается. Что касается ионов углерода, то расчётные положения впадин составляют 883 и 786 кэВ для ионов с энергией 600 и 1000 МэВ/нук соответственно. Пики наблюдаются при 1705 кэВ (600 МэВ/нук) и 1375 кэВ (1000 МэВ/нук). Эти значения представляют собой среднее энерговыделение в теле клетки (сома), при прохождении одиночной частицы через отдельные нейроны. В случае дендритных ветвей среднее энерговыделение составляет 201.4–305.6 кэВ для ионов железа и 18.4–41.2 кэВ для ионов углерода. Такие значения большого энерговыделения не наблюдаются при прохождении высокоэнергетических (100 МэВ) протонов через нейрон (~2.7 кэВ в соме ~0.91 кэВ в дендритах).

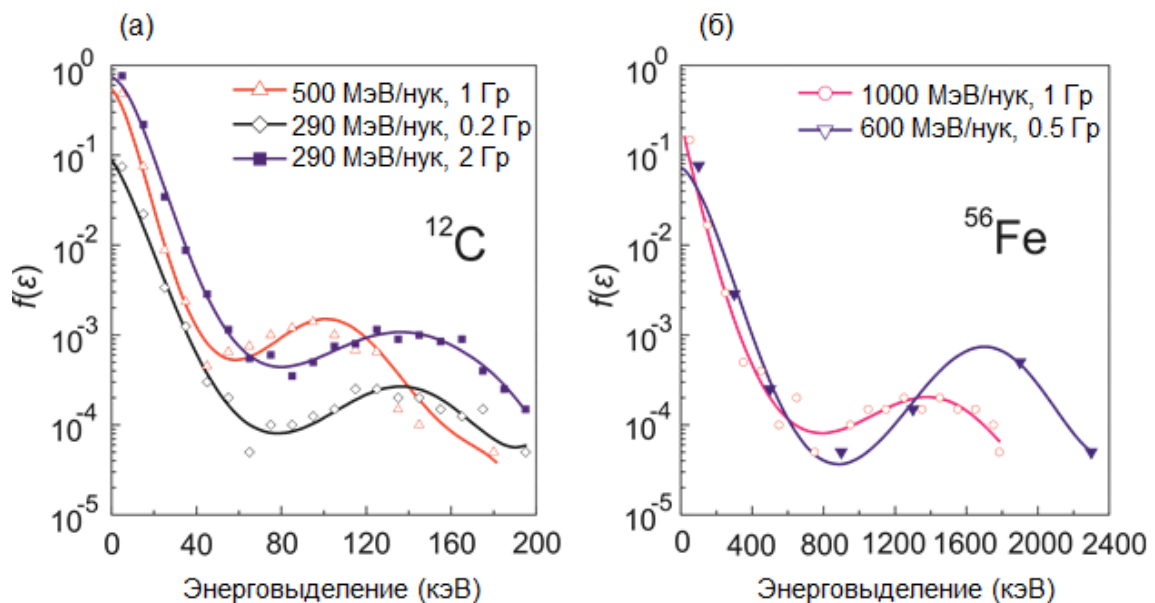


Рисунок 3.3 – Микрораспределение значений энерговыделения в сегментах отдельных нейронов CA1 при воздействии ионов углерода (а) и ионов железа (б).



### 3.2.2 Оценка энерговыделения в субклеточных структурах нейрона

Среднее значение энерговыделения в различных частях нейрона (клеточное тело-сома, дендриты, шипики, рецепторы, ядра нейронов и структуры ДНК) при прохождении единичного трека иона железа через единичный гранулярный нейрон приведен на рисунке 3.4. По оценкам, единичной частицы железа с энергией 600 МэВ/нук, пересекающей гранулярный нейрон, средние энерговыделения характеризовались значениями  $1130.5 \pm 434.2$  кэВ в соме,  $254.3 \pm 142.7$  кэВ в дендритах,  $39.9 \pm 22.6$  кэВ в шипиках, и также  $5.1 \pm 1.7$  и  $0.5 \pm 0.2$  кэВ в ядерной ДНК и синаптических рецепторах NMDA. Полученные результаты показывают, что сома и ядра нейронов получали наибольшее количество энерговыделения, а тонкие рецепторы получали наименьшее количество после прохождения иона железа через нейрон. Такие значения большого энерговыделения в субклеточных структурах нейрона не наблюдаются при прохождении высокоэнергетических протонов (100 МэВ) и ионов углерода (290 МэВ/нук) через нейрон.

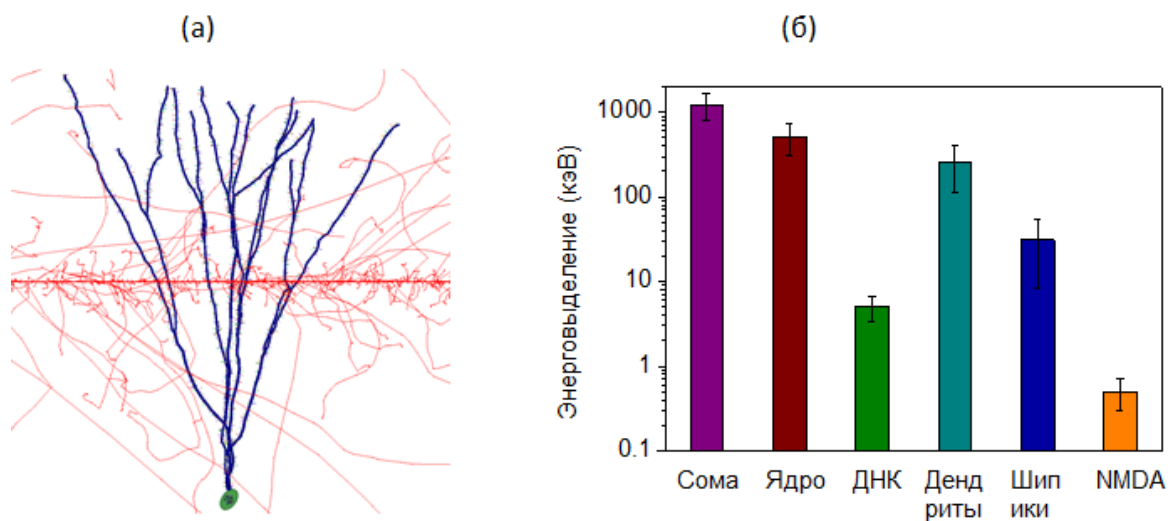


Рисунок 3.4 – (а) – Geant4 визуализация прохождения трека через нейрон. Структура трека иона железа с энергией 600 МэВ/нук показана красным линиям. (б) – Среднее значение энерговыделения в компонентах нейрона указано на каждой символической диаграмме.

При поглощённой дозе 1 Гр в одиночном гранулярной клетке гиппокампа общее энерговыделение обнаружено  $63.7 \pm 5.2$  МэВ в объеме нейрона, примерно 11.4 МэВ в соме, 50.2 МэВ в дендритах, 3.05 МэВ в шипиках и 0.18 кэВ в рецепторах. По оценкам, среднее число прохождений частиц составляет  $\sim 7.8$  через

сому,  $\sim 152.3$  через все дендритные ветви,  $\sim 51.4$  через все дендритные шипики ( $\sim 4000$ ),  $\sim 2.3$  через ядерную ДНК нейрона и  $\sim 0.15$  через все синаптические рецепторы ( $\sim 70000$  NMDA).

В данном случае было оценено общее количество основных физических процессов (ионизации атомов и молекул, возбуждения, упругое рассеяние, колебательное возбуждение и диссоциативное прилипание электрона к молекуле) в критических молекулярных мишенях нейрональной клетки, которое составляет  $\sim 12$  ионизации в глутаматных рецепторах NMDA,  $\sim 1793$  ионизации (или 31.2 кэВ) в ядерной ДНК нейрона крысы и  $\sim 1.2 \times 10^5$  ионизации в ядрах нейронов ( $\sim 2470$  кэВ) соответственно. Такой характер энерговыделения при попадании заряженной частицы, вероятно, может определять большее радиационное повреждение ядер нейронов, чем области синаптических контактов. Первоначальное физическое повреждение в ядрах нейронов сравнивается с литературными данными, которые известны, что облучение редко- и плотно-ионизирующими излучениями, вызывают непосредственно  $\sim 10^5$  и  $\sim 1500$  ионизаций в ядре и структуре ДНК при поглощённой дозе 1 Гр в большинстве клеток млекопитающих [77; 81]. Это согласие даёт основание полагать, что наш модельный подход правильный.

### 3.2.3 ЛПЭ-зависимость поглощённой дозы в нейронной сети

Предложенный расчётный метод расширен для моделирования физико-химических актов взаимодействия заряженных частиц с небольшой нейронной сетью, из 10 нейронов (Рисунок 3.5). Результаты оценки энерговыделения и дозы, проведённой для сети из 10 нейронов, представлены на рисунке 3.6. Физические параметры заряженных частиц выбраны таким образом, чтобы охватить диапазон ЛПЭ со относительно широким значений – от единиц до десятков и сотен кэВ/мкм. При облучении протонов увеличение дозы приводило к увеличению общего энерговыделения в нейронной сети ( $E$ ). Более подробно, когда ЛПЭ падающих протонов была изменена с 0.73 до 1.89 кэВ/мкм, фиксированные дозы 0.1, 0.5, 1.0 и 1.5 Гр были связаны с увеличением  $E$  на 16.80, 18.29, 15.90 и 16.81 %, соответственно.

соответственно. После воздействия 0.1, 0.5, 1.0 и 1.5 Гр ионов углерода, разница между суммарным энерговыделением при 12.7 и 150.0 кэВ/мкм составила 5.23, 35.73, 29.16 и 13.44%, соответственно. При тех же дозах ионов железа,  $E$  увеличивался до 1.32, 2.63, 1.70 и 0.45% при изменении ЛПЭ со 150 – 237.5 кэВ/мкм, соответственно.

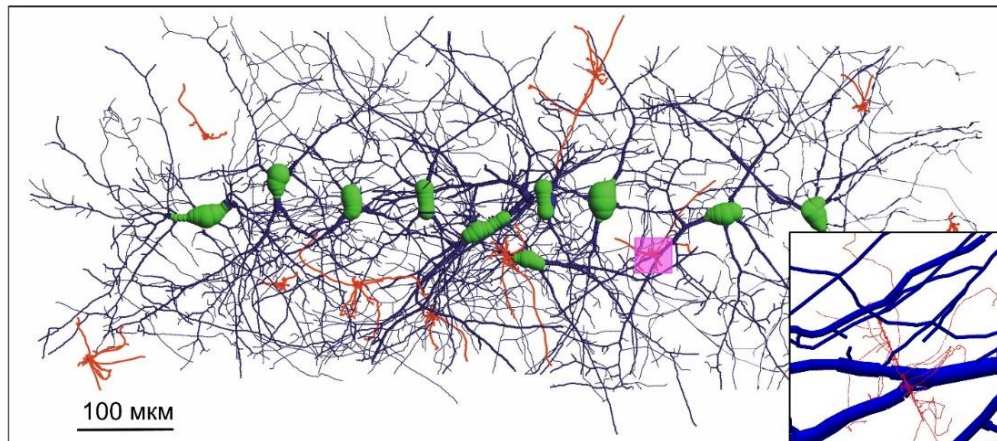


Рисунок 3.5 – Пространственная модель нейронной сети, состоящей из 10 клеток, пересекаемой 10 треками ионов железа с энергией 1 ГэВ/нуклон. На панели представлен крупный план области, выделенной фиолетовым цветом. Треки частиц железа показаны красным цветом.

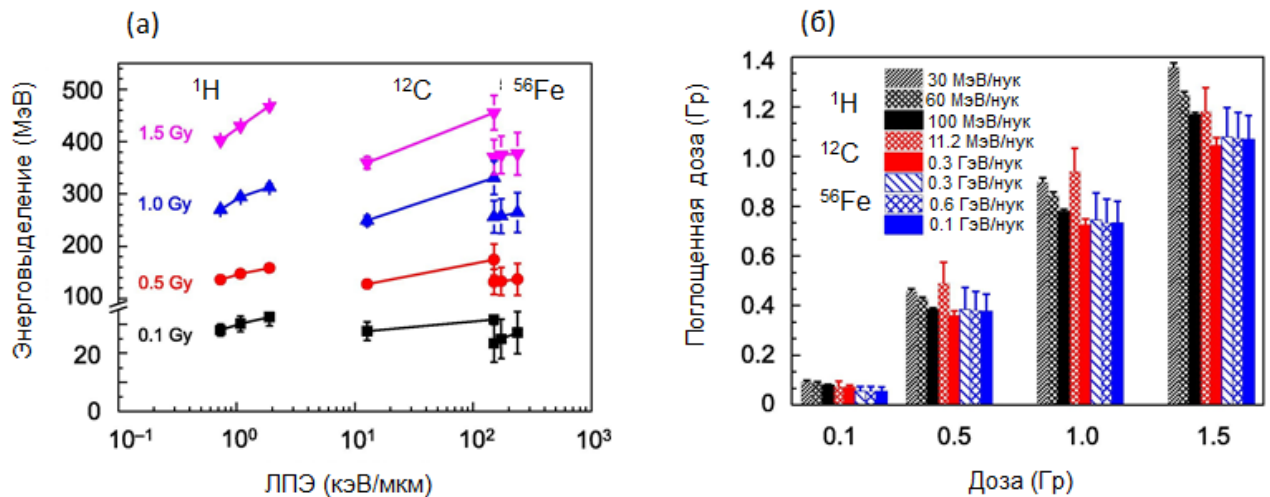


Рисунок 3.6 – (а) – Общее энерговыделение в нейронной сети в зависимости от ЛПЭ падающих частиц. Кинетические энергии заряженных частиц следующие (из слева направо): для протонов – 100, 60 и 30 МэВ; для ионов  $^{12}\text{C}$  – 300 и 11.2 МэВ/нук; для ионов  $^{56}\text{Fe}$  – 1000, 600 и 300 МэВ/нук. (б) – Общая поглощённая доза в нейронной сети в зависимости от дозы излучения в заданной области мозга.

Полученные результаты предполагают, что доза оказывает неоднозначное влияние на зависимость общего энерговыделения нейронов от ЛПЭ частицы. В частности, при дозах 0.1 и 1.5 Гр наибольший энерговыделений был получен для протонов 30 МэВ, наименьший – для ионов железа с энергией 1 ГэВ/нук. Между тем, при дозах 0.5 и 1.0 Гр максимальное и минимальное выделение полной энергии наблюдалось для ионов углерода с энергией 150 и 300 МэВ/нук. Эта закономерность является следствием неравного количества прохождений частиц, требуемых для достижения необходимой дозы флюенса при воздействии различных частиц. Поскольку рассматриваемые частицы имеют разную картину плотности ионизации, количество испытаний варьируется от нескольких сотен для ионов железа до миллионов для протонов.

Общее накопление дозы нейронов, которое представляет собой общую дозу, накопленную всеми сегментами нейронов, показано на рисунке 3.6б. В целом, моделирование демонстрирует ожидаемую тенденцию уменьшения дозы нейронов ( $D_{\text{neuron}}$ ) с увеличением энергии частиц. Выпадение наибольшей и наименьшей общей дозы при фиксированных дозах происходило по той же закономерности, что и при расчётах выделения энергии. В частности, при воздействии 0.1 и 1.5 Гр максимальное значение  $D_{\text{neuron}}$  было обнаружено для протонов 30 МэВ, минимальное - для ионов железа с энергией 1000 МэВ/нук. Дозы 0.5 и 1.0 Гр вызывали максимальной и минимальной поглощение дозы при облучении нейронов ионами углерода 150 и 300 МэВ/нук.

На рисунке 3.7 представлено пространственное распределение локальной дозы, переданной дендритным структурам нейрона заряженными частицами (протонами, ионами углерода и железа) в такой же низкой дозе (0.1 Гр) и разной ЛПЭ. В этом случае облучение ионами железа с высоким зарядовым числом ( $Z=26$ ) и высокой ЛПЭ (167.6 кэВ/мкм), вызывают очень большие локальные дозы и энергию в дендритных структурах нейрона, которое не достигается при воздействии заряженных частиц с низкой ЛПЭ (0.26 и 12.9 кэВ/мкм). Воздействие протонов, ионов углерода и железа наблюдается широкий диапазон поглощённой дозы в

дендритных сегментах до 0.6 Гр, 1.9 Гр и 14.2 Гр, соответственно. В результате действия ионов железа, дендритные ветви значительно уменьшаются на расстоянии 60-320 мкм от тела клеток в отличие от протонов и ионов углерода.

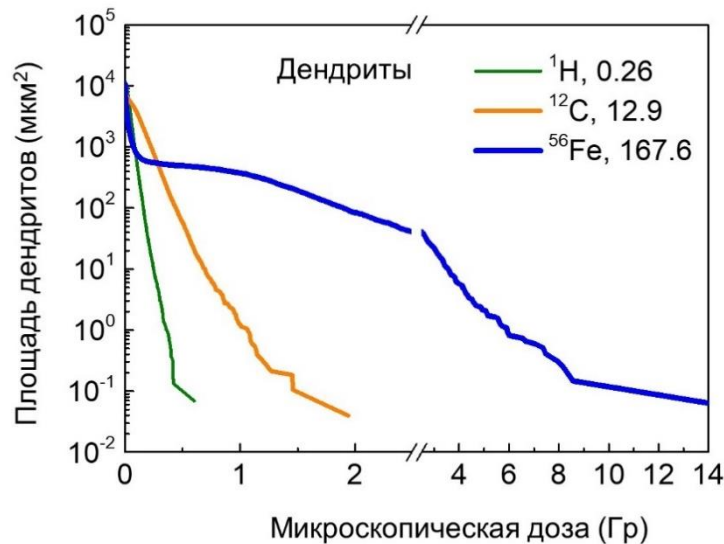


Рисунок 3.7 – Общая площадь дендритов на клетку в зависимости от локальной поглощенной дозы в дендритных сегментах при действии разных заряженных частиц. ЛПЭ представляет на символах выбранных заряженных частиц.

В случае ионов железа возникают большие локальные дозы ( $>100$  Гр) в дендритных шипиках нейронов, чего не достигается при воздействии протонов и ионов углерода высоких энергий (Рисунок 3.8). При этом более 70% поглощённой дозы в дендритных шипиках вызваны вкладом первичных частиц. Кроме того, головки шипиков получают значительное количество энерговыделения, а шейки шипиков получают меньше всего. Такой характер высокой локальной дозы при воздействии тяжелых ионов, вероятно, может определять потерю дендритных шипиков и радиационное повреждение области синаптических контактов.

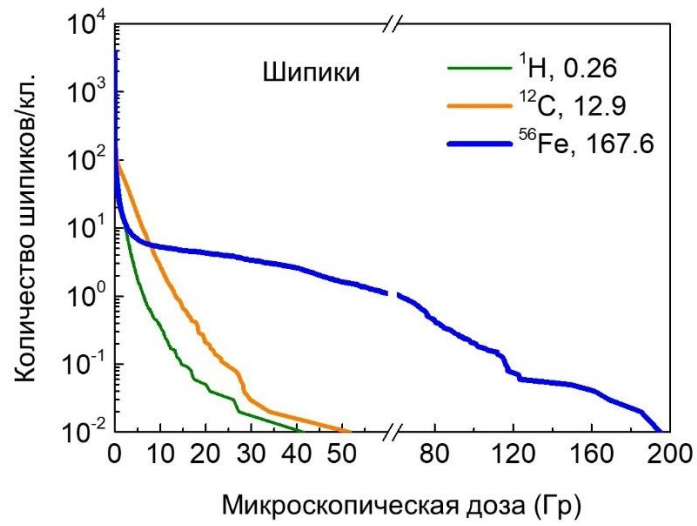


Рисунок 3.8 – Количество дендритных шипиков на клетку в зависимости от локальной микроскопической дозы в шипиках при действии разных заряженных частиц. ЛПЭ представляет на символах выбранных заряженных частиц.

### 3.3 Оценка уровня продуктов радиолита, образующихся в нейронах

#### 3.3.1 Радиационно-химический выход в зависимости от времени

Развитие радиохимического повреждения происходит за счёт повышения уровня реактивных форм кислорода и других продуктов радиолита, возникающих при прохождении через клетку ТЗЧ. Оценка продуктов радиолита воды в нейронах даёт основание полагать, что наблюдаемое повышение уровня активных форм кислорода может являться одной из причин окислительного повреждения ядерной ДНК или синаптических структур, нарушающего нормальную передачу нервного импульса между клетками. В данном случае разработанный метод был расширен для оценки выхода повреждающих химических агентов и разных типов окислителей, образующихся в основных структурах нейронах (в частности, в ядре нейрона и синаптической зоне) на временных масштабах взаимодействия порядка нескольких секунд после облучения. Химические реакции и процессы диффузии основных продуктов радиолита воды ( $e^-_{aq}$ ,  $\cdot OH$ ,  $H_3O^+$ ,  $H\cdot$ ,  $OH^-$ ,  $H_2$ ,  $H_2O_2$ ) смоделированы в детализированной структуре нейрона в целом.

На рисунке 3.9 показаны небольшие участки треков протонов с энергией 30 МэВ и ионов железа с энергией 1000 МэВ/нук с учётом первичных продуктов радиолита и их положения вблизи сегмента дендритов через 1 пикосекунду, 1 наносекунду и 1 микросекунду после облучения. Чтобы показать разницу между редким и плотно ионизирующим излучением, образцы радиохимических профилей изображены только для протонов с наименьшей энергией и для ионов железа с наибольшей энергией. Согласно результатам, плотный след реактивных продуктов легко заметен через  $10^{-12}$  с, наряду с «шубой», состоящей из траекторий вторичных электронов с достаточной энергией, чтобы сформировать свои собственные треки. Тщательный осмотр смоделированных сегментов трека показывает, что процессы радиолита воды могут привести к значительному увеличению вероятности повреждения сегментов нейрона за счёт увеличения эффективного радиуса первичных частиц и  $\delta$ -электронов. Радиохимические профили различных частиц, полученные в один и тот же момент времени, показывают, что возможность роста

повреждений нейронов с ЛПЭ происходит из-за повышенной сложности структуры трека, а не из-за повышенного образования радиохимических продуктов на единицу пути первичной частицы; последний фактор, однако, вероятно, ответственен за серьёзность повреждения сегмента нейрона в каждом отдельном совпадении.

