

КИНЕТИКА РЕПАРАЦИИ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРИ ФОТОННОМ ОБЛУЧЕНИИ

*А. С. Батова^а, Д. Л. Пилинская^{б, 1}, Э. Б. Душанов^{а, б},
Е. А. Насонова^а, А. Н. Бугай^{а, б}*

^а Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

^б Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

Рассмотрено математическое моделирование процесса репарации двунитевых разрывов ДНК, индуцированных редкоизирующим излучением. Проведено математическое моделирование нескольких этапов клеточного ответа на облучение: клеток китайского хомячка линии V79 в стационарной фазе роста культуры на действие рентгеновского излучения 250 кэВ, клеток карциномы человека в экспоненциальной фазе роста культуры на облучение γ -⁶⁰Со. Исследовалась индукция и репарация двунитевых разрывов ДНК и кинетика образования неправильно отрепарированных двунитевых разрывов ДНК. Проведено сравнение полученных модельных данных с экспериментальными значениями.

Mathematical modeling of the repair process of DNA double-strand breaks induced by sparsely ionizing radiation is considered. Mathematical modeling of several stages of the cellular response to irradiation was carried out: Chinese hamster cells of the V79 line in the stationary phase of cell growth to the 250 keV X-ray radiation effect; human carcinoma cells in the exponential phase of cell growth to the 60 keV γ -⁶⁰Co irradiation effect. The induction and repair of DNA double-strand breaks and the kinetics of misrepaired DNA double-strand breaks formation were investigated. The obtained model data are compared with experimental values.

PACS: 87.53.—j; 87.15.Aa; 87.14.Gg

ВВЕДЕНИЕ

Изучение эффектов воздействия редкоизирующего излучения (γ - и рентгеновское излучение) на клетки и ткани является важной задачей радиобиологии, поскольку это излучение имеет высокую проникающую способность и является основой естественного радиационного фона. Наиболее тяжелыми радиационно-индуцированными повреждениями ДНК являются двунитевые разрывы (ДР) ДНК. Неотрепарированные или неправильно репарированные ДР ДНК приводят к образованию хромосомных aberrаций, которые могут быть летальными для клетки. Понимание механизмов репарации ДР необходимо для оценки и прогнозирования дальнейших реакций клетки на облучение. В связи с этим разработка математических моделей кинетики репарации ДР представляется важным инструментом для анализа эффектов действия излучения.

¹E-mail: ladushka_00@mail.ru

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью работы является математическое моделирование индукции и репарации ДР ДНК в клетках млекопитающих. В рамках модели предлагается рассмотреть единый подход к описанию радиационных эффектов для всех типов клеток. Параметры модели [1], описывающие различные биологические конечные точки (репарация ДР, образование хромосомных aberrаций и выживаемость), универсальны и подходят для различных клеточных линий (китайского хомячка, человека, мышей, крыс и т.д.).

Предполагается, что фотонное излучение приводит к образованию числа ДР на клетку, которое линейно зависит от дозы излучения и от размера ДНК в клетке. При подсчете количества начальных ДР для всех типов клеток берется значение 5,738 ДР/Гр/ГБ, которое затем умножается на размер генома [1]. Такая величина позволяет определить начальное число ДР N_0 , которое зависит от дозы излучения:

$$N_0 = 5,738DM_{\text{genom}}, \quad (1)$$

где M_{genom} — размер генома в ГБ (10^9 пар оснований ДНК): для клеток карциномы человека $M_{\text{genom}} = 6,1$ ГБ, китайского хомячка $M_{\text{genom}} = 5,4$ ГБ; D — доза излучения, Гр.

Начальное число ДР также зависит от фазы клеточного цикла. Модель учитывает различное начальное количество ДР вне зависимости от дозы: в фазе G1 начальное количество ДР равно N_0 ; в фазе G2 — $2N_0$. Удвоенное количество ДР во втором случае связано с репликацией ДНК между этими фазами.

Кинетика репарации ДР моделируется с учетом наличия в клетке трех типов репарационных систем, таких как негомологичное соединение концов (НГСК), гомологичная рекомбинация (ГР) и микрогомологичное соединение концов (МГСК). Сочетание ДР с другими видами повреждений ДНК называется сложным ДР, вероятность его образования обозначим p_c . В нормальных клетках НГСК способна репарировать простые ДР на всех стадиях клеточного цикла с вероятностью p_f , сложные разрывы репарируются НГСК в фазе G1 и с помощью ГР или НГСК на более поздних фазах S и G2 с вероятностью p_s . Сложные кластерные повреждения репарируются МГСК с вероятностью p_m . Все пути репарации моделируются как простые экспоненциальные процессы. Для однократного облучения, которое индуцирует N_0 начальных разрывов, количество разрывов $N(t)$ определяется как

$$N(t) = N_0 (p_f e^{-\lambda_f t} + p_s e^{-\lambda_s t} + p_m e^{-\lambda_m t}), \quad (2)$$