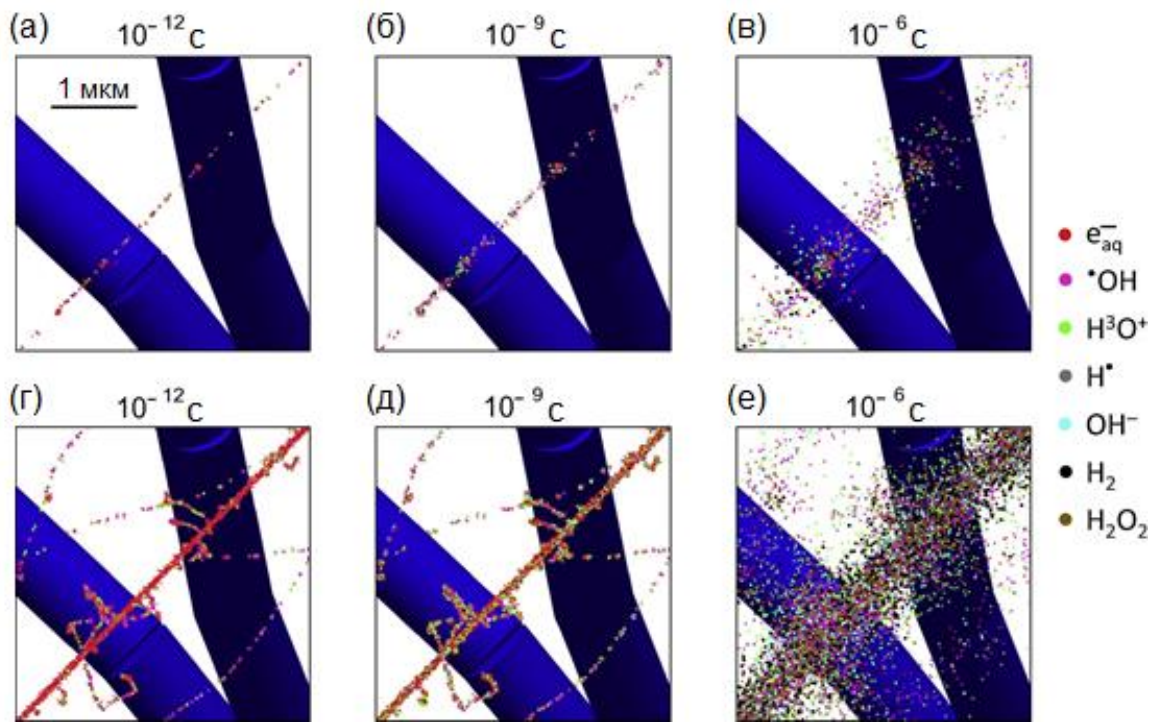


Рисунок 3.9 – Примерная траектория протона с энергией 30 МэВ (а – в) и иона железа с энергией 1000 МэВ/нук (г – е) в дендритных ветвях выбранного пирамидного нейрона, если смотреть через 1 пикосекунду (а, г), 1 наносекунду (б, д) и 1 микросекунду (в, е) после облучения. Каждая точка отмечает местонахождение химически активных продуктов. Различные цвета, связанные с реагентами, приведены в легенда на правой панели.

Временная эволюция радиационно-химических выходов продуктов ( $G$ ), продуцируемых протонами с энергией 30 МэВ и частицами железа с энергией 1000 МэВ/нук в одном нейроне сети, представлена, соответственно, на панелях (а) и (б) рисунка 3.10. Эти графики показывают два образца профили значений  $G$  для частиц наименьшей и наибольшей кинетической энергии среди всех рассмотренных. Профили этого типа были получены и для других излучений, указанных в таблице 11 (данные не показаны). Результаты показывают, что выходы радикалов снижаются, а выходы молекул увеличиваются как функция времени, что указывает



на рекомбинацию радикалов с образованием молекулярных продуктов внутри нейрона. Показано, что для частиц железа с энергией 1000 МэВ/нук кинетика реакции заметно быстрее, чем для протонов с энергией 30 МэВ, в результате увеличения локальных концентраций радиохимических частиц из-за изменённых характеристик структуры треков, таких как плотность продольных событий, которая увеличивается существенно с  $z^2b - 2$ , где  $z$  - эффективный заряд первичной частицы, а  $b = v/c$  - отношение скорости снаряда к скорости света [145]. При облучении протонами 30 МэВ выход радикалов, и в конце химической стадии ( $10^{-6}$  с) был соответственно в 2.4, 2.1 и 1.8 раза ниже, чем в начале ( $10^{-12}$  с).

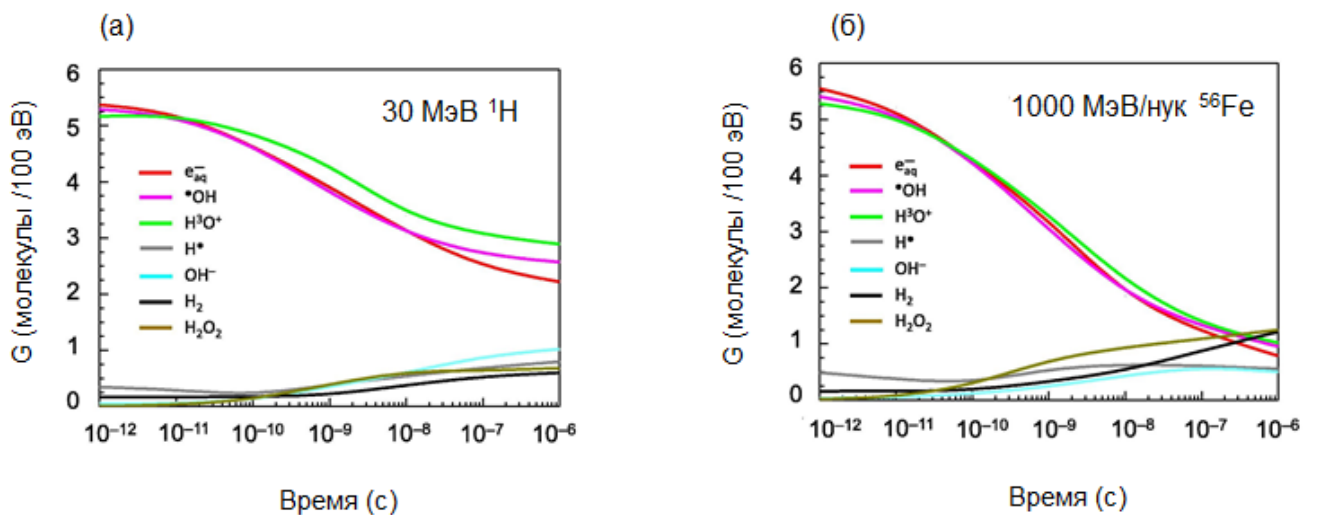


Рисунок 3.10 – Временно-зависимые выходы радиохимических продуктов ( $G$ ) на нейрон, индуцированные 30 МэВ протонами (а) и 1000 МэВ/нук ионами железа (б). Линии разного цвета, связанные с продуктами радиолиза воды, указаны в легенде на каждой панели. В выбранный временной диапазон ( $10^{-12}$ – $10^{-6}$  с) соответствует химической стадии развития трека. Данные получены как среднее количество продуктов радиолиза более 591788 испытаний для протонов и 7457 испытаний для ионов железа, пересекающих объем с разной относительной ориентацией трека частицы и нейрона. Для обеих частиц выбранное количество испытаний соответствует дозе 1 Гр (см. Таблицу 10).

Моделирование экспозиции ионов железа с энергией 1000 МэВ/нук привело к более выраженному снижению выходов этих радикалов в 7.1, 5.7 и 5.2 раза соответственно. Что касается молекулярных выходов, соответствующие различия между уровнями  $H\cdot$ ,  $OH^-$ ,  $H_2$  и  $H_2O_2$ , и в начале и в конце химической стадии

составляли 2.3, 20.1, 3.6 и 185.1 раза для протонов с энергией 30 МэВ и 1.1, 13.7, 7.9 и 94.6 раза для ионов железа с энергией 1000 МэВ/нук. Обобщая полученные результаты, мы хотели бы отметить, что общие тенденции, наблюдаемые при моделировании  $G$  в нейронах, соответствовали другим данным об этой величине для среза чистой жидкой воды без модели нейрона внутри [145; 146], предлагая  $G$  быть основной характеристикой излучения для конкретной среды.

В отличие от значений  $G$ , абсолютный выход продуктов радиолиза зависит от геометрических свойств мишени и сильно варьируется в зависимости от качества излучения. Была рассчитана эволюция во времени накопления и деградации видов радиолиза, рассчитанная для одного нейрона сети, подвергнутого воздействию протонов с энергией 30 МэВ и ионов железа с энергией 1000 МэВ/нук (не показано). В начале химической стадии среднее количество продуктов  $e^-_{aq}$ ,  $\cdot OH$ , и  $H_3O^+$  для ионов железа было соответственно в 56.6, 56.0 и 56.1 раз больше, чем для протонов. Абсолютные выходы продуктов  $H\cdot$ ,  $OH^-$ ,  $H_2$ , и  $H_2O_2$  для протонов и ионов железа различались в 76.1, 39.1, 50.9 и 197.4 раза соответственно. В конце химической стадии наши расчёты выявили 19.4-, 20.4- и 19.3-кратное превышение уровней продуктов  $e^-_{aq}$ ,  $\cdot OH$ ,  $H_3O^+$ , полученных для ионов железа, над уровнями протонов. В то же время абсолютные выходы молекул  $H\cdot$ ,  $OH^-$ ,  $H_2$ , и  $H_2O_2$  были в 30.1-, 26.6-, 110.6- и 100.9 раз выше для частиц с высокой ЛПЭ, чем для частиц с низкой ЛПЭ.

### 3.3.2 Зависимость продуктов радиолиза воды от ЛПЭ

На основе рассчитанной временной эволюции радиохимических выходов при протонов, ионов углерода и железа, было оценено среднее количество продуктов радиолиза воды, накопленных одним нейроном сети в зависимости от ЛПЭ в диапазоне от 0.1 до 1000 кэВ/мкм через 1 пс и 1 мкс после облучения (Рисунок 3.11). Результаты расчётов показывают ярко выраженную зависимость пикосекундной и микросекундной абсолютных выходов продуктов радиолиза в нейронах в зависимости от ЛПЭ, возрастающей с ее увеличением. К 1 мкс трек

частицы становится более однородным по отношению к образованию продуктов радиолита в результате внутритрековой рекомбинации радикальных продуктов ( $e^-_{aq}$ ,  $\cdot OH$  и  $H_3O^+$ ) с образованием молекулярных реагентов ( $H^{\cdot}$ ,  $OH^-$ ,  $H_2$ , и  $H_2O_2$ ).

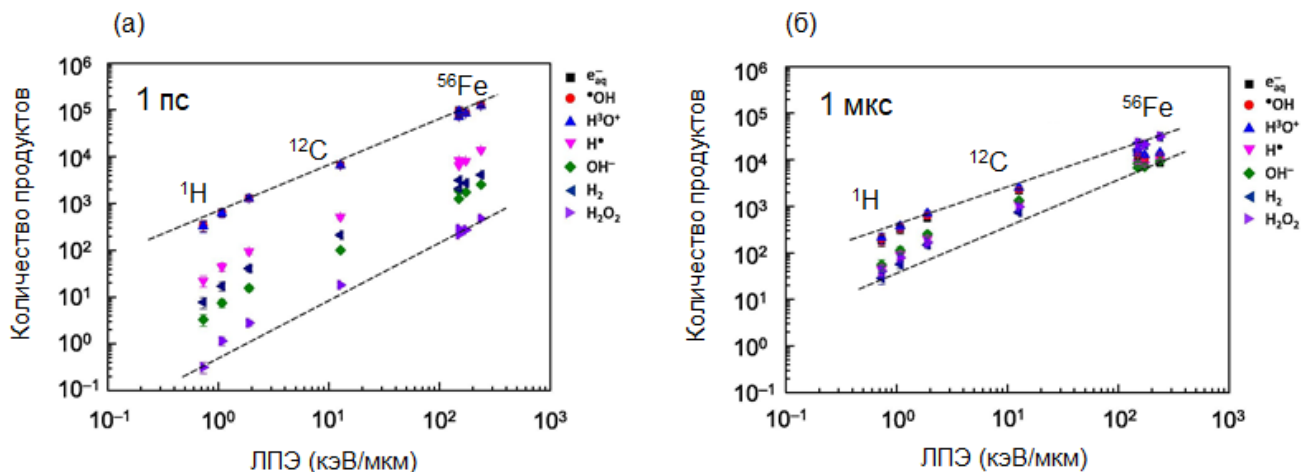


Рисунок 3.11 – Количество продуктов радиолита воды, накопленных одним нейроном сети через 1 пс (а) и 1 мкс (б) в зависимости от ЛПЭ частицы. Связанные символы разных цветов с реагентами указаны в легенде справа на каждой панели. Пунктирные линии, проходящие через минимальное и максимальное значения для излучений с низкой и высокой ЛПЭ, показывает разброс данных.

Радиохимический профиль нейронов, полученный при 1 мкс, следовательно, характеризовался гораздо меньшим разбросом данных, чем при 1 пс. В начале химической стадии группа результатов для радикалов чётко отличалась от молекулярных разновидностей, а абсолютные выходы, и были очень близки друг к другу как для излучения с низкой, так и с высокой ЛПЭ. Большой разброс данных при 1 пс в основном является результатом изменения уровней молекулярных продуктов, выходы которых были от 9.3 до 4040.1 раз меньше, чем выходы радикалов. В отличие от этого, окончание химической стадии было связано с гораздо более низкой вариабельностью уровней молекулярных частиц, демонстрируя небольшую разницу между количествами радикальных и молекулярных реагентов. При 1 мкс группа данных, указывающих на радикальные продукты, была слабо различима только для частиц с низкой ЛПЭ, тогда как в

случае излучений с высокой ЛПЭ наборы данных всех видов перекрывали друг друга.

Результаты расчётов, выполненных с различными мишенями, включая фантомы клеток более простой морфологии (лимфоциты и кератиноциты человека и т. д.), заполненный водой ящик такого же размера без модели нейрона внутри и кубический ящик объёмом одиночный нейрон, показал, что морфология нейрона является важным фактором, определяющим количество поглощённых видов радиолиза. Абсолютные выходы продуктов радиолиза, накопленных одним нейроном, полностью отличались от тех, которые были получены при облучении простой кубической мишени того же объёма или полного заполненного водой бокса размером  $640 \times 280 \times 25$  мкм без каких-либо мишеней внутри. В первом случае уровень продуктов радиолиза, поглощённых в нейроне, был выше, чем в мишени простой формы того же объёма, а во втором случае количество реагентов в полноразмерном имитирующем боксе было ниже, чем в модель нейрона. Это доказывает, что получение реальных радиолитических профилей для нейронов требует учёта морфологии клеток и что твёрдые фантомы того же размера, приблизительно приближенные к сложной морфологии клеток, не могут быть использованы в микродозиметрических расчётах для нейронов.

При общего доза нейрона 1 Гр, было оценено приблизительно в  $3.2 \times 10^6$  электронов и  $7.2 \times 10^6$  продуктов радиолиза на нейрон в целом, и также  $1.1 \times 10^5$  электронов и  $2.4 \times 10^5$  продуктов радиолиза на ядро нейрона на конце физико-химической стадии ( $\sim 10^{-12}$  с) после облучения. Оценка среднего соотношение электронов в структурах (сома, дендриты и шипики) составляет  $\sim (80:17:3)\%$  при единичной частицы и  $\sim (18:77:5)\%$  при 1 Гр доза нейрона, соответственно. В обоих случаях, сома получается больше физических и химических событий, чем дендритные шипики. Следовательно, вклад прямого события электронов и косвенного события радиолиза воды составляет  $\sim 29\%$  и  $71\%$  в нейрональной соме, содержащее ядерную ДНК при 1 Гр доза нейрона.

### 3.3.3 Оценка накопления свободных радикалов в синапсе

В результате единичной частицы железа с энергией 600 МэВ/нук, пересекающей сома, дендриты и шипики нейрона, общее количество радиохимических продуктов в этих структурах характеризовались значениями  $\sim 1.3 \times 10^5$ ,  $2.6 \times 10^4$  и  $3.1 \times 10^3$  в начале химической стадии. При этом особое внимание уделялось анализу процессов радиолиза воды, образующихся в синаптических элементах на поверхности дендритов. Путём применения данных расчётов к молекулярными структурными нейронов, представленных NMDA-рецепторами, нами установлено, что среднее количество электронов составляет  $8.2 \pm 1.9$ , соответственно. Было оценено в среднем  $34.6 \pm 8.9$  гидроксильных радикалов вблизи молекул рецептора NMDA при прохождении иона железа через зону синаптического контакта. При этом количество гидроксильных радикалов примерно 4 раз больше, чем количества электронов в молекуле рецептора NMDA. Путем моделирования физико-химических процессов при прохождении частиц через модели разных типов синаптических рецепторов и мембранных ионных каналов оценивалось распределение частот энерговыделений (количество ионизаций), приводящих к прямым повреждениям, и количества свободных радикалов, приводящих к непрямым повреждениям. Согласно результатам моделирования наиболее вероятным мишенями для радиационного повреждения на уровне отдельных нейронов гиппокампа являются синаптические рецепторы типа NMDA, а не ионные каналы на мембране нейронов.

Полученные результаты количественной информации физико-химических параметров будут применены при дальнейших расчётах повреждений молекулярных структур, возникающих при прохождении ТЗЧ через критические структуры нейрона именно генетические структуры. Такой подход делает возможным анализ тонкой структуры кластерных повреждений, а также разделить механизмы их формирования на прямые и не прямые.

### 3.4 Сравнение различных моделей нейронов гиппокампа

Для преодоления вычислительных трудностей при моделировании радиационно-индуцированных эффектов в больших нейронных сетях гиппокампа необходимо использовать упрощенные модели нейронов вместо сложного (детализированного). Рассчитано среднее количество прохождения треков частиц через различные модели пирамидальных и гранулярный нейрон. Было обнаружено, что количество пересечений трека частицы сильно различается для реалистичного и упрощенного модели нейронов. В случае реалистичной модели нейрона многочисленные дендритные ветви с тонкой структурой получают большое количество ударов с меньшее количество энергии. Напротив, в случае упрощенная модель нейрона небольшое количество дендритных ветвей с большие тома получают небольшое количество обращений с большим количеством энерговыделений. Таким образом, общий вклад энергии был получен до быть похожими в соме, дендритах и шипах как реалистичной (детализированной), так и упрощенной геометрии (Рисунок 3.12).

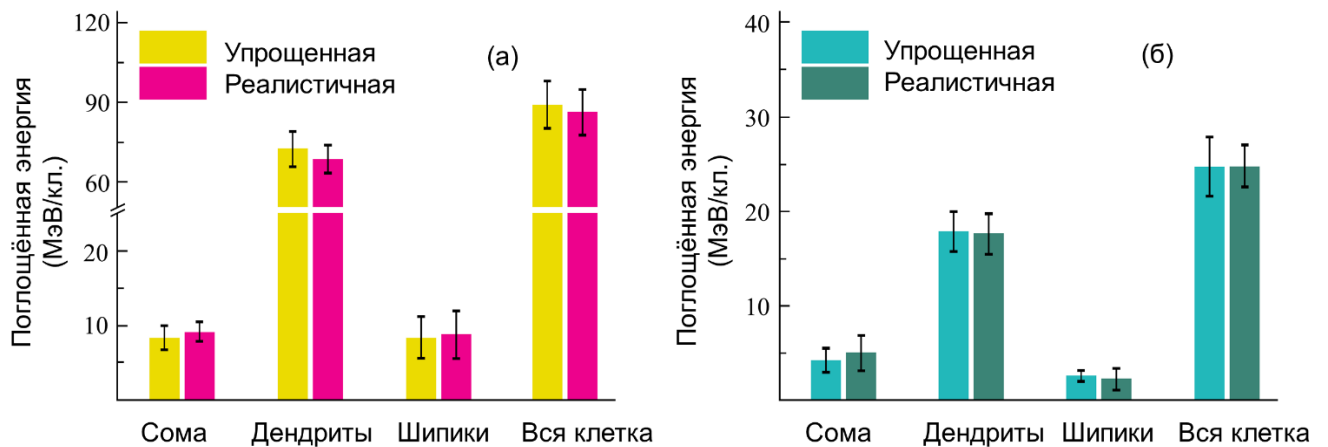


Рисунок 3.12 – Общая поглощённая энергия в реалистичной и упрощённой моделях пирамидной (а) и гранулярной клеток (б) при действии ионов железа с энергией 600 МэВ/нук и флюенсом частиц  $3.2 \times 10^5 \text{ см}^{-2}$ .

Плоскости погрешностей отражают разницу в усреднение энерговыделения по 10 различным морфологиям реалистичных и упрощенные модели нейронов. Сравнение облучаемых объемов показывает аналогичные результаты как для реалистичной, так и для упрощенной дендритной модели нейроны гиппокампа

после облучения с разной плотностью энергии (Таблица 12). Разница между реалистичным и упрощенным нейроном модели были довольно маленькими с точки зрения суммарных энерговыделений. Также, показано что продуктов радиолиза воды после облучения протонами с энергией 170 МэВ, ионами углерода и железа с энергией 300 МэВ/нук и 600 МэВ/нук одинаково как в упрощённых и так в реалистичных моделях гранулярных и пирамидальных нейронов гиппокампа (Рисунок 3.13). В ходе исследования каждая из нейронных моделей были смоделированы генерация и распространение спайков в дендритах. Полученные расчеты позволяют предположить, что оба типа моделей имеют схожие ампер-частотные характеристики (Рисунок А.2 в Приложении А.). Кроме того, мы также протестировали динамику соответствующих нейронных сетей в областей CA1 и DG гиппокампа (не показаны). Такая упрощённая модель нейронов позволяет не только построить полномасштабных модели гиппокампа для дозиметрического анализа и также критически важно для изучения изменения активности нейронных сетей гиппокампа при повреждении структур нейронов.

Таблица 12 – Процент облучаемого объёма сомы, дендритов и шипиков при действии 600 МэВ/нук ионов железа с флюенсами  $3.2 \cdot 10^5$  частиц/см<sup>2</sup> и  $6.7 \cdot 10^6$  частиц/см<sup>2</sup>. Соответствующие дозы для гиппокампа будут 0.1 Гр и 2 Гр, соответственно.

Флюенс частицы	$3.2 \cdot 10^5$ частиц/см <sup>2</sup>		$6.7 \cdot 10^6$ частиц/см <sup>2</sup>	
	Реалистичная	Упрощенная	Реалистичная	Упрощенная
CA1 пирамидальная клетка				
Сома	$33.3 \pm 6.7$	$35.5 \pm 6.2$	$96.8 \pm 3.2$	$96.5 \pm 3.5$
Дендриты	$96.8 \pm 3.2$	$100 \pm 0.0$	$99.8 \pm 0.2$	$100 \pm 0.0$
Шипики	$23.6 \pm 4.0$	$39.4 \pm 4.8$	$96.4 \pm 3.6$	$99.2 \pm 0.8$
ЗФ гранулярная клетка				
Сома	$29.6 \pm 5.1$	$31.3 \pm 5.4$	$85.7 \pm 4.7$	$81.5 \pm 5.8$
Дендриты	$98.4 \pm 1.6$	$100 \pm 0.0$	$100 \pm 0.0$	$100 \pm 0.0$
Шипики	$25.2 \pm 5.1$	$40.2 \pm 6.3$	$97.7 \pm 2.3$	$98.4 \pm 1.6$

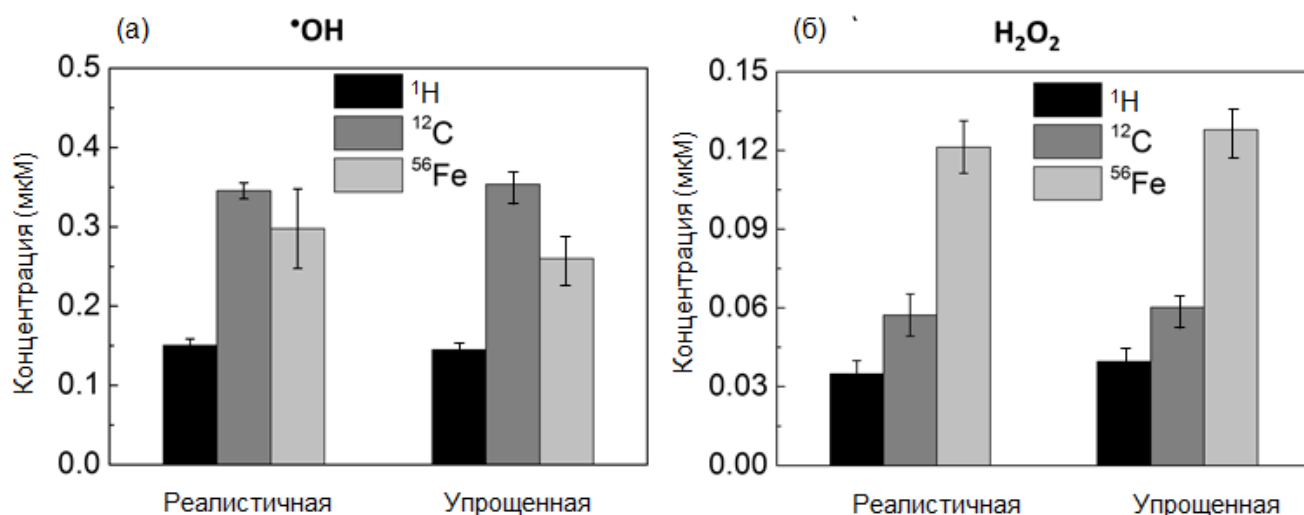


Рисунок 3.13 – Общая концентрация гидроксильных радикалов ( $\text{OH}\cdot$ ) и пероксидов водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) в объёме реалистичных и упрощённых моделей гранулярной (а) и пирамидной клеток (б) через 1 наносекунд после прохождения 170 МэВ протонов, 290 МэВ/нук ионов углерода и 600 МэВ/нук ионов железа с одинаковой дозой 0.1 Гр.

Наконец, мы оценили вычислительные ресурсы, необходимые для симуляции, включающие простые или реалистичные модели нейронов. Моделирование треков Монте-Карло в среде Geant4-DNA могут занимать много оперативной памяти для целей размером в сотни и тысячи клеток и ТЗЧ, вызывающие большое количество физических и химических событий. Общий объем памяти, используемой для моделирования с различными моделями нейронов гиппокампа на уровне отдельных клеток и популяций, представлен на рисунке 3.14. Объем используемой памяти увеличивается с количеством нейронов как для реалистичной, так и для упрощённой геометрии. Однако реалистичная геометрия приводит к увеличению потребления памяти в несколько раз. Для нескольких нейронов (1–10) память моделирования кажется почти эквивалентной для обеих геометрий. Но затем соотношение между размерами памяти, используемой для реалистичной и простой геометрии нейронов, быстро увеличивается с 1.5 до 5 для пирамидных клеток и с 1.2 до 5 для гранулярных клеток для данного диапазона от 1 до 2000 нейронов.



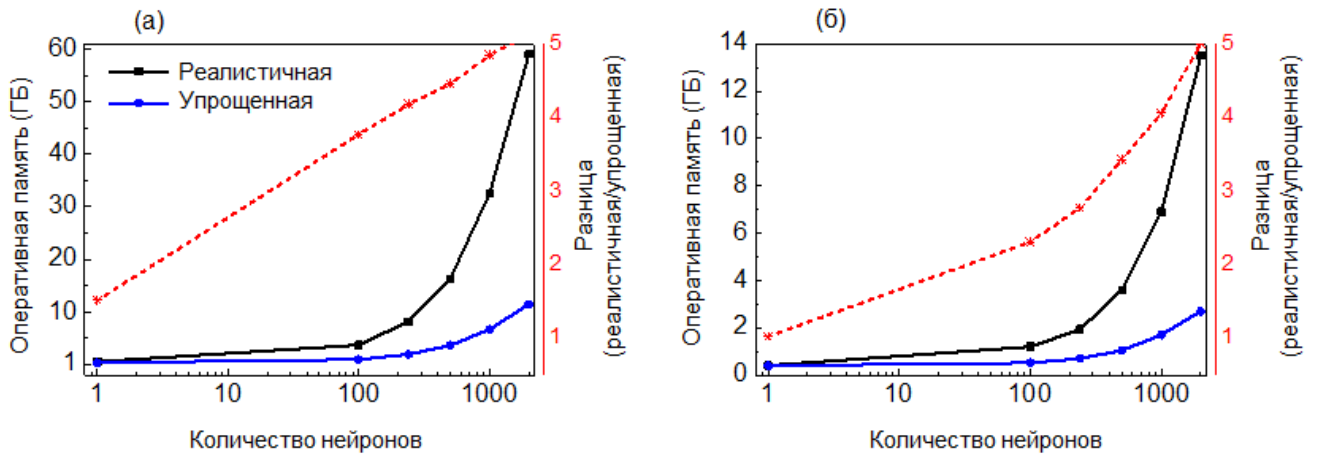


Рисунок 3.14 – Общий объем оперативной памяти, использованной для моделирования треков Монте-Карло при облучении 600 МэВ/нук ионов железа с флюенсом  $3.2 \cdot 10^5$  частиц/см<sup>2</sup> в нейронных сетях, составленных из реалистичных и упрощённых моделей пирамидальной (а) и гранулярной клетки (б). Красные кривые показывают соотношение между использованием памяти для реалистичных и упрощённых моделей.

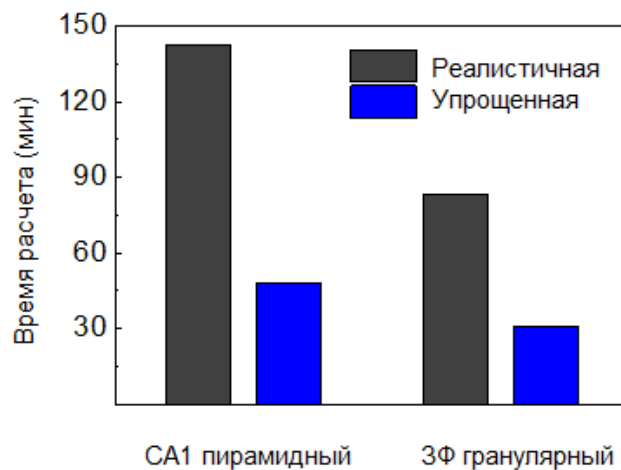


Рисунок 3.15 – Время расчёта, использованное для моделирования энерговыделения после облучения нейронной сети, состоящей из реалистичных или упрощённых моделей пирамидальных и гранулярных клеток, облучённых ионами железа с энергией 600 МэВ/нуклон и флюенсом  $3.2 \cdot 10^5$  частиц/см<sup>2</sup>. Нейронные сети CA1 и 3Ф содержали по 100 нейронов.

Результаты использования процессорного времени для однопоточных вычислений представлены на рисунке 3.15. Очевидно, Geant4 достигает значительного ускорения в вычисление с реализацией упрощённых моделей нейронов. Наиболее заметное сокращение времени (в 3 раза) было получено для сетей DG и CA1 гиппокампа. В случае нервных стволовых клеток незрелые

нейроны и мшистые клетки мы не сравнивали морфологию и различия в расчётах, потому что у них очень простые дендритные деревья, а также их популяция в гиппокампе намного меньше, чем гранулярные клетки и пирамидные нейроны.

### 3.5 Обсуждение полученных результатов

В настоящей главе метод моделирования Монте-Карло используется для изучения уникальных закономерностей энерговыделения в одной нервной клетке при воздействии тяжёлых заряженных частиц. Для анализа отбираются ионные пучки с характеристиками, сопоставимыми со спектрами ГКЛ. Точнее, параметры частиц подобраны как в реальных наземных экспериментах на животных по изучению радиационного поражения ЦНС. В связи с этим наши расчёты могут помочь установить связь между лучевым поражением на уровне отдельного нейрона и некоторыми когнитивными нарушениями.

Выбор нейронов гиппокампа мотивирован увеличением количества экспериментальных данных, подтверждающих ключевую роль структуры мозга в когнитивных нарушениях, вызванных радиацией. У грызунов гиппокамп в основном отвечает за кратковременную и долговременную память, пространственную память и навигацию. Эти функции ЦНС изменяются после воздействия ТЗЧ [49]. Пирамидальные нейроны и гранулярные клетки являются принципиальными клетками гиппокампа и имеют сложный пространственный состав. Дендритное дерево накапливает большую часть поглощённой дозы (80%) по сравнению с сомой. Таким образом, модели распределения энергии и дозы в этих нейронах полностью отличаются от таковых в других клетках, которые не обладают такой сложной структурой. Очень высокая локальная доза в дендритах может привести к непоправимому клеточному повреждению, обрезанию ветвей и шипов дендритов на уровне популяций клеток.

Зависимые от гиппокампа когнитивные нарушения наблюдаются при относительно низких дозах тяжелых заряженных частиц (40 сГр - 2 Гр) [60]. Эти данные предполагают, что наблюдаемые нарушения функции ЦНС могут быть результатом изменений нейротрансмиссии и синаптической пластичности [53; 56]. Действительно, некоторые эксперименты с грызунами показали, что ТЗЧ могут изменять долгосрочную потенциацию в синапсах нейронов гиппокампа [58]. В связи с этим полученные в нашем исследовании закономерности распределения

энергии и дозы также могут указывать на возможность радиационного повреждения синапсов. Большое количество энергии в малых объёмах, скорее всего, позволяет тяжёлыми заряженными частицами вызывать нарушения в синаптической активной зоне. Хотя точный механизм воздействия излучения на синапсы неизвестен, можно предположить, что синаптическая передача может быть нарушена из-за избыточного производства свободных радикалов, а также прямого взаимодействия заряженных частиц с некоторыми чувствительными структурами в синаптической зоне. Дальнейшее развитие нашей техники моделирования позволит оценить выход радиохимических продуктов в нейронных сетях.

В настоящей работе мы оценили микродозиметрические величины, которые описывают результаты процессов, посредством которых энергия частиц преобразуется и, наконец, депонируется в веществе. Для анализа мы выбрали переданную энергию и определенную энергию. Поскольку расчёты выполняются для относительно тонких структур, таких как сегменты дендритных деревьев, эти количества оцениваются с точки зрения их распределения. В случае таких небольших мишеней стохастические вариации количества будут важны для всестороннего понимания закономерностей энерговыделения в пределах индивидуального нейрона.

Согласно нашим расчётам, распределение переданной энергии зависит от количества частиц, проходящих через нейрон, а также от типа ионов и их кинетической энергии. Первый из этих двух факторов определяется в основном флюенсом частиц, дозой облучения и морфологией клеток. Между тем, микродозиметрическое распределение энергии, сообщаемой клетке, определяет ОБЭ частиц. По этой причине вычисление этой стохастической величины для нервных клеток может иметь важное значение для выявления влияния сложной пространственной структуры нейрона на значение ОБЭ.

Перечисленные факторы влияют и на удельные энергетические спектры. Знание конкретного распределения энергии, соответствующего определенной поглощённой дозе, может быть важным, поскольку в облучаемом элементе массы эффекты излучения могут быть более тесно связаны с микроскопической дозой ( $z$ ), чем с поглощённой дозой ( $D$ ). Значения  $z$  могут сильно отличаться от  $D$  для небольших значения массы, например, при рассмотрении определенных компонентов нервной клетки [91; 92].

Данные микродозиметрические расчёты подтверждены данными других авторов, которые оценили линейные энергетические спектры для ТЗЧ в небольшой сфере, заполненной жидкой водой (не показано). Сходство рассчитанных кривых с результатами [102] доказывает правильность нашего моделирования.

Настоящее исследование доказано, что морфология нейронов является важным фактором, определяющим их способность накапливать энергетические выделения и продукты радиолиза воды. При воздействии тяжёлых ионов с высокой ЛПЭ обнаружено большая вероятность прохождения, чем при действии протонов с низкой ЛПЭ, что дальнейшее уменьшается с увеличением ЛПЭ. Такая закономерность вероятности прохождения частиц демонстрирует своего рода “чрезмерное воздействие” на структуру нейрона, подобное хорошо известному эффекту «чрезмерного уничтожения», наблюдаемому в живых клетках после воздействия излучения с высокими значениями ЛПЭ [147]. Однако, данные других экспериментальных исследований также показано, что протоны (0.1–1 Гр) и тяжёлые ионы в низких дозах (0.05–0.3 Гр) вызывают значительное дозозависимое уменьшение общей площади дендритов и количества дендритных шипов нейронных сетей гиппокампа крыс и мыши через несколько недель после воздействия [54; 55]. Поскольку дендриты состоят из расположенных рецепторных мембран, участвующих в передаче сигнала, взаимодействие радиации с липидным бислоем также может способствовать повреждению нервных клеток [148-150]. При этом свободные радикалы могут потенциально прерывать регуляцию синаптической пластичности посредством окисления основных

макромолекул, таких как рецепторы, цитоскелетные белки, ферменты и т. д. [151]. Экспериментальные данные свидетельствуют о влиянии ТЗЧ на метаболизм, которые играют драматическую роль в нормальной деятельности мозга [152; 153]. Это также может быть следствием увеличенного выхода продуктов радиолиза. Известно, что продукты радиолиза участвуют в нейродегенеративных процессах, по крайней мере, для дофаминергических нейронов nigro-стриарной системы при болезни Паркинсона [154]. Окисление норадреналина и серотонина — двух других нейротрансмиттеров, важных для нормальной коммуникации нейронов, — также может рассматриваться как критический патогенетический механизм, лежащий в основе дегенерации норадренергических и серотонинергических клеточных тел [155; 156].

В рамках микродозиметрической концепции, недавние исследования [138; 139] по оценке дозовых распределений в дендритных структурах нейронов также показали качественно аналогичные результаты с нашими расчетами. Настоящее исследование является первым исследованием радиолиза воды, вызванного различными излучениями в отдельных нейронах и небольших нейронных сетях. Чтобы найти способ преодолеть вычислительные трудности в радиобиологических исследованиях больших популяций нейронов мозга, мы разработали упрощённые модели нейронов с наименьшим количеством сегментов, но функциональные свойства, эквивалентные реалистичным морфологиям нейронов. Геометрическая структура и электрические свойства упрощённых и сложных моделей нейронов с реалистичной морфологией были основаны на экспериментальных данных. Согласно результатам моделирования, различия между реалистичной и упрощённой моделью нейрона оказались довольно маленькими с точки зрения суммарного энерговыделения в соме, дендритном дереве и шипиках. Нейроны гиппокампа, организованные в различные нейронные сети, играют важную роль в обучении, консолидации памяти, а также в интеграции информации, полученной одновременно от источников. Удобный метод для вычислительного исследования механизмов генерации и распространения электрических сигналов в нервных

клетках — это упрощённая модель нейрона на уровне нейронных сетей. Модели нейронов гиппокампа воспроизводящие морфологически реалистичную клеточную структуру позволяют моделировать многие аспекты воздействия. Потенциальное распространение зависит от степени ветвления дендритов [118; 119]. Из-за высокой вычислительной требования, особенно при моделировании крупномасштабных нейронных сетей гиппокампа, моделей с полной морфологией часто заменяются моделями с несколькими отделениями, представляющими упрощённую структуру дендритных дерево [120]. При моделировании отдельных нейронов различия во времени вычислений и потреблении памяти были не столь очевидны, но их состав в нейронной сети, содержащей несколько сотен клеток, обеспечивает ускорение вычислений до десяти раз. В результате мы добились значительного сокращения времени вычислений и потребления памяти с помощью упрощённых моделей нейронов.

Данные результаты являются фундаментальной базой для оценки дальнейших последствий действия излучения, таких как клеточная гибель, нарушение нейрогенеза, формирование генных и структурных мутаций, развитие оксидативного стресса, нейровоспалительных процессов и т.д., которые в совокупности оказывают влияние на осуществление когнитивных функций структурами ЦНС.

### 3.6 Выводы к Главе 3

В данной главе представлены результаты моделирования физических и химических процессов при действии излучений на нервные клетки разных типов при помощи разработанной компьютерной модели на основе принципов метода Монте-Карло. В ходе исследования выполнена серия работ по оценке вероятности попадания, характера энерговыделения и продуктов радиолиза при прохождении тяжёлых заряженных частиц через детальные модели нейронов, в том числе критические структуры, такие как ДНК и синаптические рецепторы. В рамках вычислительного эксперимента показано, что вероятность попадания увеличивается с увеличением дозы облучения, но сильнее зависит от типа частиц и их энергии. При этом дендритные элементы имеют меньшую вероятность попадания, чем сома (тело клеток). По результатам расчётов установлено, что локальные плотности поглощённой дозы в объёмных структурах нейрона различны для разных типов заряженных частиц при облучении пирамидального нейрона в дозе 1 Гр. В этом случае, что большая часть поглощенной дозы приходится на дендриты – 80%, а около 10% на тело клетки. По оценкам, единичной частицы железа с энергией 600 МэВ/нук, пересекающей гранулярный нейрон, средние энерговыделения характеризовались значениями  $1130.5 \pm 434.2$  кэВ в соме,  $254.3 \pm 142.7$  кэВ в дендритах,  $39.9 \pm 22.6$  кэВ в шипиках, и также  $5.1 \pm 1.7$  и  $0.5 \pm 0.2$  кэВ в ядерной ДНК и синаптических рецепторах NMDA. Такие значения большого энерговыделения не наблюдаются при прохождении высокоэнергетических протонов (100 МэВ) и ионов углерода (290 МэВ/нук) через нейрон. Доказано, что морфология каждого типа нейронов является важным фактором, определяющим особенности количественной информации о радиационных физико-химических процессах в нейронах. Было оценено приблизительно в  $3.2 \times 10^6$  электронов и  $7.2 \times 10^6$  продуктов радиолиза на нейрон в целом на физико-химической стадии после облучения в дозе 1 Гр. Выявлено, что большее количество физико-химических событий наблюдается в ядерной ДНК, и относительно мало - в синаптических рецепторах.



Путем моделирования установлено, что упрощённые модели нейронов гиппокампа по дозиметрическим и электрофизиологическим характеристикам эквивалентны нейронам с реальной морфологией, и достигли значительного сокращения времени вычислений (от 2 до 6 раз меньше).

В данной работе в качестве первичных частиц выбраны протоны, ионы углерода и железа в широком диапазоне энергий как характерные компоненты спектра ГКЛ. Кроме того, протоны и ионы углерода применяются в лучевой терапии. В ходе исследования полученные результаты количественной информации о физико-химических процессах в сложных структурах нейронов недоступны непосредственно для радиобиологических экспериментов, однако крайне важны для прогнозирования радиационных нарушений структур ЦНС.

## **Глава 4. Закономерности формирования повреждений ДНК и летального действия излучений на клетки гиппокампа**

В главе рассмотрены закономерности формирования молекулярных повреждений различной природы в чувствительных структурах нейронов при действии тяжёлых заряженных частиц с разными физическими характеристиками (включая область пика Брэгга). Особую значимость представляет изучение повреждений ДНК различного типа: повреждений оснований, односторонних разрывов и двусторонних разрывов. Также сформулирована модель радиационно-индуцированной гибели радиочувствительных клеток гиппокампа головного мозга крыс на основе полученных данных о повреждениях ДНК.

### **4.1 Формирование молекулярных повреждений в нейронах**

#### **4.1.1 Относительный вклад прямых и косвенных повреждений ДНК**

Результаты расчётов, относительные вклады прямых и непрямых (косвенных) повреждений ДНК с учётом процессов энерговыделения и радиолиза воды после радиационного поражения приведены на рисунке 4.1. Полученные результаты показывают, что более 80% повреждений оснований (ПО) и более 60% односторонних разрывов (ОР) ДНК вызваны непрямым действием свободных радикалов в широком диапазоне ЛПЭ частиц. При этом вклад прямых повреждений ДНК увеличивается с увеличением ЛПЭ после радиационного поражения в дозе 1 Гр в ядрах нейронов. При внутриклеточных условиях с ростом ЛПЭ в пределах от 0.2 до 4000 кэВ/мкм вклад прямого действия составляет ~ 31–68% при индукции ОР ДНК и ~ 6.5–20% для ПО ДНК. В этом случае возрастает локальная кластеризация энерговыделения ионизирующего излучения с высокой ЛПЭ. При этом, особенно с низкой и средней ЛПЭ различных излучений, является существенный вклад механизма косвенного действия свободных радикалов, которые возникают в процессе радиолиза молекул воды и приводят к повреждению

молекулы ДНК. Доля косвенных повреждений ДНК уменьшается при увеличении ЛПЭ, что согласуется с известными экспериментальными данными [132].

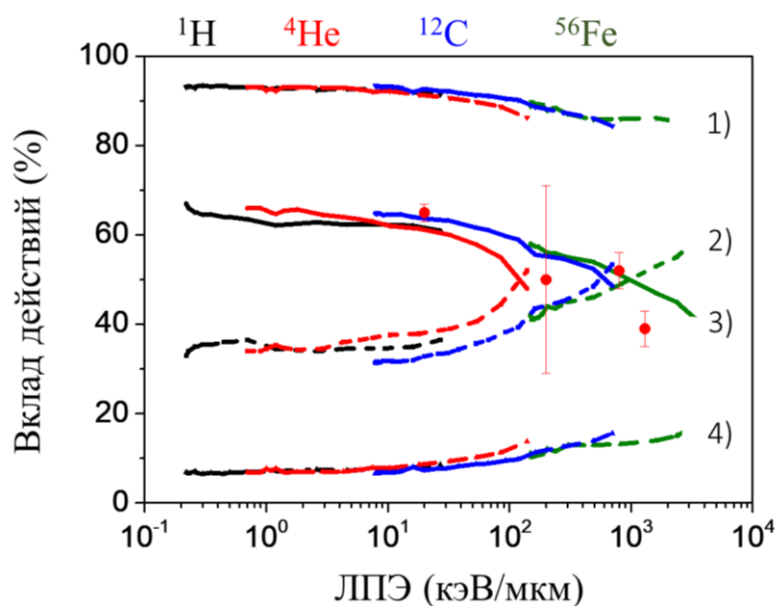


Рисунок 4.1 – Относительный вклад прямых (4-ПО, 2-ОР) и косвенных (1-ПО, 3-ОР) повреждений ДНК различной природы в ядрах нейронов в зависимости от ЛПЭ частиц в сравнении с экспериментальными данными (точки) из работы [132].