где p_c — вероятность образования сложного ДР; p_x — вероятность того, что разрыв будет восстановлен со скоростью λ_x . При появлении более сложных повреждений и включении в работу МГСК x соответствует быстрому $p_f = (1-p_c)(1-p_n)$, медленному $p_s = p_c$ и очень медленному $p_m = (1-p_c)p_n$ этапам репарации в фазе G1. Соответствующие вероятности для фазы G2 обозначены как $p_f = (1-p_c)$, $p_s = p_c(1-p_n)$ и $p_m = p_cp_n$. Численные значения параметров: $p_c = 0,43 \pm 0,02$, $p_n = 0,67 \pm 0,09$, $\lambda_f = 2,1 \pm 0,2$, $\lambda_s = 0,26 \pm 0,02$, $\lambda_m = (0,0084 \pm 0,0015) \text{ ч}^{-1}$ [1].

Появление в клетке неправильно отрепарированных разрывов является основной предпосылкой для возникновения хромосомных aberrаций. В модели общее количество неправильно отрепарированных ДР в момент времени t можно рассчитать как

$$N_{\text{mis}} = (N_0 - N(t))(1 - P_{\text{cor}}), \quad (3)$$

где $P_{\text{сог}}$ — вероятность правильного воссоединения концов ДР. Алгоритм вычисления параметра $P_{\text{сог}}$ подробно описан в работе [1].

Для сравнения расчетов с экспериментальными результатами использовались данные по кинетике воссоединения разрывов хроматина, полученные методом преждевременной конденсации хроматина (ПКХ) на клетках китайского хомячка V79 [2] и клетках карциномы человека (неопубликованные данные). Поскольку в основе разрывов, обнаруживаемых методом ПКХ, лежат радиационно-индуцируемые ДР ДНК [3, 4], кинетика их воссоединения аналогична. Анализ модельной кривой кинетики репарации ДНК и кривой восстановления разрывов ПКХ проведен для нормированных исходных данных.

Экспериментальные данные зависят от числа повреждений согласно формуле

$$X(t) = CN(t), \quad (4)$$

где $C = X(0)/N(0)$ — нормировочный коэффициент.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По формулам (1)–(4) проведено моделирование клеточного ответа на облучение γ -квантами и рентгеновским излучением.

На рис. 1 представлены результаты моделирования кинетики репарации ДР, индуцированных в клетках китайского хомячка V79 рентгеновским излучением в диапазоне доз от 1 до 8 Гр. Расчеты показывают, что в фазе G2 клеточного цикла индуцируется в два раза больше повреждений, чем в фазе G1. Число неправильно восстановленных ДР ДНК (рис. 2) также линейно зависит от дозы облучения.

Результаты сравнения модельных и экспериментальных данных по кинетике репарации разрывов хроматина для клеток китайского хомячка V79 приведены на рис. 3. Как видно из графика, расчетные кривые хорошо согласуются с экспериментальными данными. На вставке представлены результаты, полученные для клеток карциномы молочной железы человека при облучении гамма-квантами. Как видно, наша модель также удовлетворительно описывает экспериментальные данные.

Как было отмечено выше, преимуществом модели является универсальность параметров для всех клеточных линий, а также большой диапазон доз. Благодаря этому

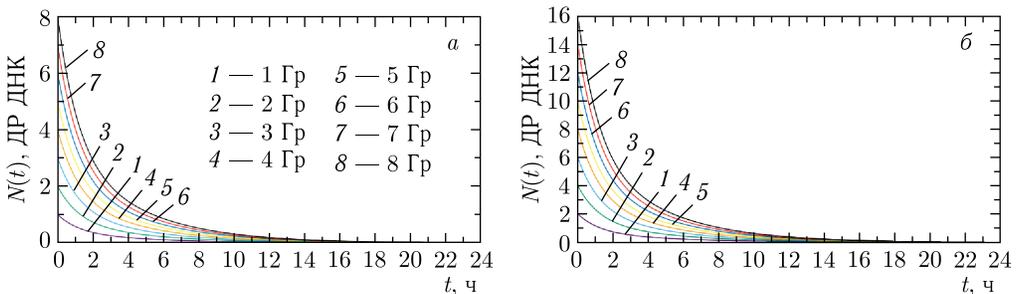


Рис. 1. Кинетика репарации ДР ДНК при облучении культуры клеток китайского хомячка V79 в фазах G1 (а) и G2 (б) клеточного цикла различными дозами рентгеновского излучения