#### 4.1.2 Прогнозирование повреждений ДНК разного типа

На данном уровне сложности полученные данные дали возможность более детально рассчитать распределение первичных повреждений ДНК в клеточном ядре, таких как ОР и ДР, и кластерные формы повреждений, включающих ПО. Анализ распределения и классификации установившихся первичных молекулярных повреждений и их количественного и качественного состава в зависимости от ЛПЭ приведены на рисунке 4.2. Выход индукции ПО и ОР ДНК уменьшаются при увеличении ЛПЭ. Выход кластерных ОР (кОР) ДНК максимален при небольших значениях ЛПЭ  $\sim 26$  кэВ/мкм (протон),  $\sim 34$  кэВ/мкм (ион гелия),  $\sim 53$  кэВ/мкм (ион углерода) и  $\sim 149$  кэВ/мкм (ион железа). Максимальный выход ДР ДНК на единицу поглощённой дозы излучения наблюдается при больших значениях ЛПЭ в пределах 100-200 кэВ/мкм, а максимальный выход кДР ДНК

реализуется в области ЛПЭ 300-400 кэВ/мкм, соответственно. При ЛПЭ свыше ~ 10 и 100 кэВ/мкм наблюдается по меньшей мере один или несколько ДР ДНК и кДР ДНК, индуцированных одной трекой разных заряженных частиц. Такие кластерные ДР длительное время остаются не репарированными или неправильно репарированными после радиационного воздействия с высокой ЛПЭ. После прохождения одного трека частицы железа через ядра нейронов, среднее количество кластерных ДР ДНК составляет 5.2 – 17.4 в пределах ЛПЭ 200–800 кэВ/мкм, соответственно. Полученные оценки недавно подтверждено в первом радиобиологическом эксперименте с фокусами  $\gamma$ H2AX/53BP1 ДНК в ядрах DG-клеток гиппокампа крыс, индуцированных одной трекой иона криптона (~250 кэВ/мкм) [133], в котором получены качественно аналогичные результаты с нашими расчётами.

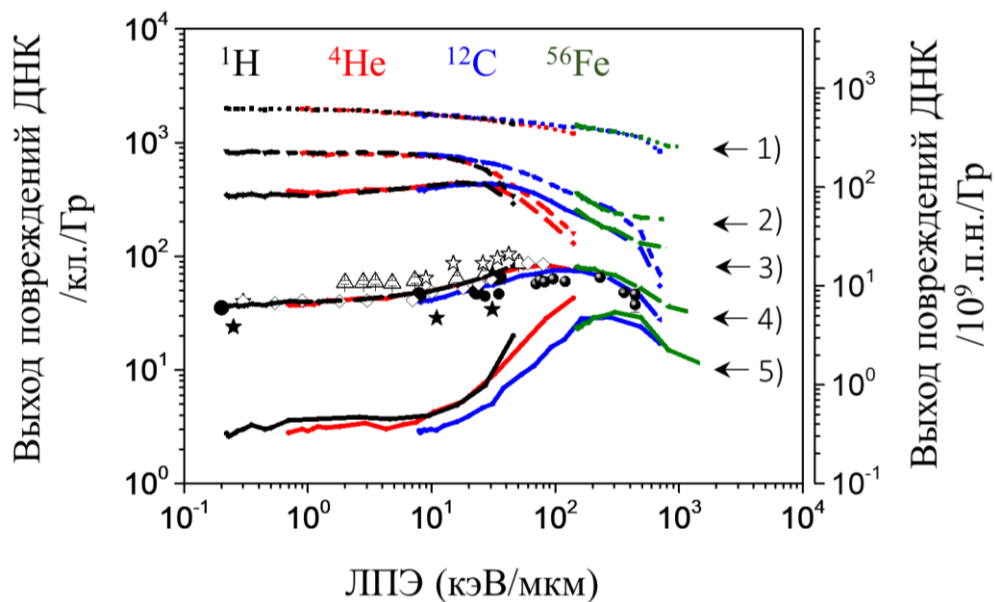


Рисунок 4.2 – Выход первичных повреждений ДНК разного типа в ядрах нервных клеток гиппокампа крыс в зависимости от ЛПЭ различных частиц. Основные типы повреждений ДНК, такие как ПО (1), ОР (2), кластерный ОР (3), ДР (4) и кластерный ДР (5) нормированы на единицу поглощенной дозы. Крупные точки представляют экспериментальные данные ДР ДНК на пару нуклеотидов ДНК из литературы [78-80].

### 4.1.3 Эффективность кластеризации повреждений ДНК

Путём моделирования индукции повреждений ДНК с учётом прямого и косвенного действия была исследована эффективность формирования и кластеризации повреждений различной природы при действии высокоэнергетических частиц с низкой и высокой ЛПЭ. Эффективность индукции основных типов повреждений ДНК в ядре клетки была рассчитана с учётом классификации разрывов на простые (индивидуальные), сложные (одно- или двунитевые разрывы ДНК, включающих повреждения оснований) и кластерные (более 2-х одно- или двунитевых разрывов ДНК, включающих повреждения оснований). Наблюдается, что при низких значениях ЛПЭ (~0.42 кэВ/мкм) более 90% общей энергосвободы в структуре ДНК, обусловлено событиями энергосвободы менее 100 эВ и большая часть повреждений ДНК находится в составе повреждения оснований (ПО ~75%) и однонитевых разрывов ДНК (ОР ~64%). Установлено, что при высоких значениях ЛПЭ (~168 кэВ/мкм) более 80% общей энергосвободы в структуре ДНК приводит к сложным повреждениям ДНК (68 – 96%), и энергосвободы, связанные с сложноорганизованной повреждением ДНК (30 – 85%), больше 200 эВ. Среднее энергосвободы для сложных ДР ДНК составляет около 106 эВ и 283 эВ при низких и высоких ЛПЭ. Выявлено, что *микро*-ОБЭ по критерию индукции ДР ДНК, образующихся при действии ТЗЧ в более 2 раз выше (зависит от сложности кластеров ДР), чем при облучении высокоэнергетических протонов, соответственно. При действии ионов железа более 80% ДР ДНК находится в составе кластеров, состоящие из более 20 ОР и более 40 повреждения оснований.

### 4.1.4 Выход премутационных повреждений ДНК в отдельных генах

После проведения классификации установившихся начальных молекулярных повреждений и их количественного и качественного состава была рассчитана выхода премутационных повреждений ДНК в генах GRIN1 и GRIN2b гиппокампа крыс при облучении треком ионов железа. Потому что, при облучении

тяжёлыми частицами повреждения генетических структур и, прежде всего, кластерные нарушения в критических генах нервных клетках могут обуславливать структурных мутации ионного канала рецепторов, что может измениться на функциональные свойства синаптических передачи нервной системы [134; 135]. Полученные результаты (Таблица 10) показывают, что количество энерговыделения и ПО ДНК более эффективно индуцируются в гене GRIN2b по сравнению с геном GRIN1 после облучения в 9 и 16 раз, соответственно. Очевидно, что выход кластерных ДР ДНК, включающих ПО в гене GRIN2b наблюдается как  $1.4 \times 10^{-3}$  на единицу поглощённой дозы излучения, а в гене GRIN1 кластерных ДР ДНК не наблюдается. В этом случае повреждение содержимого G-C наблюдается как  $60.8 \pm 3.9\%$  и  $51.2 \pm 3.1\%$  для GRIN1 и GRIN2b после облучения. После прохождения единичной трека частицы железа через критические молекулярные структуры нейрона, распределение частота энерговыделения в гене GRIN2b наблюдалась в широком, чем NMDA-рецепторы (см. Главу 3).

Таблица 10 – Выход премутационных повреждений ДНК в генах GRIN1 и GRIN2b клетки гиппокампа крыс при облучении ионов железа с энергией 600 МэВ/нук и дозой 1 Гр.

Параметр	GRIN1 (26920 п.н)	GRIN2b (458343 п.н)
Энерговыделения, кэВ	$3.3 \times 10^{-4}$	$0.003 \pm 0.001$
ПО	$0.012 \pm 0.002$	$0.2 \pm 0.05$
Пурины	$5.4 \times 10^{-3} \pm 0.9 \times 10^{-3}$	$0.065 \pm 0.007$
Пиримидины	$6.0 \times 10^{-3} \pm 0.8 \times 10^{-3}$	$0.09 \pm 0.01$
ОР	$3.9 \times 10^{-3} \pm 0.5 \times 10^{-3}$	$0.031 \pm 0.004$
кОР	$1.8 \times 10^{-3} \pm 0.3 \times 10^{-3}$	$0.021 \pm 0.003$
ДР	$3.4 \times 10^{-4} \pm 0.6 \times 10^{-3}$	$5.9 \times 10^{-3} \pm 1.1 \times 10^{-3}$
кДР	0	$1.4 \times 10^{-3} \pm 0.4 \times 10^{-3}$

#### 4.1.5 Зависимость микро-ОБЭ тяжёлых заряженных частиц от ЛПЭ

Расчётные данные по выходу кластерных повреждений ДНК, возникающих при прохождении через клетку заряженных частиц, использованы для вычисления ОБЭ тяжёлых заряженных частиц в зависимости от увеличения их ЛПЭ. Микро-ОБЭ оценивалась по критерию индукции ДР и кластерных ДР ДНК на клетку на единицу поглощённой дозы излучения. На рисунке 4.3 представлены данные о зависимости коэффициентов ОБЭ от ЛПЭ для различных заряженных частиц. Зависимость ОБЭ от ЛПЭ по критерию индукции ДР и кДР ДНК описываются кривыми с локальным максимумом. Максимальные значения ОБЭ частиц по индукции ДР локализируются в области ЛПЭ около 120 кэВ/мкм, а индукции кластерных ДР ДНК при ЛПЭ примерно 300 кэВ/мкм. Показано, что эффективность выхода ДР, образующихся при действии ТЗЧ в два и более раз выше, чем при облучении протонов с низкой ЛПЭ ( $\sim 0.26$  кэВ/мкм), а выхода кластерных ДР ДНК - примерно в десять раз. В этом случае выявлено удовлетворительное согласие между результатами моделирования и экспериментальными данными из литературы [78; 132].

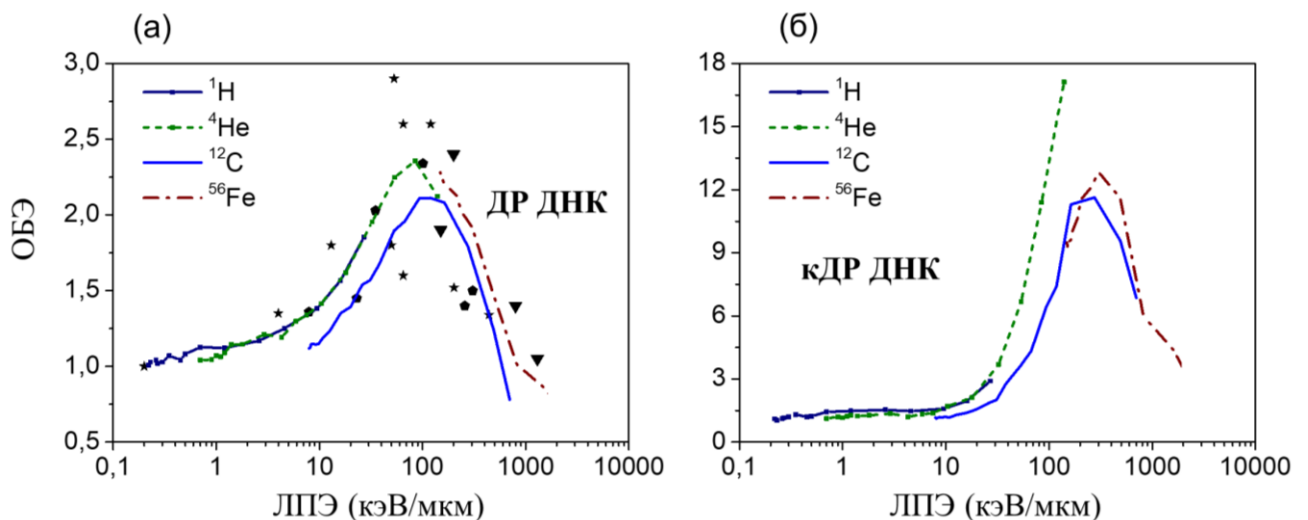


Рисунок 4.3 – Зависимость ОБЭ от ЛПЭ заряженных частиц по критерию индукции ДР (а) и кДР ДНК (б): сравнение результатов моделирования (линии) и экспериментальных данных (символы).

## 4.2 Анализ действия тяжелых ионов на гиппокамп

### 4.2.1 Количественная оценка облучённых клеток при прохождении частиц через гиппокамп

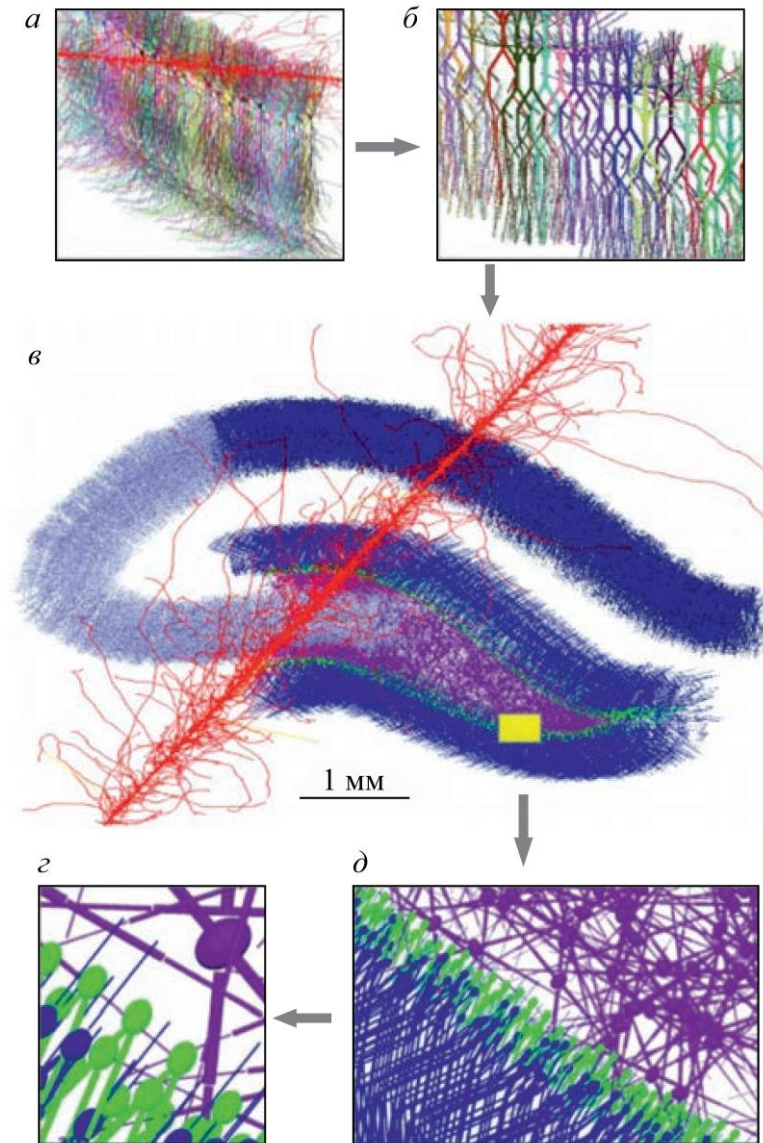


Рисунок 4.4 – Схема нейронов различной морфологии в гиппокампе крысы при прохождении одного трека иона железа. Пример реалистичных (а) и упрощённых (б) моделей нейронных сетей из пирамидальных нейронов в области CA1. Центральная панель (в) изображает схему 3D модели гиппокампа. Вставки (г, д) отображают крупный план выделенной области (желтый квадрат). Гранулярные клетки зубчатой фасции выделены синим цветом, незрелые нейроны в субгранулярной зоне – зелёным, клетки мшистых хилуса – пурпурным, пирамидальные нейроны области CA1 – темно-синим, пирамидальные нейроны CA3 и CA2 – светло-синим. Структура трека иона железа с энергией 600 МэВ/нук показана красным цветом.



3D модель гиппокампа крысы, включавшей популяции клеток разных типов в областях аммонового рога, в зубчатой извилине и в субгранулярной зоне при моделировании стохастической структуры единичной трека частицы показано на рисунке 4.4. Здесь дендритные структуры основных клеток гиппокампа смоделированы с помощью упрощённых моделей нейронов, которые определено минимальное число дендритных сегментов по оценкам энерговыделения и продуктов радиолиза эквивалентные нейронам с реальной морфологией (см. Главу 3).

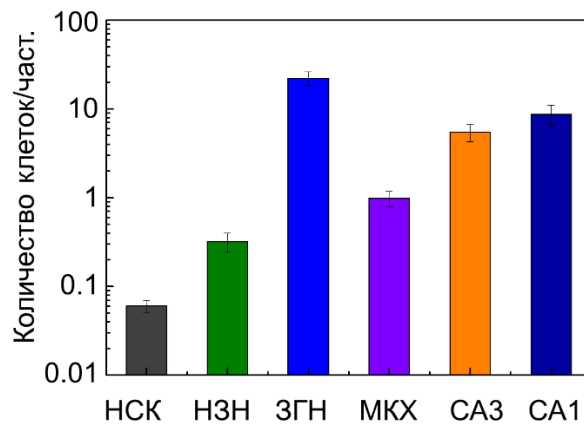


Рисунок 4.5 – Среднее количество пораженных клеток в различных областях гиппокампа крысы после воздействия единичного трека иона железа с энергией 600 МэВ/нук. Цветные столбцы представляют нейронные стволовые клетки (НСК), незрелые гранулярные нейроны (НЗН), зрелые гранулярные нейроны (ЗГН), мшистые клетки хилуса (МКХ) и пирамидные клетки области рога аммония (СА3/СА1).

Среднее количество облученных нейронов гиппокампа, нормализованное на одну треку 600 МэВ/нук ионов железа, представлено на рисунке 4.5. Показано, что наибольшее количество облученных нейронов обнаруживается в области зубчатой фасции гиппокампа, в основном потому, что гранулярные клетки составляют большая часть популяции нейронов. С другой стороны, количество энерговыделение в нейронных стволовых клетках намного меньше, чем в других типах нейронов гиппокампа. Однако эти числа могут иметь большое значение, поскольку пролиферирующие нервные стволовые клетки являются наиболее

радиочувствительными в отличие от других, более распространенных типов нейронов по всему гиппокампу.

#### 4.2.2 Дозовая зависимость количества клеток разных типов

В данной главе, особое внимание уделялось анализу закономерностей действия излучения на ядра нервных клеток при прохождении тяжёлых заряженных частиц через гиппокамп головного мозга крыс. По расчётам показано что, пространственное распределение энерговыделения в треках, попадающих в популяцию клеток гиппокампа и их количества в зависимости от микроскопических дозы в ядрах клеток на рисунок 4.6. При этом примерно 571 из 4904 ядер клеток-предшественников и  $\sim 106242$  из 1150000 ядер гранулярных клеток гиппокампа пересекаться как минимум одним ионом железа при флюенс частица  $1.7 \cdot 10^5 \text{ см}^{-2}$ . Кроме того,  $\sim 2$  и  $\sim 530$  таких самых маленьких и больших популяций клеток получают дозу 1 Гр или более.

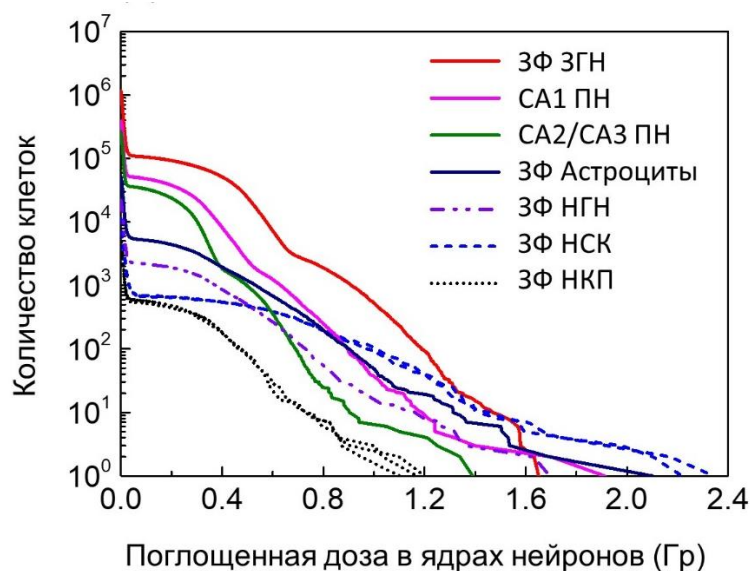


Рисунок 4.6 – Количество облучённых клеток в зависимости от поглощённой дозы в ядрах зрелых гранулярных нейронов (ЗГН), пирамидальных нейронов (ПН) в аммоновых рогах (CA1/CA2/CA3), астроциты хилуса, незрелых гранулярных нейронов (НГН), нейрональных стволовых клеток (НСК), и нейрональных клеток-предшественников (НКП) при действии ионов железа с энергией 600 МэВ/нук и флюенсом  $1.7 \times 10^5$  частиц/см<sup>2</sup>.

### 4.2.3 Выживаемости радиочувствительных клеток гиппокампа

Радиационно-индуцированные повреждения молекул ДНК в ядрах недифференцированных клетках гиппокампа, играют значительную роль в программируемой гибели клеток - апоптозе. Таким образом, показано, что случайное распределение индукции ДР ДНК в ядрах клеток зубчатой фасции, и уменьшение количества клеток при помощи разработанной модели (Рисунок 4.7). Установлено, что приблизительно 6% нервных стволовых клеток, ~11% клеток-предшественников и ~9% незрелых гранулярных нейронов гиппокампа наблюдаются один или больше кластерных ДР ДНК при действии ионов железа. Также выявлено, что при облучении разных заряженных частиц эффективность индукции ДР ДНК в ядрах клеток гиппокампа линейно зависит от дозы (не показано). В этом случае, каждая модель ядер нейронов крыс смоделирован с разными объёмами и с одинаковым размером генома. Полученные результаты показывают, что тяжёлые заряженные частицы наиболее эффективно действуют на клетки-предшественники нейронов.

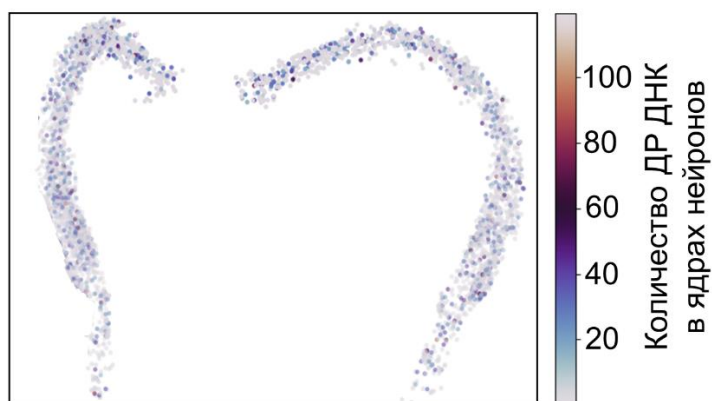


Рисунок 4.7 – Случайное распределение индукции ДР ДНК в ядрах нервных клеток в субгранулярной зоне гиппокампа после воздействия ионов железа с энергией 600 МэВ/нук и флюенсом  $1.7 \times 10^5$  частиц/см<sup>2</sup>.

При действии ТЗЧ, формирование таких летальных повреждений ДНК в генетических структурах нейронов длительное время остаются нерепарированными, что приводит к инактивации нейронов. Дозовая зависимость влияния заряженных частиц на гибель нервных клеток в субгранулярной зоне гиппокампа приведена на рисунке 4.8.

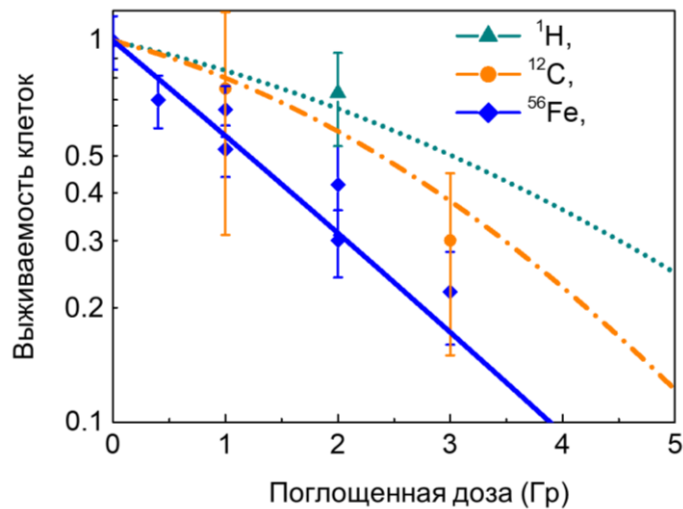


Рисунок 4.8 – Расчетные кривые выживаемости клеток-предшественников нейронов в гранулярной зоне гиппокампа в зависимости от дозы при действии заряженных частиц 1000 МэВ  $^1\text{H}$ , 300 МэВ/нук  $^{12}\text{C}$  и 600 МэВ/нук  $^{56}\text{Fe}$ . Символы с ошибкой представляют известные экспериментальные данные нейрогенеза гиппокампа как маркеры пролиферации Ki67 после облучения.

В случае облучения клеток-предшественников нейронов параметры ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) модели рассчитывались значениями (0.56, 0.005) для ионов железа с высокой ЛПЭ, (0.17, 0.05) для ионов углерода с средней ЛПЭ и (0.15, 0.024) для протонов с низкой ЛПЭ. Расчетные кривые показывают, что выживаемость клеток почти линейно зависит от дозы после воздействия ионов железа с высокой ЛПЭ и имеет нелинейную зависимость после воздействия протонов и ионов углерода с низкой и средней ЛПЭ. Результаты моделирования подтверждают экспериментальные результаты, которые свидетельствуют о том, что клетки-предшественники нейронов наиболее чувствительны к воздействию ионов железа [60; 65; 67]. В этом случае, ОБЭ ионов углерода и железа, определенная по отношению к высокоэнергетическим

протонам, составляет в среднем  $1.33 \pm 0.18$  и  $2.42 \pm 0.29$  при уровне выживаемости 37%, соответственно.

### 4.3 Обсуждение полученных результатов

В настоящей работе была исследована закономерность образования первичных повреждений ДНК разного типа в зависимости от ЛПЭ падающих частиц при моделировании энерговыделения и продуктов радиолиза воды в клетках гиппокампа. Полученные результаты показывают, что в широком диапазоне ЛПЭ частиц более 80% повреждений оснований и более 60% однонитевых разрывов ДНК вызваны непрямым действием свободных радикалов. С ростом ЛПЭ тяжелых ионов, их вклад значительно уменьшается. При воздействии протонов с низкой ЛПЭ, ОР и ПО остаются постоянными, а затем уменьшаются с увеличением ЛПЭ падающих ионов углерода и железа. Однако эти повреждения не являются летальными для клетки. Расчётные выходы кластерных ОР, ДР и кластерных ДР ДНК увеличиваются с увеличением ЛПЭ, а затем достигают максимума при 30-50 кэВ/мкм, 100-200 кэВ/мкм и 300-600 кэВ/мкм, соответственно (Рисунок 4.2). В этом случае ОБЭ тяжелых заряженных частиц по критерию индукции ДР ДНК оказалась в более 2 раза выше (то есть в зависимости от сложности кластеризации ДР ДНК), чем у энергетических протонов ( $0.26 \pm 0.07$  кэВ/мкм), соответственно. Интересно отметить, что повреждающее действие протонов высоких энергий (25 – 645 МэВ), оцениваемое по совокупности биологических эффектов, практически не отличается от действия “стандартных” рентгеновских лучей и гамма-квантов [45; 88]. Также, пики ОБЭ для большинства радиобиологических конечных точек, таких как мутагенные или летальные эффекты, а также гибель клеток, обычно измерялись в такие же диапазонах ЛПЭ [88]. Полученные результаты радиационно-индуцированных первоначальных повреждений ДНК, особенно ДР на единицу поглощённой дозы и пару нуклеотидов, представленные в этой работе находятся в согласии с известными экспериментальными данными на клетках млекопитающих, а также нервных клетках гиппокампа крысы [78-80; 133] с использованием методов ДНК-фокуса и ДНК-комета (*in vitro* или *in vivo*), и соответствуют той же характер образования повреждений ДНК, что и в раннем и последнем компьютерном моделировании [81-

83; 136; 137] с применением различных Монте-Карло программных кодов (Kurbus, Partrac, Geant4-DNA и др). Однако, моделирование первичных молекулярных повреждений в критических структурах сложных и высокоспециализированных клеток, таких как нейроны при прохождении треков тяжёлых заряженных частиц, ранее не рассматривалось. В настоящей работе выполненные нами с помощью разработанной модели взаимодействия ионизирующих излучений с нейронами, свидетельствуют о возможности радиационного повреждения ядерной ДНК и молекул рецепторов, что может препятствовать их нормальному функционированию.

Нарушение генетической информации нейронов может потенциально приводить к целому ряду дегенеративных изменений, включая нарушение синтеза необходимых для нейротрансмиссии макромолекул, изменение в транспорте клеточных органелл в дистальные отделы нейронов [143], а также морфологические изменения, связанные со структурой цитоскелета [144]. В работе [63], изучалась корреляция снижения когнитивных функций в связи с тяжелыми повреждениями ДНК, в особенности двунитевыми разрывами, а также изменением в профиле экспрессии генов. В тоже время при облучении ТЗЧ повреждения генетических структур нейронов связывают не только с гибели нейронов, но и с нарушения механизмов синаптической передачи [52]. С учетом этого недавно исследована связь между функциональными свойствами синаптических рецепторов NMDA и мутациями в генах GRIN1 и GRIN2b нейронов головного мозга, кодирующих белки данных структур [134; 135]. Предполагается, что радиационные повреждения в геноме нервных клеток, в особенности в генах GRIN2b как результата формирования кластерных повреждения ДНК, может измениться на функциональные свойства синаптических рецепторов нейронов головного мозга.

Компьютерное моделирование радиационного воздействия на нейроны описывает детальное повреждение нуклеотидов и сахарофосфатного остова ДНК, образованные как прямым, так и косвенным действием радиации в генах GRIN1 и

GRIN2b с реалистичными последовательностями. Путём расчёта показано, что распределение энерговыделения и количества повреждений ДНК в гене GRIN2b более частое и более широкое, чем в гене GRIN1 после прохождения единичной трека частицы железа через генетическую структуру нейрона. Также, в случае критических молекулярных структур мембраны нейрона полученные результаты моделирования заполняют качественного соглашения с экспериментальными результатами, которые сообщают, что NMDA [56] рецепторы относятся к критическим молекулярным целям в облучённых нервных клетках. В работах нашей группы [135] с использованием методом молекулярной динамики также выявлено эффективное изменение проводимости ионного канала рецептора, включающего мутантные формы белковых субъединиц NR2 в гене GRIN2b. Было выявлено негативное влияние сложных дефектов (двойных точковых мутаций, коротких делеций) в генах белков данного рецептора на проводимость его ионного канала. Предполагается, что действие ТЗЧ будет приводить к повышению уровня таких мутаций, что скажется на функционировании синаптических контактов. Помимо этого повреждения белков ионных каналов может происходить за счёт действия продуктов радиолиза.

Таким образом, следует подчеркнуть, что реализация реалистичного морфология сталкивается с трудностями при дозиметрических исследованиях крупномасштабных биологических нейронных сетей. Чтобы продемонстрировать возможности предлагаемого подхода, мы реализовали простые геометрические формы нейронов для построения модели гиппокампа крысы в масштабе 1: 100 по отношению к реальной структуре и вычислили среднее энерговыделение в облучённых нейронах разных типов после одиночного трека 600 МэВ/нук иона железа. Из общего числа 19367 нейронов наиболее вероятные мишень была представлена плотной популяцией зернистых клеток в ЗФ. Однако следует подчеркнуть, что небольшая популяция радиочувствительных нервных стволовые клетки и незрелые нейроны, составляющие менее процента от общего количества нейронов в гиппокампе, могут иметь большое значение для моделирования



радиационно-индуцированных нарушений нейрогенеза [140]. Также известно, что повреждение или потеря мшистых клеток в гиппокампе ответственны за растормаживание сети и повышенный риск эпилептических расстройств [119]. Моделирование достаточного количества этих клеток является сложной задачей вычислительной нейробиологии гиппокампа [141].

Очевидно, понимание процессов, ведущих к окончательным функциональным нарушениям ЦНС на уровне поведения и познания должны начинаться с количественных измерений депонирования энергии во всех компонентах нейрона (сома, дендриты, шипы и т. д.), для количество клеток с разной морфологией и пространственным положением. Поэтому представленный подход направлен на представление начальных условий для моделей с учётом конкретных типов радиационных повреждений. Например, феноменологические модели деградации нейронов [139] и нарушений нейрогенеза [140] сильно зависят от типа частиц и дозы облучения. Дальнейшая разработка связанных моделей потребует знания о пространственном распределении доз в клетках разной морфологии или в разных структурах мозга, которые могут быть предоставлены нашим подходом.

В рамках молекулярной модели [84, 130], линейно-квадратичная модель и разработанная модель гиппокампа использованы для изучать распределение повреждений ДНК в генетических структурах нейронов и также выживаемость радиочувствительных клеток гиппокампа в зависимости от дозы после радиационного воздействия.

Кроме того, понимание изменений электрофизиологии, вызванных излучением, может выиграть от наших моделей, которые правильно представляют электрические параметры клеток и могут быть включены в крупномасштабные сети. В настоящее время отсутствуют какие-либо последовательные теоретические подходы, связывающие эти части воедино. Однако с точки зрения анализа эксперимента это может быть полезно с методической точки зрения. Недавно была

предпринята попытка смоделировать влияние экспериментально наблюдаемых электрофизиологических изменений в отдельных нейронах на активность нейронной сети [142]. Знания о начальном распределении дозы и экспериментально определенных молекулярных эффектах (например, ионных каналах, мембранах, синапсах) можно экстраполировать на своего рода феноменологическую модель.

Выбор протонов и ионов углерода в этой работе был мотивирован развитием современных методов лучевой терапии и планированием лечения глубоко расположенных опухолей головного мозга, в настоящее время в клинических условиях работают 89 протонных центров и 12 углеродных центров по всему миру [27, 28]. С другой стороны, ионы железа с заданными параметрами широко используются в нейро-радиобиологических исследованиях на ускорителях частиц, что требует предсказания рисков космического излучения на ЦНС на молекулярном и клеточном уровнях [29]. На текущем этапе разработанный подход может обеспечить начальные условия для моделей, учитывающих конкретные виды радиационных повреждений. Мы надеемся, что разработка таких биофизических моделей, связывающих радиационное повреждение и изменение функции нейронов, может быть достигнута в ближайшее время.

#### 4.4 Выводы к Главе 4

Здесь, можно заключить, что разработанный нами метод позволил прогнозировать количественную и качественную информацию о радиационных повреждениях на уровне молекулярных структур после прохождения треков тяжёлых заряженных частиц через нейрон. Расчетным путем исследована закономерность образования повреждений ДНК различной природы в зависимости от ЛПЭ падающих частиц при моделировании энерговыделения и продуктов радиолиза воды в клетках гиппокампа. Установлено, что большая часть повреждений оснований (80%) и односторонних разрывов (60%) ДНК вызваны непрямым действием свободных радикалов. Вклад повреждений оснований и односторонних разрывов ДНК на клетку на единицу поглощённой дозы значительно больше, но эти повреждения не являются летальными для клетки. При воздействии ускоренных тяжёлых ионов более 50% односторонних разрывов ДНК вызваны прямым действием энерговыделения. Установлено, что среднее энерговыделение для кластерных повреждений ДНК составляет около 283 эВ при высоких ЛПЭ. Доказано, что выходы кластерных односторонних разрывов, двусторонних разрывов и кластерных двусторонних разрывов ДНК относительно мало при малых ЛПЭ и с ростом ЛПЭ они увеличиваются и достигают локального максимума. Расчётные результаты хорошо согласуются с известными экспериментальными данными на клетках млекопитающих, а также в нервных клетках грызунов. При действии протонов меньшая часть ДР (~25%) и при действии тяжёлых ионов большая часть ДР (~84%) находится в составе кластеров, включающих также повреждения оснований. После прохождения одного трека частицы железа через ядро нейронов, среднее количество кластерных ДР ДНК составляет 5.2 – 17.4 в пределах ЛПЭ 200–800 кэВ/мкм, соответственно.

Используя разработанные модели рассчитаны распределение поглощённой дозы и ДР ДНК в ядрах клеток гиппокампа. В ходе расчётов показано, что наибольшее количество поврежденных нейронов образуется в гранулярной зоне при прохождении частиц через гиппокамп крысы. Также были исследованы

радиационно-индуцированной гибели радиочувствительных клеток гиппокампа на основе полученных данных о повреждениях ДНК. Показано, что клетки-предшественники гиппокампа обладают высокой чувствительностью к воздействию ионов железа.

В итоге, выполнена теоретическая оценка повреждений ДНК и гибели клеток при моделировании энерговыделения и формирования радиохимических продуктов в нервных клетках гиппокампа, что критически важно для оценки дальнейшего развития радиационного эффекта в ЦНС. Разработанные модели могут быть использованы для корреляции между первичными повреждениями и снижением когнитивных функций нейронных сетей после действия тяжёлых заряженных частиц, а также для интерпретации или разработки будущих радиобиологических экспериментов.

## Заключение

В заключении приведены основные результаты и выводы диссертации:

1. Предложен оригинальный метод моделирования для микродозиметрических расчетов радиационных повреждений в нейронах и их субклеточных структурах при действии ускоренных заряженных частиц с разными физическими характеристиками. Показано, что разработанные модели нейронов можно использовать не только для дозиметрического анализа, но и для изучения электрической активности нейронных сетей. Разработанные алгоритмы реализованы в виде приложения «neuron», которое включено в программный пакет GEANT4.
2. Установлено, что облучение ускоренными тяжелыми ионами вызывает неравномерное микрораспределение поглощенной дозы по сравнению с частицами с низкой ЛПЭ. Впервые предсказанное в настоящем исследовании микрораспределение поглощенной дозы в основных компонентах нейронов нашло подтверждение в расчётах других авторов.
3. Выявлено, что большая часть поглощённой дозы и продуктов радиолиза в нервной клетке приходится на дендриты и существенно зависит от геометрии клеток и типа частиц. При анализе повреждений в чувствительных мишенях нейронов установлено, что большее количество ионизаций приходится на ДНК в ядре клетки и меньшее на синаптические рецепторы в дендритах.
4. Получены новые данные о закономерностях индукции повреждений ДНК в ядрах нервных клеток с учётом прямого и косвенного действия излучений при действии ускоренных заряженных частиц в широком диапазоне ЛПЭ. Установлено, что при воздействии ускоренных тяжёлых ионов большая часть разрывов цепи ДНК возникает за счет прямого взаимодействия с частицей и более 80% двунитевых разрывов ДНК находится в составе кластеров, включающих повреждения оснований.

5. В ходе расчётов показано, что при облучении гиппокампа ускоренными заряженными частицами наибольшее количество поврежденных нейронов образуется в гранулярной зоне.
6. Выполнен расчёт выживаемости радиочувствительных клеток в субгранулярной зоне гиппокампа после облучения протонами и тяжелыми ионами углерода и железа. Выявлено согласие между экспериментальными данными и результатами моделирования радиационных повреждений ДНК и выживаемости клеток.

**Список сокращений и условных обозначений**

3D – трёхмерный

ГКЛ – галактические космические лучи

СКЛ – солнечные космические лучи

МКС – международная космическая станция

ТЗЧ – тяжелый заряженный частиц

ЦНС – центральная нервная система

NMDA – n-метил-D-аспартат

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота, GABA

AMPA –  $\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

п.н. – пар нуклеотид, описывающая размер структуры ДНК

Hi-C – high conformation Capture – устоявшийся термин от английского "конформации хромосом высокого порядка"

DG – Dentate Gyrus (зубчатая фасция или зубчатая извилина) гиппокампа

CA – Cornu Ammonis (область рогового аммония) гиппокампа (CA1/CA2/CA3)

Гр – Грей, единица поглощённой дозы ионизирующего излучения в Международной системе единиц (СИ).

Зв – Зиверт, единица измерения эффективной доз ионизирующего излучения в Международной системе единиц (СИ)

КТ – компьютерная томография

ЛПЭ – линейная передача энергии

ОБЭ – относительная биологическая эффективность

*in vivo* – экспериментальный подход к изучению биологических процессов (с использованием живого организма)

*in vitro* – экспериментальный подход к изучению биологических процессов (с использованием пробирки)

*in silico* – модельный подход к изучению биологических процессов (с использованием компьютерного моделирования - симуляцию)

SWC – стандартизированный нейроморфометрический формат

PDB – стандартный формат хранения данных белковых структур

ДР – двунитевый разрыв сахаро-фосфатного остова ДНК

ОР – однонитевый разрыв сахаро-фосфатного остова ДНК

ПО – повреждение основания (нуклеотидов) ДНК



**Основные публикации по теме диссертации**

Статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI:

- A1. **Batmunkh M.**, Aksenova S. V., Bayarchimeg L., Bugay A.N., Lkhagva O. Optimized neuron models for estimation of charged particle energy deposition in hippocampus // *Physica Medica* — 2019. — Vol. 57. — P. 88–94.— DOI: 10.1016/j.ejmp.2019.01.002. (WoS, Scopus, IF 2.685, 85%)
- A2. Belov O. V., **Batmunkh M.**, Incerti S., Lkhagva O. Radiation damage to neuronal cells: Simulating the energy deposition and water radiolysis in a small neural network // *Physica Medica*. — 2016. — Vol. 32. — P. 1510–1520. — DOI: 10.1016/j.ejmp.2016.11.004. (WoS, Scopus, IF 2.685, 80%)
- A3. **Batmunkh M.**, Belov O.V., Bayarchimeg L., Lkhagva O., Sweilam N.H. Estimation of the spatial energy deposition in CA1 pyramidal neurons under exposure to <sup>12</sup>C and <sup>56</sup>Fe ion beams // *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*—2015. —V. 8. —P. 498-507. — DOI: 10.1016/j.jrras.2015.05.008. (WoS, IF 1.778, 85%)
- A4. Bayarchimeg L., **Batmunkh M.**, Bugay A.N., Lkhagva O. Evaluation of Radiation-Induced Damage in Membrane Ion Channels and Synaptic Receptors // *Phys. Part. Nucl. Lett.* —2019. —V.16. —P. 54–62. —DOI: 10.1134/S1547477119010059 (WoS, Scopus, IF 0.824, 50%)
- A5. **Batmunkh M.**, Bayarchimeg L., Bugay A N., Lkhagva O. Computer simulation of radiation damage mechanisms in the structure of brain cells // *American Institute of Physics-Conf. Proc.* – 2021. – V. 2377. – P. 050001. – DOI: 10.1063/5.0063370. (WoS, Scopus, IF 0.8, 90%)
- A6. **Batmunkh M.**, Bayarchimeg L., Bugay A. N., Lkhagva O. Monte Carlo track structure simulation in studies of biological effects induced by accelerated charged particles in the central nervous system // *European Physics Journal-WoC*. — 2019. — V. 204.— P. 04008. – DOI: 10.1051/epjconf/201920404008. (WoS, Scopus, SJR 0.184, 85%)

- A7. **Batmunkh M.**, Bugay A. N., Bayarchimeg L., Lkhagva O. Radiation damage to nervous system: Designing of optimal models for realistic neuron morphology in hippocampus // European Physics Journal-WoS. — 2018. — V. 173, — P. 05004. — DOI: 10.1051/epjconf/201817305004. (WoS, Scopus, SJR 0.194, 85%)
- A8. Bayarchimeg L., **Batmunkh M.**, Belov O. V., Lkhagva O. Simulation of radiation damage to neural cells with Geant4-DNA // European Physics Journal-WoS. — 2017. — V. 173. — P. 05005. — DOI: 10.1051/epjconf/201817305005. (WoS, Scopus, SJR 0.194, 80%)
- A9. Bugay A. N., Aksenova S. V., Batova A. S., **Batmunkh M.**, Bayarchimeg L., Dushanov E.B., Kolesnikova E.A., Panina M.S., Parkhomenko A.Yu., Vasilyeva M.A. Computer modelling of radiation-induced disorders in central nervous system // Nonlin. Phenom. Complex Syst. — 2018. — V. 24. — P. 33–40. (WoS, RSCI, IF 0.82, 40%)

Статьи в журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК:

- A10. **Батмунх М.**, Баярчимэг Л., Бугай А. Н., Лхагва О. Компьютерное моделирование формирования повреждений ДНК в нервных клетках при воздействии тяжелых заряженных частиц // Актуальные вопросы биологической физики и химии. — 2019. — Т. 4. — С. 214–219. — Режим доступа: URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42572081>. (РИНЦ, Импакт-фактор: 0.052, 85%) [**Batmunkh M.**, Bayarchimeg L., Bugay A.N., Lkhagva O. Computer simulation of the DNA damage formation in neural cells under exposure to heavy charged particles // Russian Journal of Biological Physics and Chemistry (ISSN 2499-9962). — 2019. — V. 4, — P. 214-219.]