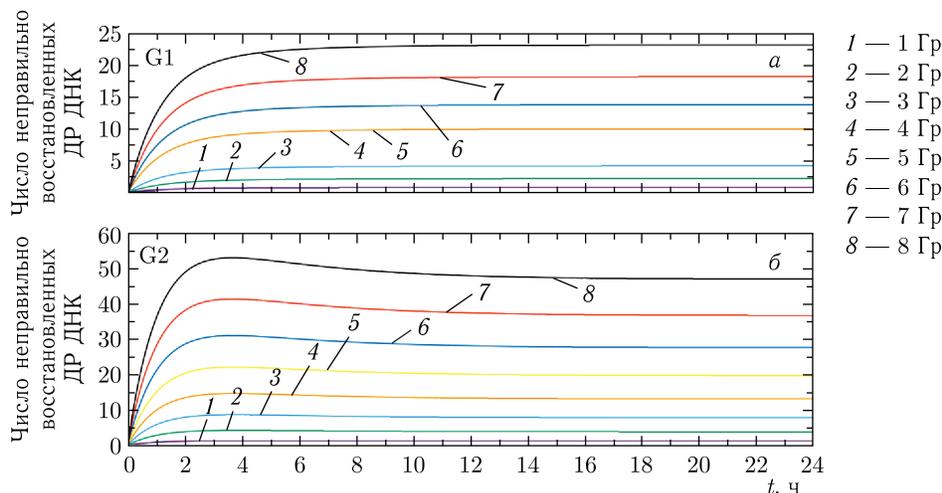


Рис. 2. Число неправильно восстановленных ДР ДНК в G1- (а) и G2- (б) фазах клеточного цикла при облучении культуры клеток китайского хомячка V79 различными дозами рентгеновского излучения

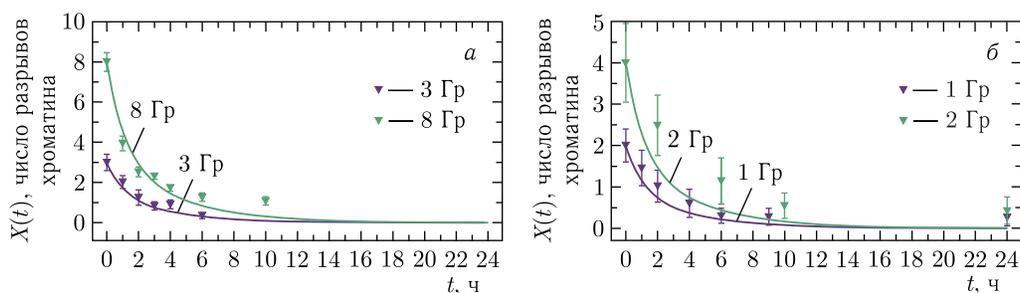


Рис. 3. Сравнение модельных данных (линии) с повреждениями хроматина (треугольники), измеренных методом ПКХ: а) число разрывов хроматина в G1-фазе клеточного цикла при облучении культуры клеток китайского хомячка V79 рентгеновским излучением в дозах 3 и 8 Гр; б) число разрывов хроматина в G2-фазе при облучении культуры клеток карциномы молочной железы человека γ -квантами в дозах 1 и 2 Гр

становится возможен анализ радиочувствительности клеток различных организмов. Хорошее согласование модельных кривых с экспериментальными данными, полученное в настоящей работе, делает возможным прогнозирование клеточного ответа на облучение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McMahon S.J., Prise K.M. A Mechanistic DNA Repair and Survival Model (Medras): Applications to Intrinsic Radiosensitivity, Relative Biological Effectiveness and Dose-Rate // Front. Oncol. 2021. V. 11. P. 689112.

2. *Nasonova E. et al.* Analysis of Ar-Ion and X-Ray-Induced Chromatin Breakage and Repair in V79 Plateau-Phase Cells by the Premature Chromosome Condensation Technique // Intern. J. Rad. Biol. 2001. V. 77, No. 1. P. 59–70.
3. *Wlodek D., Hittelman W. N.* The Relationship of DNA and Chromosome Damage to Survival of Synchronized X-Irradiated L5178Y Cells: II. Repair // Rad. Res. 1988. V. 115, No. 3. P. 566–575.
4. *Iliakis G. et al.* Hypertonic Treatment during Premature Chromosome Condensation Allows Visualization of Interphase Chromosome Breaks Repaired with Fast Kinetics in Irradiated CHO Cells // Rad. Res. 1993. V. 135, No. 2. P. 160–170.

Получено 1 февраля 2024 г.