Прочие публикации:

- A11. Batmunkh M., Bugay A. N., Bayarchimeg L., Lkhagva O. Computer modeling of radiation – induced damage to hippocampal cells // Mong. J. Phys (ISSN 2414-9756). — 2019. — Vol. 5. — P. 76–82.

- A12. Batmunkh M., Belov O.V., Bayarchimeg L., Lkhagva O. Radiation effects in the central nervous system: Simulation technique and practical applications // Mong. J. Phys (ISSN 1561-4085). — 2016. — V.2. — P. 317-323.
- A13. Bayarchimeg L., Belov O.V., Batmunkh M., Lkhagva O. Modeling of synaptic receptors under irradiation with charged particles // Mong. J. Phys (ISSN 1561-4085). — 2016. — V.2 — P. 470-474.
- A14. Батмунх М., Бугай А. Н., Баярчимэг Л., Лхагва О. Компьютерное моделирование радиационных повреждений в нейронах гиппокампа крыс // Школа-конференция молодых ученых "Ильинские чтения", ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА (ISBN 978-5-905926-41-9). — 2018. — С.98-100.
- A15. Batmunkh M., Bayarchimeg L., Bugay A. N., Kolesnikova E. A., Vasilyeva M. A. Simulation of DNA damage induction and repair in hippocampal cells after exposure to accelerated heavy charged particles // Proceedings of International Conference Current Problems in Radiation Genetics. — 2019. — P.20-21.
- A16. Batmunkh M., Bugay A. N., Bayarchimeg L., Lkhagva O. Radiation damage to nervous system: simplified neuron models with dendritic spines // Сборник материалов Международной конференции «Современные направления общей и космической радиобиологии». — 2017. — P.13-16.
- A17. Batmunkh M., Belov O. V., Bayarchimeg L., Lkhagva O. Physico-chemical effects of charged particles in the central nervous system: Simulation technique and practical applications // Proceedings of International Conference of Young Scientists and Specialists (ISBN 978-5-9530-0416-9). — 2016. — P. 273-276.
- A18. Bayarchimeg L., Bugay A. N., Batmunkh M., Lkhagva O. Analysis of track structure in ion channels and receptors irradiated with charged particles // Proceedings of International Conference "Modern Trends in General and Space Radiobiology". — 2017. — P.17-18.
- A19. Batmunkh M., Belov O. V., Bayarchimeg L., Lkhagva O. Modeling of radiation effects in neuronal cells // Proceedings of International Conference "Modern trends

in radiobiology and astrobiology. Molecular, genetic, cell, and tissue effects" — 2015. — C. 106-110.

- A20. Batmunkh M., Belov O. V., Bayarchimeg L., Lkhagva O. Estimation of the energy deposition in a pyramidal neuron // Conference proceeding on Radiation Biology and Radiation Protection. — 2013. — P. 23–28.

### Список литературы

- [1] Sources and effects of ionizing radiation: UNSCEAR 2012 Report. – New York: United Nations, 2012. – P. 328.
- [2] Онищенко Г. Г., Романович И. К. Основные направления обеспечения радиационной безопасности населения Российской Федерации на современном этапе. // Радиационная гигиена. – 2014. –Т. 7. – С. 5-13.
- [3] Ionizing radiation exposure of the population of the United States: NCRP Report No. 160. – Bethesda, Md, 2009. – P. 160.
- [4] Radiation in environment: Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan. – TA acknowledges, 2011-6-29.
- [5] Vanmarcke N., et al. Medical radiation exposure of the European population// IRPA proceedings. – 2010. – V.3. – P.2216-25.
- [6] Абель Х., и др. Естественные и искусственные источники излучения: Ядерная энергия в будущем. Сравнительный анализ источников излучения в среде обитания. // БЮЛЛЕТЕНЬ МАГАТЭ. — 1989. — V. 2. — P.23-35.
- [7] Bottollier-Depois J. F., et al. Assessing exposure to cosmic radiation during long-haul flights. // Radiat Res. – 2000. – V.153. – P.526–532.
- [8] Zeitlin C., et al. Measurements of energetic particle radiation in transit to mars on the mars sciencelaboratory. // Science. – 2013. – V.340. – P.1080–1084.
- [9] Hassler D. M et al. Mars’ surface radiation environment measured with the Mars Science Laboratory’s Curiosity rover. // Science. – 2014. – V.343. – P.1244797.
- [10] Benton E. R., Benton E. V. Space radiation dosimetry in low-earth orbit and beyond. / Nucl Instrum Methods Phys Res B – 2001. – V. 184. – P. 255–294.
- [11] Mewaldt, R. A., et al. The Cosmic Ray Radiation Dose in Interplanetary Space—Present Day and Worst-Case Evaluations. // 29th International Cosmic Ray Conference Pune. – 2005. – V. 1. – P. 101-104.
- [12] Simpson, J. A. Elemental and isotopic composition of the galactic: cosmic rays // Ann. Rev. Nucl. and Particle Sci. – 1983. – V. 33, – P. 706.

- [13] Mc Donald F B. Review of galactic and solar cosmic rays. // Second symposium on protection against radiations in space. NASA SP-71. –1965. – P.19–29
- [14] Low doses of ionizing radiation: biological effects and regulatory control: IAEA and WHO. – IAEA in Austria, 1997. – P.452.
- [15] Балонов М. И. и др. Современные уровни медицинского облучения в России // Радиационная гигиена. – 2015. – Т. 8. – С. 67-79.
- [16] Костылев В. А., и др. Статус и перспектива развития методов позитронно-эмиссионной томографии в России // Медицинская физика. – 2015. – V. 2. – С. 5–16
- [17] Агапов А. В., и др. Методика трехмерной конформной протонной лучевой терапии. // Письма в ЭЧАЯ. – 2005. – Т. 2. – С. 80-86
- [18] Thariat J., et al. Past, present, and future of radiotherapy for the benefit of patients. // Nat. Rev. Clin. Oncol. – 2012. – V.10. – P.52-60.
- [19] Durante M. New challenges in high-energy particle radiobiology. // Br J Radiol. – 2014. – V. 87. – P.1035.
- [20] Mitin T., Zietman A. L. Promise and pitfalls of heavy-particle therapy. // J. Clin. Oncol. – 2014. – V. 32. – P. 2855–2863.
- [21] Воробьев Н. А и др. Возможности протонной терапии. Клинические аспекты. // РМЖ. – 2017. – Т. 25. – С. 1175-1180.
- [22] Rombi B., et al. Spot-scanning proton radiation therapy for pediatric chordoma and chondrosarcoma: Clinical outcome of 26 patients treated at Paul Scherrer Institute // Int J Radiat Oncol. – 2013. – V. 86. – P. 578-584.
- [23] Schardt D., et al. Heavy-ion tumor therapy: physical and radiobiological benefits. // Reviews of Modern Physics, – 2010. – V. 82, – P. 383e417.
- [24] PTCOG. Particle Therapy Facilities in Operation. Available online at: <https://www.ptcog.ch/>
- [25] Jabbari K. Review of Fast Monte Carlo Codes for Dose Calculation in Radiation Therapy Treatment Planning. // J. Med. Signals. Sens. – 2011. – V.1. – P. 73-86.

- [26] Hirano S, Takeichi M. Cadherins in brain morphogenesis and wiring. // *Physiol Rev.* – 2012. – V. 92. – P. 597–634.
- [27] Lodish H., et al., *Overview of neuron structure and function: Molecular cell biology (4th edition)*/ Freeman & Co., New York, NY, – 2000. – 1084 pp.
- [28] Chen B. L., Hall D. H., Chklovskii D. B. Wiring optimization can relate neuronal structure and function. // *Proc Natl Acad Sci USA* – 2006. – V. 103. – P. 4723–8.
- [29] Руткевич С. А., Каравай Т. В., Чумак А. Г. Роль нейроактивных аминокислот в межклеточном взаимодействии нейронов заднего рога спинного мозга. // *Труды БГУ* – 2008. – Т. 3.
- [30] Annunziato, A. DNA packaging: Nucleosomes and chromatin. // *Nature Education* – 2008. – V.1 – P. 1.
- [31] *Nucleic Acids.* // OpenStax College, – 2013. – Режим доступа: [http://cnx.org/content/m44403/latest/figure\\_03\\_05\\_03.png](http://cnx.org/content/m44403/latest/figure_03_05_03.png)
- [32] Разин С. В. Пространственная организация ДНК. // *Природа* – 2007. – P. 5.
- [33] Meaburn K. J and Misteli T. Cell biology: chromosome territories. // *Nature* – 2007. – V. 445(7126). – P. 379-781.
- [34] Орлов Ю. Л и др. Компьютерные методы анализа хромосомных контактов в ядре клетки по данным технологий секвенирования. // *Биомедицинская химия,* – 2017. – V. 63(5). – P. 418-422.
- [35] Lieberman-Aiden E., et al. Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. // *Science.* – 2009. – V. 326. – P. 289.
- [36] Popova M. S., Stepanichev M. Yu. Cell cycle induction, amyloid-beta, and free radicals in the mechanisms of neurodegenerative process progression in the brain. // *Neurochemical Journal.* – 2008. – V. 2. – P. 146-152.
- [37] Anderse P., Morris R., Amaral D. *The Hippocampus Book (Oxford Neuroscience Series) 1st Edition* // (Eds.), & Bliss, T., & O'Keefe, J. (Ed.). – 2007.
- [38] Виноградова О. С. Гиппокамп и память. // *Наука.* – 1975. – 332 с.

- [39] Rapp P. R., Gallagher M. Preserved neuron number in the hippocampus of aged rats with spatial learning deficits. // *Proc Natl Acad Sci.* – 1996. – V. 93. – P. 9926.
- [40] Van Dijk., R. M., et al. Taxonomic Separation of Hippocampal Networks: Principal Cell Populations and Adult Neurogenesis. // *Frontiers in Neuroanatomy*, – 2016. – V. 10. – P. 22.
- [41] Carnevale N. T., et al. Comparative Electrotonic Analysis of Three Classes of Rat Hippocampal Neurons. // *Journal of Neurophysiology.* – 1997. – V. 78, – P. 703.
- [42] Whoolery C. W, et al. Whole-Body Exposure to <sup>28</sup>Si-Radiation Dose-Dependently Disrupts Dentate Gyrus Neurogenesis and Proliferation in the Short Term and New Neuron Survival and Contextual Fear Conditioning in the Long Term. // *Radiat Res.* – 2017. – V. 188(5). – P. 532-551.
- [43] Prince L. Y, Neuromodulation of the Feedforward Dentate Gyrus-CA3 Microcircuit. // *Front. Synaptic Neurosci.* – 2016. – V. 8. – P. 32.
- [44] Greene-Schloesser. D., et al. Radiation-induced brain injury: a review. // *Frontiers in oncology*, – 2012. – V.2. – P.1-18.
- [45] Григорьев А. И., Красавин Е. А., Островский М. А. К оценке риска биологического действия галактических тяжёлых ионов в условиях межпланетного полёта. // *Российский физиологический журнал.* – 2013. – Т. 99. – С.273-280.
- [46] Warrington J. P, et al. Whole brain radiation-induced vascular cognitive impairment: mechanisms and implications. // *J Vasc Res.* – 2013. – V. 50. – P. 445-57.
- [47] Gorlia T., et al. New prognostic factors and calculators for outcome prediction in patients with recurrent glioblastoma: a pooled analysis of EORTC Brain Tumour Group phase I and II clinical trials. // *Eur J Cancer.* – 2012. – V. 48. – P. 1176-84.
- [48] Parihar V. K, et al. What happens to your brain on the way to Mars // *Sci Adv.* – 2015. – V. 1(4). – P. e1400256.
- [49] Cucinotta F.A., et al. Space radiation risks to the central nervous system. // *Life Sci Sp Res.* – 2014. – V. 2. – P.54–69.



- [50] Joseph J.A., et al. Deficits in the sensitivity of striatal muscarinic receptors induced by  $^{56}\text{Fe}$  heavy-particle irradiation: further “age-radiation” parallels. // *Radiat. Res.*, – 1993, – V. 135. – P. 257-261.
- [51] Durante M., Cucinotta F. Heavy ion carcinogenesis and human space exploration. // *Nat Rev Cancer* – 2008. – V. 8, – P. 465–472.
- [52] Britten R. A., et al. Low (20 cGy) Doses of 1 GeV/U  $^{56}\text{Fe}$ -Particle Radiation Lead to a Persistent Reduction in the Spatial Learning Ability of Rats. // *Rad. Res.* – 2012. – V. 177. – P. 146151.
- [53] Machida M. Effects of HZE irradiation on chemical neurotransmission in rodent hippocampus. // Ph.D. thesis. Eastern Virginia Medical School; – 2009.
- [54] Allen A. R., et al.  $^{56}\text{Fe}$  Irradiation Alters Spine Density and Dendritic Complexity in the Mouse Hippocampus. // *Radiat. Res.*— 2015. — V.184. — P.586.
- [55] Parihar V. K., et al. Persistent changes in neuronal structure and synaptic plasticity caused by proton irradiation. // *Brain Struc. Fun.*, – 2014. – V.220. – P. 1161.
- [56] Machida M., et al. Low (60 cGy) doses of  $^{56}\text{Fe}$  HZE-particle radiation lead to a persistent reduction in the glutamatergic readily releasable pool in rat hippocampal synaptosomes. // *Radiat. Res.* – 2010. – V. 174. – P. 618–623.
- [57] Parihar V.K., Allen B.D., Caressi C. Cosmic radiation exposure and persistent cognitive dysfunction. // *Sci Rep.* – 2016. – V.6. – P.34774.
- [58] Vlkolinsky R., et al. Exposure to  $^{56}\text{Fe}$ -particle radiation accelerates electrophysiological alterations in the hippocampus of APP23 transgenic mice. // *Radiat Res.* – 2010. – V.173. – P.342-352.
- [59] Rudbeck E., et al.  $^{28}\text{Si}$  radiation impairs neuronal output in CA1 neurons of mouse ventral hippocampus without altering dendritic excitability. // *Radiat Res.* – 2014. – V.181. – P.407-415.
- [60] Rola R., et al. High-LET radiation induces inflammation and persistent changes in markers of hippocampal neurogenesis. // *Radiat Res.* – 2005. – V. 164. – P. 556.

- [61] Impey S., et al. Short- and long-term effects of  $^{56}\text{Fe}$  irradiation on cognition and hippocampal DNA methylation and gene expression. // *BMC Genomics* – 2016. – V. 17. – P. 825.
- [62] Rosi S., et al. Trauma-induced alterations in cognition and Arc expression are reduced by previous exposure to  $^{56}\text{Fe}$  irradiation. // *Hippocampus*. – 2012. – V. 22. – P. 544–54.
- [63] Zhang L., et al. Effects of expression level of DNA repair-related genes involved in the NHEJ pathway on radiation-induced cognitive impairment. // *J. Radiat. Res.* — 2013. — V. 54. — P.235-242.
- [64] Encinas J. M, et al. Quiescent adult neural stem cells are exceptionally sensitive to cosmic radiation. // *Exp Neurol.* – 2008. – V. 210. – P. 274–9.
- [65] Sweet T. B., et al. Central Nervous System Effects of Whole-Body Proton Irradiation. // *Radiation Research*, — 2014. — Vol. 182. — P.18–34.
- [66] DeCarolis N. A., et al.  $^{56}\text{Fe}$  particle exposure results in a long-lasting increase in a cellular index of genomic instability and transiently suppresses adult hippocampal neurogenesis in vivo. // *Life Sci in Sp. Res.* – 2014. – V. 2. – P. 70–79.
- [67] Tseng B. P., et al. Functional Consequences of Radiation-Induced Oxidative Stress in Cultured Neural Stem Cells and the Brain Exposed to Charged Particle Irradiation. // *Antioxidants & Redox Signaling.* — 2014. — Vol. 20. — P.1410.
- [68] Limoli C. L., et al. Redox changes induced in hippocampal precursor cells by heavy ion irradiation. // *Radiat Environ Biophys.* – 2007. – V. 46. – P. 167-172.
- [69] Hirano S., Takeichi M. Cadherins in brain morphogenesis and wiring. // *Physiol Rev.* – 2012. – V. 92. – P. 597–634.
- [70] Curtis S. B., et al. Cosmic ray hits in the central nervous system at solar maximum. // *Advances in Space Research.* — 2000. — V. 25. — P. 2035–2040.
- [71] Yasuda H., et al. Probability of hippocampus cell hits by high-LET space radiation in a lowEarth-orbit mission (STS-91). // *Phys Med*, – 2001. – V. 17. – P. 166.
- [72] Sanchez M. C., et al. Effects of protons and HZE particles on glutamate transport in astrocytes, neurons and mixed cultures. // *Rad Res.* – 2010. – V. 174. – P. 669.

- [73] Gregory Nelson. Neurological Effects of Space Radiation // *Gravitational and Space Biology* – 2009. – V. 22(2). – P. 33-38.
- [74] Кудряшов Ю. Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения) // М.: ФИЗМАТЛИТ, – 2004. – 448 с. – ISBN 5-9221-0388-1.
- [75] Борейко А. В. Введение в радиационную биофизику: учеб. Пособие // Дубна: Междунар. ун-т "Дубна", – 2006 – 79 с. – ISBN 5-89847-174-X.
- [76] Goodhead D. T. Issues in quantifying the effects of low-level radiation // *Health Physics*. – 2009. – 97. – P. 394–406.
- [77] Alloni et al. Early Events Leading to Radiation-Induced Biological Effects. In: Anders Brahme. // *Comprehensive Biomedical Physics*. – 2014. – V. 7, – P. 1-22.
- [78] Frankenberg D., et al. Induction of DNA Double-Strand Breaks by 1H and 4He Ions in Primary Human Skin Fibroblasts in the LET Range of 8 to 124 keV/um // *Radiation Research*. – 1999. – V. 151. – P. 540-549.
- [79] Belli M., et al. DNA fragmentation in mammalian cells exposed to various light ions. // *Adv Space Res*. – 2001. V. 27. – P. 393.
- [80] Mauro Belli., et al. DNA Fragmentation Induced in Human Fibroblasts by Accelerated 56Fe Ions of Differing Energies. // *Radiat Res*. – 2006. – V. 165. – P. 713.
- [81] Nikjoo H., et al. Computational approach for determining the spectrum of dna damage induced by ionizing radiation. // *Radiat Res*. – 2001. – V. 156. – P. 577.
- [82] Friedland W., et al. Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC. // *Mutat Res*. – 2011. – V. 711. – P. 28-40.
- [83] Zaider M., et al. From track structure to stochastic chemistry and DNA damage: Microdosimetric perspective. // *Quantum Chemistry*, – 2000. – V. 80. – P. 327.
- [84] Красавин Е. А. Проблема ОБЭ и репарация ДНК // М.: Энергоатомиздат, 1989. – 192 с. – ISBN 5-283-02984-0.

- [85] Литвинов С. В. Основные пути репарации двойных разрывов ядерной геномной ДНК и взаимодействия между ними // Цитология и генетика. – 2014. – Т. 48. – С. 64-77.
- [86] Lee R. F., Steinert S. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals // Mutat. Res. – 2003. – V. 544. – P. 43–64.
- [87] Pilch D., et al. Characteristics of gamma-H2AX foci at DNA double-strand breaks sites // Biochem Cell Bio – 2003. – V. 81. – P. 123–129.
- [88] Красавин Е.А. Радиобиологические исследования на ускорителях ОИЯИ // УФН – 2016. – Т.186. – С.435-443.
- [89] Franken N. A. P et al., Relative biological effectiveness of high linear energy transfer  $\alpha$ -particles for the induction of DNA-double-strand breaks, chromosome aberrations and reproductive cell death in SW-1573 lung tumour cells // Oncology Reports. – 2011. – V. 27(3). – P. 769-74
- [90] Ворожцова С.В., и др. Относительная биологическая эффективность ускоренных тяжелых ионов и быстрых нейтронов на основе изучения частоты абберантных митозов эпителия роговицы // Авиакосмическая и экологическая медицина, – 2006. – Т.40. – С.42-49.
- [91] ICRU. Microdosimetry: Report 36. International Commission on Radiation Units and Measurements. – Bethesda: MD – 1983.
- [92] Rossi H. The role of microdosimetry in radiobiology. // Radiat. Environ. Biophys. – 1979. – V. 17 – P. 29.
- [93] Соболев И.М., Численные методы Монте-Карло // М.: Наука, – 1973. –312 с.
- [94] Alex F Bielajew. Fundamentals of the Monte Carlo method for neutral and charged particle transport // Chapters in Books University of Michigan. – 2000.
- [95] Nikjoo H., et al. Track-structure codes in radiation research. // Rad. Measur. – 2006. – V. 41. – P. 1052-1074.
- [96] Agostinelli S., et al. GEANT4 - a simulation toolkit. // Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. – 2003. – V. 506. – P. 250–303.

- [97] Allison J., et al. GEANT4 developments and applications // IEEE Trans Nucl – 2006. – V. 56. – P. 270–278.
- [98] Incerti S., et al. The Geant4-DNA project // Int. J. Model. Simul. Sci. Comput. – 2010. – V. 1 – P. 157–178.
- [99] Bernal M. A., et al. Track structure modeling in liquid water: A review of the Geant4-DNA very low energy extension of the Geant4 Monte Carlo simulation toolkit. Phys. Med. – 2015. – V. 31. – P. 861-874.
- [100] Landau., Lifshitz. Electrodynamics of Continuous Media. // 2nd edition, Course of theoretical physics – 2009.
- [101] Incerti S., et al. Simulating radial dose of ion tracks in liquid water simulated with Geant4-DNA: A comparative study. // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B. – 2014. – V. 333. – P. 92–98.
- [102] Francis Z., et al. Monte Carlo simulation of energy-deposit clustering for ions of the same LET in liquid water. // Phys. Med. Biol. – 2011. – V. 57. – P. 209–224.
- [103] Karamitros M., et al. Diffusion-controlled reactions modeling in Geant4-DNA. // J Comput Phys – 2014. – V. 274. – P. 841–82.
- [104] Stockley E. W. et al., A system for quantitative morphological measurement and electronic modelling of neurons: three-dimensional reconstruction. // J. Neurosci. Methods. – 1993. – V. 47. – P. 39–51.
- [105] Ascoli G. A., et al. NeuroMorpho.Org: a central resource for neuronal morphologies. // J. Neurosci. – 2007. – V. 27. – P. 9247–9251.
- [106] Brun R., et al. ROOT - An Object-Oriented Data Analysis Framework. // Nucl. Inst. & Meth. in Phys. Res. A. – 1997. – V. 389. – P. 81-86.
- [107] Gould E., et al. Dendritic spine density of adult hippocampal pyramidal cells is sensitive to thyroid hormone. // Brain Res. – 1990. – V. 525. – P. 327.
- [108] Papa M., et al. Morphological analysis of dendritic spine development in primary cultures of hippocampal neurons // J. Neurosci. – 1995. – V. 15. – P. 1.
- [109] Racca C., et al. NMDA receptor content of synapses in stratum radiatum of the hippocampal CA1 area. // J. Neurosci. – 2000. – V. 20. – P. 2512–2522.

- [110] Takumi Y., et al. Different modes of expression of AMPA and NMDA receptors in hippocampal synapses. // *Nat. Neurosci.* – 1999. – V. 2. – P. 618–624.
- [111] Berman H. M., et al. The Protein Data Bank. // *Nucleic Acids Research.* – 2000. – V. 28. – P. 235-242.
- [112] Delage E., et al. PDB4DNA: implementation of DNA geometry from Protein Data Bank (pdb) description for Geant4-DNA Monte-Carlo simulations. // *Comput. Phys. Commun.* – 2015. – V. 192. – P. 282-288.
- [113] Bernal M. A., et al. An atomistic geometrical model of the B-DNA configuration for DNA–radiation interaction simulations. // *Comp. Phys. Comm.* – 2013. – V. 184. – P. 2840-2847.
- [114] Rat Genome Sequencing Project Consortium: Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. / Gibbs RA et al. // *Nature.* – 2004. – V. 428. – P. 493-521. – NCBI archive at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv>.
- [115] Kreth G., et al. Radial arrangement of chromosome territories in human cell nuclei: a computer model approach based on gene density indicates a probabilistic global positioning code. // *Biophys J.* – 2004. — V. 86. — P. 2803.
- [116] Buxton G.V., et al. Critical review of rateconstants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals (OH/O) in Aqueous Solution // *J Phys Chem Ref Data.* – 1988. – V. 17. – P. 513.
- [117] Traub R. D., et al. A branching dendritic model of a rodent ca3 pyramidal neurone // *J. Physiol.*– 1994. – V. 481. – P. 79.
- [118] Vladimirov N., et al. Synaptic gating at axonal branches, and sharp-wave ripples with replay: a simulation study. // *Eur. J. Neurosci.* – 2013. – V. 34. – P. 3435.
- [119] Santhakumar V., Aradi I., Soltesz I. Role of mossy fiber sprouting and mossy cell loss in hyperexcitability: A network model of the dentate gyrus incorporating cell types and axonal topography // *Neurophysiology.* – 2005. – V. 93. – P. 437.
- [120] Cutsuridis V., Poirazi, P. A computational study on how theta modulated inhibition can account for the long temporal windows in the entorhinal–

- hippocampal loop. // *Neurobiology of Learning and Memory*. – 2015. – V. 120. – P. 69–83.
- [121] Carnevale N. T., Hines M. L., *The NEURON book*. – Cambridge University Press, New York. – 2005.
- [122] Ropireddy D., et al. Non-homogeneous stereological properties of the rat hippocampus from high-resolution 3D serial reconstruction of thin histological sections. // *NSC* – 2012. – V. 205. – P. 91–111.
- [123] Grady M. S., et al. Neuronal and Glial Cell Number in the Hippocampus after Experimental Traumatic Brain Injury: Analysis by Stereological Estimation. // *Journal of Neurotrauma*. – 2003. – V. 20(10). – P. 929–941.
- [124] Kafa I. M., et al. Morphometric Investigation of Neurons in the Hippocampal CA1, CA3 Areas and Dentate Gyrus in a Rat Model of Sepsis // *Morphology*. – 2010. – V. 28(1). – P. 183-192.
- [125] Rezaee M., et al. Correlation between energy deposition and molecular damage from Auger electrons: A case study of ultra-low energy (5-18 eV) electron interactions with DNA // *Med Phys*. — 2014. — V. 41. — P. 072502.
- [126] Simons J. How Do Low-Energy (0.1–2 eV) Electrons Cause DNA-Strand Breaks? // *Accounts of Chemical Research*. – 2006. – 39(10). – P. 772–779.
- [127] Carlson D. J., et al. Combined use of Monte Carlo DNA damage simulations and deterministic repair models to examine putative mechanisms of cell killing // *Radiat. Res*. – 2008. – V. 169. – P. 447–459.
- [128] Ballarini F. From DNA Radiation Damage to Cell Death: Theoretical Approaches // *Journal of Nucleic Acids*. – 2010. – P. 1–8.
- [129] Mc Mahon S. J., et al. A general mechanistic model enables predictions of the biological effectiveness of different qualities of radiation // *Sci. Rep*. – 2017. – V. 7. – P. 10790.
- [130] Wang W., et al. Modelling of cellular survival following radiation-induced DNA double-strand breaks // *Sci. Rep*. – 2018. – V. 8. – P. 16202.

- [131] Adam G., et al. IT-ecosystem of the HybriLIT heterogeneous platform for high-performance computing and training of IT specialists // CEUR Workshop Proceedings. —2018. — P. 638—644.
- [132] Hirayama R., et al. Contributions of Direct and Indirect Actions in Cell Killing by High-LET Radiations // Radiat Res. – 2009. – V. 171. – P. 212–218.
- [133] Bulanova T. S., Boreyko, A. V., Zadneprianetc, M. G., Krasavin, E. A., Kulikova, E. A., Smirnova, E. V., Severiukhin, Y. S., Timoshenko, G. N. Formation of DNA Double-Strand Breaks in Rat Brain Neurons after Irradiation with Krypton Ions ( $^{78}\text{Kr}$ ) // Phys. Part. Nuclei Lett. — 2019. — V. 16. — P. 402.
- [134] Boreyko A. V., Bugay, A. N., Bulanova, T. S., Dushanov, E. B., Jezkova, L., Kulikova, E. A., Smirnova, E. V., Zadneprianetc, M. G., Krasavin, E. A. Clustered DNA double-strand breaks and neuroradiobiological effects of accelerated charged particles // Phys. Part. Nucl. Lett. — 2018. — V.15. — P.551.
- [135] Batova A. S., Bugay A. N., Dushanov E. B. Effect of mutant NMDA receptors on the oscillations in a model of hippocampus // J. Bioinf. and Comp. Biol. — 2019. — V. 17. — P.1940003
- [136] Rosales D. F. et al. Accounting for radiation-induced indirect damage on DNA with the Geant 4-DNA code // Physica Medica. – 2018. – V. 51. – P. 108–116.
- [137] Lampe N., et al. Mechanistic dna damage simulations in geant4-DNA part 2: Electron and proton damage in a bacterial cell // Phys Med. – 2018. – V. 48. – P. 146.
- [138] Alp M., et al. Irradiation of Neurons with High-Energy Charged Particles: An In Silico Modeling Approach // PLoS Comput Biol. — 2015. — V.11. — P.e1004428.
- [139] Alp M., et al. Biophysics Model of Heavy-Ion Degradation of Neuron Morphology in Mouse Hippocampal Granular Cell Layer Neurons // Radiat Res. – 2018. – V.189. – P.312.
- [140] Cacao E., et al. Modeling heavy-ion impairment of hippocampal neurogenesis after acute and fractionated irradiation // Radiat Res. – 2016. – V. 186. – P. 624.



- [141] Schneider C. J., Bezaire M., Soltesz I. Toward a full-scale computational model of the rat dentate gyrus // *Front Neural Circuits*. – 2012. – V. 6. – P. 83.
- [142] Sokolova I. V., et al. Proton radiation alters intrinsic and synaptic properties of CA1 pyramidal neurons of the mouse hippocampus // *Radiat Res*. – 2015. – V. 183. – P. 208.
- [143] Koleske A. J. Molecular mechanisms of dendrite stability // *Nat Rev Neurosci* – 2013. – V. 14. – P. 536–50.
- [144] Sekino Y., Kojima N., Shirao T. Role of actin cytoskeleton in dendritic spine morphogenesis // *Neurochem Int*. – 2007. – V. 51. – P. 92–104.
- [145] Kreipl M. S., Friedland W., Paretzke HG. Time- and space-resolved Monte Carlo study of water radiolysis for photon, electron and ion irradiation // *Radiat Environ Biophys*. – 2009. – V. 48. – P. 11–20.
- [146] Plante I. A. Monte-Carlo step-by-step simulation code of the non-homogeneous chemistry of the radiolysis of water and aqueous solutions—Part II: calculation of radiolytic yields under different conditions of LET, pH, and temperature // *Radiat Environ Biophys*. – 2011. – V. 50. – P. 405–15.
- [147] Hall E., Giaccia A. *Radiobiology for the radiologist*. // 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; – 2006.
- [148] Benderitter M., et al. The cell membrane as a biosensor of oxidative stress induced by radiation exposure: a multiparameter investigation // *Radiat Res*. – 2003. – V. 159. – P. 471–83.
- [149] Corre I., Niaudet C., Paris F. Plasma membrane signaling induced by ionizing radiation // *Mutat Res Rev* – 2010. – V. 704. – P. 61–7.
- [150] Reisz J. A, et al. Effects of ionizing radiation on biological molecules-mechanisms of damage and emerging methods of detection // *Antioxid Redox Signal*. – 2014. – V. 21. – P. 260–92.
- [151] Kamat P. K., et al. Mechanism of oxidative stress and synapse dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's Disease: understanding the therapeutics strategies // *Mol Neurobiol*. – 2016. – V. 53. – P. 648–61.

- [152] Matveeva M. I., et al. The effects of irradiation by  $^{12}\text{C}$  carbon ions on monoamine exchange in several rat brain structures // *Neurochem. J.* – 2013. – V. 7. – P. 303.
- [153] Belokopytova K.V., et al. The dynamics of monoamine metabolism in rat brain structures in the late period after exposure to accelerated carbon ions // *Neurochem. J.* – 2016. – V. 10. – P. 137–43.
- [154] Fibiger H. C., Phillips A. G. Reward, motivation, cognition: psychobiology of mesotelencephalic dopamine systems // *Handbook of physiology: the nervous system*, Bethesda MD: American Physiological Society. – 1986. V. 4. – P. 647.
- [155] Wrona M. Z., Dryhurst G. Oxidation of serotonin by superoxide radical: implications to neurodegenerative brain disorders // *Chem. Res. Toxicol.* – 1998. – V. 11. – P. 639–50.
- [156] Volicer L., Chen J. C., Crino P. B., Vogt B. A., Fishman J., Rubins J., Schenepfer P. W., Wolfe N. Neurotoxic properties of a serotonin oxidation product: possible role in Alzheimer's disease // *Prog. Clin. Biol. Res.* – 1989. – V. 317. – P. 453–65.

## Приложение

### A.1 Структура приложения «neuron» в Geant4 и формата SWC

В приложении были реализованы следующие основные классы и файлы:

**neuron.cc** – основная часть программы (Посмотрите ниже листинг A.1)

**NeuronLoadDataFile.hh/cc** – новый класс (библиотека), который позволяет использовать описание реальной геометрии нейрона в формате SWC (см. листинг A.2). В этом случае \*.hh и \*.cc обеспечивают заголовок и исходный код данного класса C++.

**DetectorConstruction.hh/cc** – в этом классе задается геометрия системы и используемые материалы. Кроме того, геометрия Мира включает в себя все моделирование (см. листинг A.3).

**PhysicsList.hh/cc** – в этом классе используемые частицы, физика процессов и обрезка параметров, и физическая взаимодействия и химическая реакция в которых они участвуют (см. листинг A.4).

**PrimaryGeneratorAction.hh/cc** – в этом классе создаются первичные частицы – задается их тип, направление движения, энергия и т.д (см. листинг A.5).

**SteppingAction.hh/cc** – позволяет задать действия выполняемые на каждом шаге движения частиц и управления попаданием частицы в структуру нейрона (см. листинг A.6).

**RunAction.hh/cc** (**Run.hh/cc**) – позволяет задать действия в начале и в конце каждого запуска. Обычно используют для того, чтобы открыть/закрыть файлы в которые будут сохраняться результаты моделирования (см. листинг A.7). В листинге A.7 также описан дополнительный ROOT код для анализа результатов в нейронных компартаментах.

**EventAction.hh/cc** – позволяет задать действия в начале и в конце каждого события. Обычно используется для инициализации/сохранения гистограмм и первичного анализа.

**StackingAction.hh/cc** – позволяет задать действия в момент появления вторичных частиц.

**TrackingAction.hh/cc** – позволяет задать действия при начале/завершении движения частицы. Используют, например, для получения такой информации, как длинна трека частицы;

**TimeStepAction.hh/cc** – Этот класс используется для управления этапами химической диффузии и также записывается в выходной файл для химической стадии. Это также позволяет получить доступ к информации, связанная с реакциями, происходящими на этом этапе.

Таблица 5 – Стандартный формат SWC для моделирования морфологии нейронов в Geant4.

Столбец	Обознач.	Тип	Описание
0	Заголовок	G4String	Заголовок содержит следующую информацию: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Область мозга (слой, расположение)</li> <li>- Тип клетки</li> <li>- Имя_архива, организация (опубликованные данные)</li> <li>- Имя файла исходных данных (RAW и дополнительные файлы)</li> <li>- Площадь сома (в <math>\mu\text{m}^2</math>)</li> <li>- поправочные коэффициенты <math>x</math>, <math>y</math> и <math>z</math></li> <li>- Тип файла и дата создания (гггг – мм – дд)</li> </ul>
1	ID	G4int	Метка, определяющая текущую точку / структуру. Родительский компонент (первая точка в каждом файле) всегда имеет значение -1. Обычно все деревья происходят от сомы.
2	Тип	G4int	Разные числовые маркеры описывают разные типы точек трассировки, определяющих компоненты нейрона: 0 - не определено 1 - сома 2 - аксон 3 - базальный дендрит 4 - апикальный дендрит 5+ - кастом (вилки/шипика и терминалы)
3	$x$	G4double	« $x$ », « $y$ », « $z$ » - пространственные трехмерные
4	$y$	G4double	координаты в микрометрах.
5	$z$	G4double	«радиус» - половина толщины структуры, также
6	Радиус	G4double	выраженная в микрометрах.
7	ID связь	G4int	Связность выражается этим значением. Родительские образцы должны появляться перед дочерними образцами.

Таблица 6 – Основные\* физические процессы модели Geant4, реализующий электромагнитные взаимодействия при прохождении первичных и вторичных частиц через нейроны.

Частица	Взаимодействие, диапазон энергии	Модель
$e^-$	ионизация $\geq 1\text{МэВ}$ 10 кэВ – 1 МэВ 10 эВ – 10 кэВ	Moller-Bhabha [97] Born [98] Emfietzoglou [98]
	возбуждение 10 кэВ – 1 МэВ 8 эВ – 10 кэВ	Born [98] Emfietzoglou [98]
	упругое рассеяние 0.025 эВ – 1 МэВ	Champion [99]
	многократное рассеяние	Urban [97]
$^1_1\text{H}$ , $^4_2\text{He}$ , $^7_3\text{Li}$ , $^9_4\text{Be}$ , $^{11}_5\text{B}$ , $^{12}_6\text{C}$ , $^{14}_7\text{N}$ , $^{16}_8\text{O}$ , $^{28}_{14}\text{Si}$ , $^{56}_{26}\text{Fe}$	ионизация 1-1000 МэВ/нук	Rudd [102]
	многократное рассеяние	Urban [97]

\*остальные физические процессы для фотонов и других частиц определены набором физических процессов QGSP\_BIC\_HP в Geant4 [96].

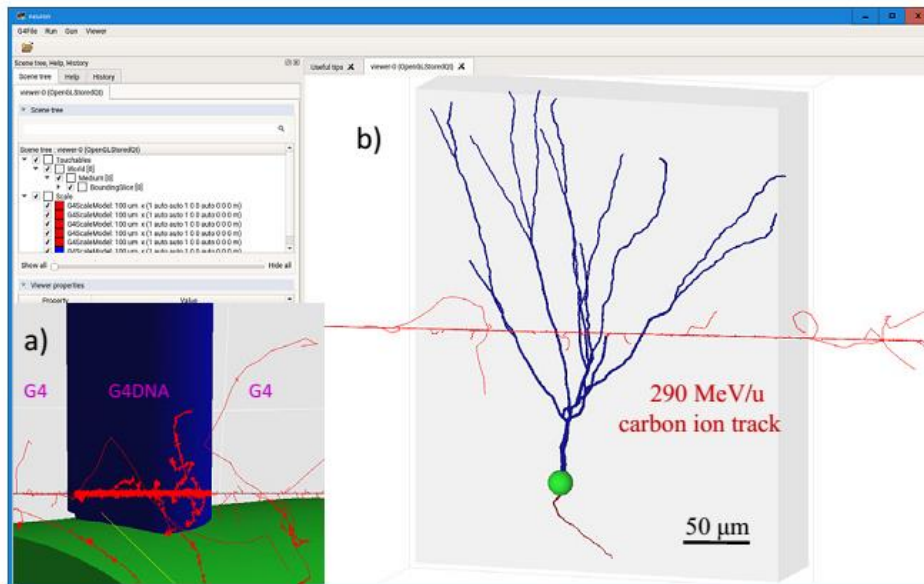


Рисунок А.1 – Скриншот приложения «neuron» в Geant4 с графическим интерфейсом Qt: (а) – демонстрация электромагнитных моделей Geant4 и Geant4-DNA снаружи и внутри структуры клетки. (б) – облучение одиночной гранулярной клетки треком частиц.

## A.2 Листинги программного кода

Листинг А.1 – *Основная программа (исходный код): neuron.cc*

```

/// \file neuron.cc
/// \brief Implementation of the neuron example
//
//....ooo00000ooo.....ooo00000ooo.....ooo00000ooo.....ooo00000ooo....
#include "G4Types.hh"
#include "G4RunManagerFactory.hh"
#include "G4DNACheckerManager.hh"
#include "G4Timer.hh"
#include "G4UIManager.hh"
#include "G4UIExecutive.hh"
#include "G4VisExecutive.hh"
#include "CommandLineParser.hh"
#include "ActionInitialization.hh"
#include "DetectorConstruction.hh"
#include "PhysicsList.hh"

//....ooo00000ooo.....ooo00000ooo.....ooo00000ooo.....ooo00000ooo.....

using namespace std;
using namespace G4DNAPARSER;
CommandLineParser* parser(0);

void Parse(int& argc, char** argv);

int main(int argc, char** argv)
{
    // run time in Geant4
    G4Timer *timer = new G4Timer();
    timer->Start();

    ////////////
    // Parse options given in commandLine
    //
    Parse(argc, argv);

```

```

Command* commandLine(0);

auto* runManager= G4RunManagerFactory::CreateRunManager();
if ((commandLine = parser->GetCommandIfActive("-mt"))
{
    int nThreads = 2;
    if(commandLine->GetOption() == "NMAX")
    {
        nThreads = G4Threading::G4GetNumberOfCores();
    }
    else
    {
        nThreads = G4UIcommand::ConvertToInt(commandLine->GetOption());
    }
    runManager->SetNumberOfThreads(nThreads);

    G4cout << "==== neuron is started with "
        << runManager->GetNumberOfThreads()
        << " threads of MT MODE =====" << G4endl;
}

// Set mandatory user initialization classes
DetectorConstruction* detector = new DetectorConstruction;
runManager->SetUserInitialization(detector);
runManager->SetUserInitialization(new PhysicsList);

// User action initialization
runManager->SetUserInitialization(new ActionInitialization(detector));

// Initialize G4 kernel
runManager->Initialize();

// Initialize visualization
G4VisManager* visManager = new G4VisExecutive;
visManager->Initialize();

// Get the pointer to the User Interface manager
G4UImanager* UImanager = G4UImanager::GetUIpointer();
G4UIExecutive* ui(0);

// interactive mode : define UI session
if ((commandLine = parser->GetCommandIfActive("-gui"))
{
    ui = new G4UIExecutive(argc, argv,
        commandLine->GetOption());
}

```

Листинг А.2 – *Основной код библиотеки геометрии: NeuronLoadDataFile.cc*

```

/// \file NeuronLoadDataFile.cc
/// \brief Implementation of the NeuronLoadDataFile class

#include "NeuronLoadDataFile.hh"
// #include "NeuronLoadMessenger.hh"
#include "G4VPhysicalVolume.hh"
#include "G4LogicalVolume.hh"
#include "G4SystemOfUnits.hh"
#include "G4UnitsTable.hh"
#include "G4PhysicalConstants.hh"
#include "G4Colour.hh"
#include "G4VisAttributes.hh"
#include "G4RotationMatrix.hh"
#include "G4ios.hh"
#include <algorithm>
#include <fstream>
#include <iostream>
#include <limits>
#include <cmath>
#include <sstream>
#include <string>
#include <stdlib.h>
// define if the program is running with Geant4
#define GEANT4
#ifdef GEANT4
// Specific to Geant4, globals.hh is used for G4cout
#include "globals.hh"
#endif
#include "CommandLineParser.hh"
#include "G4UImanager.hh"

using namespace std;
using namespace G4DNAPARSER;

//...ooo0000ooo.....ooo0000ooo.....ooo0000ooo.....ooo0000ooo.....

NeuronLoadDataFile::NeuronLoadDataFile()
{
    //CommandLineParser* parser = CommandLineParser::GetParser();
    Command* commandLine(0);

    // 1. Load single neuron morphology and obtain parameters.
    // Default SWC file name of neuron
    fNeuronFileNameSWC = G4String("GranuleCell-Nr2.CNG.swc");

```



```

// Load/change SWC or DAT as "CommandLineParser" class
if((commandLine=CommandLineParser::GetParser()->GetCommandIfActive("-swc")))
{
    fNeuronFileNameSWC = G4String(commandLine->GetOption());
    SingleNeuronSWCfile(fNeuronFileNameSWC);
}
if ((commandLine =CommandLineParser::GetParser()->
    GetCommandIfActive("-network"))
{
    fNeuronFileNameDATA = G4String(commandLine->GetOption());
    NeuralNetworkDATAfile(fNeuronFileNameDATA);
}
else
{
    SingleNeuronSWCfile(fNeuronFileNameSWC);
}

```

```

// to read datafile containing numbers, alphabets and symbols..
while (getline(infile, sLine))
{
    std::istringstream form(sLine);
    G4String token;
    while (getline(form, token, ':'))
    {
        std::istringstream found(token);
        while (found >> nNcomp >> typeNcomp >> x >> y >> z >> radius >> pNcomp)
        {

```

```

// Euler angles of each compartment
G4ThreeVector directionDend = G4ThreeVector(Dendx,Dendy,Dendz);
G4double theta_eulerDend = directionDend.theta();
G4double phi_eulerDend = directionDend.phi();
G4double psi_eulerDend = 0;

//Rotation Matrix, Euler constructor build inverse matrix.
G4RotationMatrix rotmDendInv = G4RotationMatrix(
    phi_eulerDend+pi/2,
    theta_eulerDend,
    psi_eulerDend);
G4RotationMatrix rotmDend = rotmDendInv.inverse();

```

```

void NeuronLoadDataFile::ComputeDimensions
(G4Tubs& fcyylinderComp, const G4int copyNo, const G4VPhysicalVolume*) const
{
    fcyylinderComp.SetInnerRadius(0*um);
    fcyylinderComp.SetOuterRadius(fRadNeuroncomp[copyNo]*um);
    fcyylinderComp.SetZHalfLength(fHeightNeuroncomp[copyNo]*um /2.);
    fcyylinderComp.SetStartPhiAngle(0.*deg);
    fcyylinderComp.SetDeltaPhiAngle(360.*deg);
}

```

```

//....ooo0000ooo.....ooo0000ooo.....ooo0000ooo.....ooo0000ooo.....

```

Листинг А.3 – *Основной код детектора: DetectorConstruction.cc*

```

G4VPhysicalVolume* DetectorConstruction::Construct()
{
    // load Neuron positions and obtain parameters!
    fNeuronLoadParamz = new NeuronLoadDataFile() ;

    DefineMaterials();
    return ConstructDetector();
}

void DetectorConstruction::DefineMaterials()
{
    // Water is defined from NIST material database
    G4NistManager * man = G4NistManager::Instance();
    G4Material * H2O = man->FindOrBuildMaterial("G4_WATER");
    // Default materials in setup.
    fpWaterMaterial = H2O;
    G4Material * Vacuum = man->FindOrBuildMaterial("G4 Galactiс");

    // Active Geant4-DNA processes in this region
    fpRegion = new G4Region("Dendrites");

    fnbDendritecomp = fNeuronLoadParamz->GetnbDendritecomp() ;
    fMassDendTot = fNeuronLoadParamz->GetMassDendTot() ;
    fMassDendcomp = new G4double[fnbDendritecomp];
    fDistADendSoma = new G4double[fnbDendritecomp];
    fDistBDendSoma = new G4double[fnbDendritecomp];
    fPosDendcomp = new G4ThreeVector[fnbDendritecomp];
    if (fNeuronLoadParamz->GetnbDendritecomp()==0)
    {
        G4cout <<" ---- Dendrites not found! ---- "<< G4endl;
    }
    else
    {
        G4cout <<" ---- Dendrites for construction: ---- "<< G4endl;
    }
}

```

Листинг А.4 – *Основной код физических процессов: PhysicsList.cc*

```

void PhysicsList::ConstructParticle()
{
    if(fEmPhysicsList)      { fEmPhysicsList->ConstructParticle(); }
    if(fDNAActivator)      { fDNAActivator->ConstructParticle(); }
    if(fEmDNAChemistryList) { fEmDNAChemistryList->ConstructParticle(); }
    if(fEmDNAChemistryList1) { fEmDNAChemistryList1->ConstructParticle(); }
    G4VModularPhysicsList::ConstructParticle();
}

//...ooo00000ooo.....ooo00000ooo.....ooo00000ooo.....ooo00000ooo.....

void PhysicsList::ConstructProcess()
{
    if(fEmPhysicsList)      { fEmPhysicsList->ConstructProcess(); }
    if(fDNAActivator)      { fDNAActivator->ConstructProcess(); }
    if(fEmDNAChemistryList) { fEmDNAChemistryList->ConstructProcess(); }
    if(fEmDNAChemistryList1) { fEmDNAChemistryList1->ConstructProcess(); }
    G4VModularPhysicsList::ConstructProcess();
}

if(CommandLineParser::GetParser()->GetCommandIfActive("-dnachemON"))
{
    G4cout<< "DNAChemistry is activated!"<<G4endl;
    RegisterPhysics(new G4EmDNAChemistry());
}

// d) "QGSP_BIC_EMY" package from hadrontherapy advanced example
if(CommandLineParser::GetParser()->GetCommandIfActive("-dnahad"))
{
    G4cout << "QGSP_BIC is activated!"<<G4endl;
    RegisterConstructor("QGSP_BIC");
    fHadronic = true;
}

```

Листинг А.5 – *Основной код падающих частиц: PrimaryGenerationAction.cc*

```

// c) Partilces directed towards the bounding slice (default option!)
// Select a starting position on a sphere including the
// target volume and neuron morphology
else
{
//G4cerr << " Initial beam position uniformly spread on a sphere! "<< G4endl;
G4double cosTheta = 2.*G4UniformRand()-1;
G4double sinTheta = std::sqrt(1.-cosTheta*cosTheta);
G4double phi = twopi*G4UniformRand();
G4ThreeVector positionStart(mediumRadius*sinTheta*std::cos(phi),
    mediumRadius*sinTheta*std::sin(phi),
    mediumRadius*cosTheta);
fpParticleGun->SetParticlePosition(positionStart);
// To compute the direction, select a point inside the target volume
G4ThreeVector positionDir(
    boundingXHalfLength*(2.*G4UniformRand()-1),
    boundingYHalfLength*(2.*G4UniformRand()-1),
    boundingZHalfLength*(2.*G4UniformRand()-1));
fpParticleGun->SetParticleMomentumDirection(
    (positionDir-positionStart).unit());
// Surface area of sphere
fGunArea = 4.*pi*mediumRadius*mediumRadius ;
// G4cerr << " Particle Fluence Area on sphere (um2) = "
// <<fGunArea / (um*um)<< G4endl;
}

```

Листинг А.6 – *Основной код управления попаданием частицы в структуру нейрона: SteppingAction.cc*

```

// Edep in Soma
if (volumeStep->GetName() == "Soma")
{
    fRunAction->AddEdepSoma(edepStep);
// fRunAction->AddSomaCompart(touchStep->GetCopyNumber(), edepStep);
run->AddSomaCompart(touchStep->GetCopyNumber(), edepStep);
}

// Edep in Dendrites
if (volumeStep->GetName() == "Dendrites")
{
    fRunAction->AddEdepDend(edepStep);
run->AddDendCompart(touchStep->GetCopyNumber(), edepStep);
}

// Edep in Axon
if (volumeStep->GetName() == "Axon")
{
    fRunAction->AddEdepAxon(edepStep);
run->AddAxonCompart(touchStep->GetCopyNumber(), edepStep);
}

```

Листинг А.7 – Основной код для анализа результатов: Run.cc и PlotDend.C

```

//frequency of processes in all volume
//
G4cout << "\n List of generated physical process:" << G4endl;

G4int index = 0;
std::map<G4String,G4int>::iterator it;
for (it = fProcCounter.begin(); it != fProcCounter.end(); it++) {
    G4String procName = it->first;
    G4int count = it->second;
    G4String space = " "; if (++index%1 == 0) space = "\n";
    G4cout << " " << std::setw(20) << procName << "=" << std::setw(7) << count
        << space;
}
G4cout << G4endl;

```

```

std::map<G4String,ParticleData>::iterator itc;
for (itc = fParticleDataMap1.begin(); itc != fParticleDataMap1.end(); itc++) {
    G4String name = itc->first;
    ParticleData data = itc->second;
    G4int count = data.fCount;
    G4double eMean = data.fEmean/count;
    G4double eMin = data.fEmin;
    G4double eMax = data.fEmax;
    //-----> secondary particles flux
    G4double Eflow = data.fEmean/TotNbofEvents;

    G4cout << " " << std::setw(13) << name << " : " << std::setw(7) << count
        << " Emean = " << std::setw(wid) << G4BestUnit(eMean, "Energy")
        << "\t( " << G4BestUnit(eMin, "Energy")
        << " --> " << G4BestUnit(eMax, "Energy")
        << ") \tEflow/event = " << G4BestUnit(Eflow, "Energy")
    << G4endl;
}

```

```

// *****
// To execute this macro under ROOT,
// launch ROOT (usually type 'root' at your machine's prompt)
// This macro needs Dend3DEdep.out file :
// *****
{
gROOT->Reset();
gStyle->SetOptStat(0000);

c1 = new TCanvas ("c1", "", 20, 20, 1200, 600);
c1->Divide(2,1); |

Int_t ncols=0;
Int_t nlines = 0;

FILE * fp = fopen("Dend3DEdep.out", "r");
Float_t posX, posY, posZ ;
Float_t distB, distA, EdepR, DoseR;

```

### А.3 Набор расширенных команд, управляющих моделированием

Кинематика первичной частицы состоит из одной или нескольких частиц, начинающихся в случайных положениях на поверхности сферы. Затем частица направляется к ограничивающему объему среза и проходит через отдельные нейроны (опция по умолчанию). Тип частицы и ее энергия задаются в классе *PrimaryGeneratorAction* и могут быть изменены с помощью макрос-команд. Мы включили следующие варианты направлений частиц:

а) Частицы направляются в «квадрат» на плоскости XY ограничивающего среза (или YZ, XZ).

```
./neuron -mac myMacro.mac -sXY
```

б) Частицы направляются к «диску» на плоскости XY ограничивающего среза (или YZ, XZ).

```
./neuron -mac myMacro.mac -dXY
```

в) Частицы направляются к ограничивающему срезу (опция по умолчанию)

```
./neuron -mac myMacro.mac
```

В этом случае, модели Geant4-DNA (физические и химические процессы) были активированы внутри структуры нейрона, которая объявлена как *G4Region*. Модели конденсированной физики Geant4 (электромагнитные и адронные процессы) использовались вне структуры нейронов

а) Geant4 (*G4EmStandardPhysics*) + Geant4-DNA (*G4EmDNAPhysics*) с расширенной моделью ионизации Радда.

```
./neuron -mac myMacro.mac -dnaliv
```

б) Geant4 (*G4EmLivermorePhysics*) + Geant4-DNA (*G4EmDNAPhysics*) с включенной химической стадией

```
./neuron -mac myMacro.mac -dnachemON
```

в) Geant4 (*G4EmLivermorePhysics*) + Geant4-DNA (*G4EmDNAPhysics*) с физикой адронов.

```
./neuron -mac myMacro.mac -dnahad
```

Примечание, это требует больше памяти или вычислительных ресурсов, когда реакции радиохимии включены (б), а также долгое время вычислений, когда активируется Geant4-DNA. И наоборот, по умолчанию (Стандартная физическая модель: *./neuron -mac myMacro.mac*) он может работать быстрее.

Код может быть скомпилирован с помощью *CMake* (GCC/C++) и работает в режиме МТ (*MultiThreaded*– параллельных вычислений). Чтобы получить помощь, запустите:

```
> ./neuron -h
```

В визуализации и интерактивном режиме запустите (OpenGL используется по умолчанию):

```
> ./neuron -gui
```

В пакетном режиме (batch mode) запустите:

```
> ./neuron(.exe) [-mac neuron.in] [-mt numberOfThreads]
```

```
> ./neuron -mac ./neuron.in -mt 3 > neuron.out
```

Пользователь может начать визуализацию эволюции химического трека во времени и пространстве с помощью *SetEndTime* (по умолчанию 10 пс) и настройки *SetVerbose* в файле *src/ActionInitialization.cc*.

По умолчанию установлено моделирование одиночного нейрона (*> ./neuron -swc FileName.swc*). Чтобы переключить симуляцию на нейронную сеть, необходимо использовать следующую команду: *> ./neuron -network FileName.dat*

Основные выходные результаты сохраняются в файле *OutputPerEvent.out*, содержащем для каждого события. Файлы *Dend3DEdep.out*, *Axon3DEdep.out* и *Soma3DEdep.out*. Эти файлы можно проанализировать, используя, например, предоставленный файл макросов ROOT *plotDend.C*.

#### А.4 Структура выходного файла и расширение формата PDB.

Таблица 6 – Структура выходного файла из Geant4 моделирования взаимодействия излучения с NMDA-рецептором, адаптированная в формат файла PDB.

Столбец	Обозначение	Тип данных	Значение данных
0	Заголовок	G4String	Заголовок содержит следующую информацию: - Имя, кинетическая энергия и начальное направление падающей частицы. - тип и название молекулы, детали эксперимента, разрешение, водородные связи, количество атомов и аминокислот, и др.
1	Ключевое слово	G4String	Строки «АТОМ» используются для описания атомов макромолекул – белков и нуклеиновых кислот; «НЕТАТМ» – это атомы других соединений, обычно низкомолекулярных, находящихся в комплексе с макромолекулой либо просто присутствующих в составе структуры (как молекулы воды).
2	Номер атома	G4int	Серийный номер атома.
3	Элемент	G4String	Идентичность атома (элемент) и положение элемента в аминокислоте.
4	Остаток	G4String	Название аминокислоты, каждый остаток состоит из нескольких атомов (элементов).
5	Цепь	G4String	Цепь (субъединица) описывает последовательность связанных остатков (аминокислотов).
6	Номер остатка	G4int	Порядковый номер остатка (аминокислота).
7	$x$	G4double	« $x$ », « $y$ », « $z$ » - координаты событий физического взаимодействия (энерговыведение) с атомами NMDA-рецептора в единицах Ангстремов.
8	$y$	G4double	
9	$z$	G4double	
10	Энергия	G4double	Энерговыведение в единицах эВ.
11	Расстояние	G4double	Расстояние между положениями атомов и энерговыведениями в единицах Ангстремов
12	Радиус	G4double	Радиус атомов (Ван-дер-Ваальса) в единицах Ангстремов.
13	$x$	G4double	« $x$ », « $y$ », « $z$ » - пространственные трехмерные координаты атомов, вызванные энерговыведениями в единицах Ангстремов.
14	$y$	G4double	
15	$z$	G4double	
16	$P_x$	G4double	
17	$P_y$	G4double	



---

18	<i>Pz</i>	G4double	«Px», «Py», «Pz» - передача импульса частицы в событиях взаимодействия в единицах amu·Ang/ps.
19	<i>Процессы</i>	G4String	Название физических процессов при каждом событии взаимодействия
20	<i>Радикалы</i>	G4String	Название продуктов радиолиза воды.
21	<i>x</i>	G4double	«x», «y», «z» - координаты событий химической
22	<i>y</i>	G4double	реакции (продуктов радиолиза воды) вблизи
23	<i>z</i>	G4double	молекул NMDA в единицах Ангстремов.

---

### А.5 Физические параметры и выходные данные

Таблица 9 – Параметры функции  $f(\varepsilon) = a_0 + \sum_{n=1}^6 a_n \varepsilon^n$  для микрораспределения энерговыведения.

Parameter	Value				
	$^{12}\text{C}$ , 290 MeV/u, 0.2 Gy	$^{12}\text{C}$ , 290 MeV/u, 2 Gy	$^{12}\text{C}$ , 500 MeV/u, 1 Gy	$^{56}\text{Fe}$ , 1000 MeV/u, 1 Gy	$^{56}\text{Fe}$ , 600 MeV/u, 0.5 Gy
$a_0$	-1.04487	-0.12778	-0.26236	-0.63883	-1.05872
$a_1$	-1.04487	-0.00775	-0.02338	-0.00831	-0.00184
$a_2$	-0.00124	-0.00286	-0.00393	$1.13135 \times 10^{-6}$	$-1.54091 \times 10^{-5}$
$a_3$	$2.63634 \times 10^{-5}$	$5.85926 \times 10^{-5}$	$1.08149 \times 10^{-4}$	$1.00013 \times 10^{-8}$	$2.39278 \times 10^{-8}$
$a_4$	$-1.65337 \times 10^{-7}$	$-4.71263 \times 10^{-7}$	$-1.10194 \times 10^{-6}$	$-7.81692 \times 10^{-12}$	$-1.19133 \times 10^{-11}$
$a_5$	$3.35509 \times 10^{-10}$	$1.72753 \times 10^{-9}$	$4.9239 \times 10^{-9}$	$1.6648 \times 10^{-15}$	$1.93842 \times 10^{-15}$
$a_6$	0.0	$-2.42722 \times 10^{-12}$	$-8.14525 \times 10^{-12}$	0.0	0.0

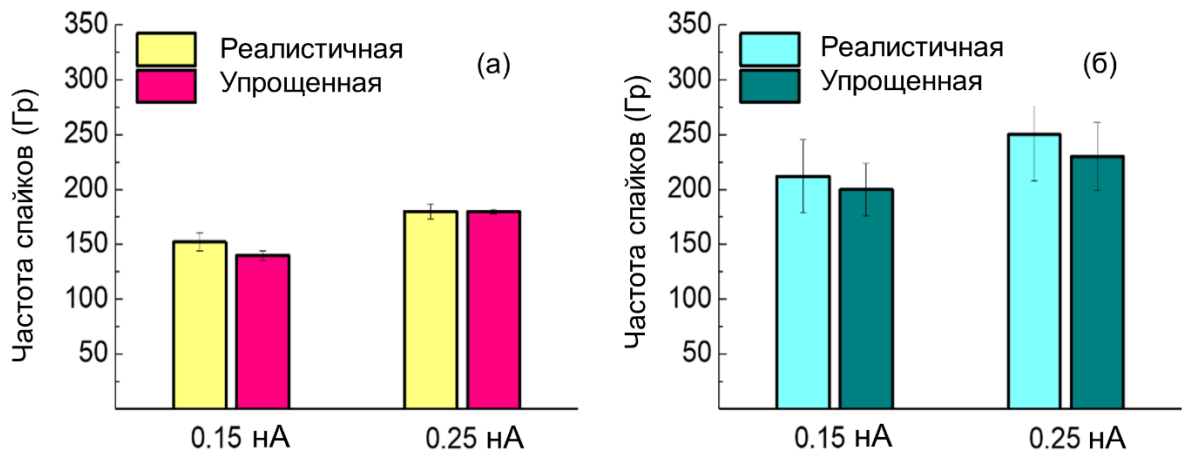


Рисунок А.2 – Частота спайков, возникающих на мембранах реалистичных и упрощенных моделей пирамидного (а) и гранулярного нейрона (б) после стимуляции сомы током 0.15, 0.2, 0.25 нА.

Таблица 11 – Физические параметры ионизирующих излучений и статистика совпадений.

Энергия частиц	ЛПЭ (кэВ/мкм)	Доза на пучок, $D_{\text{beam}}, \pm SD$ (Гр)	Доза, $D$ (Гр)	Количество испытаний, $N_{\text{trials}}$	Количество совпадений частиц, $\bar{N}_{\text{targ}}, \pm SD$	Количество $\delta$ -электронных совпадений, $\bar{N}_{\text{targ}, \delta}, \pm SD$
<b>Протоны (<math>^1\text{H}</math>)</b>						
30 МэВ	1.89	$1.689 \times 10^{-6} \pm 3.2 \times 10^{-9}$	0.1	59179	$8420 \pm 189$	$699 \pm 89$
			0.5	295894	$41930 \pm 210$	$3305 \pm 109$
			1.0	591788	$82820 \pm 250$	$6414 \pm 135$
			1.5	887681	$124921 \pm 569$	$9831 \pm 198$
60 МэВ	1.08	$9.656 \times 10^{-7} \pm 1.1 \times 10^{-10}$	0.1	103563	$14146 \pm 498$	$734 \pm 157$
			0.5	517814	$70633 \pm 632$	$3665 \pm 176$
			1.0	1035630	$140465 \pm 698$	$7253 \pm 182$
			1.5	1553440	$210546 \pm 898$	$10700 \pm 256$
100 МэВ	0.73	$6.527 \times 10^{-7} \pm 2.1 \times 10^{-10}$	0.1	153216	$20236 \pm 540$	$767 \pm 197$
			0.5	766081	$101501 \pm 729$	$3930 \pm 210$
			1.0	1532160	$202009 \pm 824$	$7407 \pm 242$
			1.5	2298240	$303308 \pm 1224$	$10973 \pm 314$
<b>Ионы углерода (<math>^{12}\text{C}</math>)</b>						
11.2 МэВ/нук	150.0	$1.342 \times 10^{-4} \pm 8.6 \times 10^{-7}$	0.1	745	$244 \pm 19$	$145 \pm 19$
			0.5	3728	$1251 \pm 22$	$725 \pm 22$
			1.0	7457	$2501 \pm 27$	$1503 \pm 27$
			1.5	11184	$3700 \pm 56$	$2236 \pm 56$
300 МэВ/нук	12.7	$1.134 \times 10^{-5} \pm 9.6 \times 10^{-8}$	0.1	8840	$1624 \pm 118$	$436 \pm 24$
			0.5	44208	$7935 \pm 134$	$2155 \pm 38$
			1.0	88417	$15727 \pm 145$	$4136 \pm 42$
			1.5	132104	$23317 \pm 264$	$6134 \pm 89$
<b>Ионы железа (<math>^{56}\text{Fe}</math>)</b>						
300 МэВ/нук	237.5	$2.124 \times 10^{-4} \pm 6.2 \times 10^{-7}$	0.1	470	$116 \pm 33$	$60 \pm 33$
			0.5	2355	$614 \pm 36$	$294 \pm 36$
			1.0	4709	$1205 \pm 48$	$569 \pm 48$
			1.5	7064	$1821 \pm 89$	$879 \pm 89$
600 МэВ/нук	172.5	$1.543 \times 10^{-4} \pm 4.3 \times 10^{-7}$	0.1	648	$205 \pm 29$	$120 \pm 29$
			0.5	3242	$1070 \pm 33$	$625 \pm 33$
			1.0	6484	$2083 \pm 41$	$1219 \pm 41$
			1.5	9726	$3209 \pm 84$	$1885 \pm 84$
1000 МэВ/нук	150.0	$1.341 \times 10^{-4} \pm 7.1 \times 10^{-7}$	0.1	745	$286 \pm 31$	$187 \pm 31$
			0.5	3728	$1436 \pm 37$	$901 \pm 37$
			1.0	7457	$2817 \pm 46$	$1833 \pm 34$
			1.5	11184	$4274 \pm 73$	$2772 \pm 73$

## Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю Лаборатории радиационной биологии члену-корреспонденту РАН Е.А. Красавину и научному руководителю диссертации А.Н. Бугаю за интересную тему исследования, поддержку в выполнении работы и помощь при оформлении диссертации.

Автор глубоко признателен своему учителю профессору О. Лхагва (Монгольский государственный университет), а также профессору С. Даваа (Комиссия по ядерной энергии Монголии) за постоянное внимание и всестороннюю поддержку на протяжении всего периода обучения и работы над диссертацией. Следует отметить поддержку рабочего коллектива из ОИЯИ, прежде всего ученого секретаря Лаборатории радиационной биологии И.В. Кошляна, старшего научного сотрудника А.Ю. Пархоменко и начальника Сектора математического моделирования Э.Б. Душанова. Автор выражает благодарность своим соавторам по публикациям, в особенности, О.В. Белову за содействие и помощь в подготовке текстов статей. Также автор благодарит профессора С. Инсенти (координатор Geant4-DNA) за ценные советы при регистрации приложения «neuron» в качестве официального компонента программного пакета Geant4. Дополнительно хочется отметить признательность академику АН Монголии О. Чулуунбаатару (Лаборатория информационных технологий, ОИЯИ) и группе гетерогенной платформы HubyLIT за поддержку при использовании ресурсов суперкомпьютера «Говорун».

Автор благодарит свою семью и друзей за вдохновение, понимание и всестороннюю поддержку.