

УДК:547.963.32:615.849

## О ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ ТРАНСФОРМАЦИИ ОДНОНИТЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ БОЛЬШОГО РАЗМЕРА В ЛЕТАЛЬНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК КЛЕТОК, ОБЛУЧЕННЫХ РЕНТГЕНОВСКИМ ИЛИ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯМИ

В.Г. Книгавко, О.П. Мещерякова, Е.Б. Радзишевская\*

*Харьковский государственный медицинский университет, пр. Ленина, 4,*

*\*Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева, ул. Пушкинская, 82*

10 ноября 2003 г.

В работе выдвинута гипотеза об образовании трудно репарируемых или нерепарируемых радиационных повреждений ДНК, облученной клетки в результате трансформации однонитевых повреждений большого размера в двунитевые разрывы. Предложена математическая модель образования однонитевых повреждений большого размера и их трансформации в двунитевые разрывы. На основе предложенной модели получены формулы для оценки среднего на клетку числа однонитевых повреждений большого размера и образующихся из них двунитевых разрывов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** двунитевые разрывы ДНК, однонитевые повреждения, рентгеновское и гамма-излучение.

Наиболее вероятной причиной репродуктивной гибели клеток при облучении рентгеновским или гамма-излучениями в настоящее время считается (например, [1-3]) образование двунитевых (парных) разрывов ДНК. При этом преобладает (см., например, [2-4]) точка зрения о том, что двунитевые разрывы (ДР) ДНК в клетке образуются в основном по одноударному механизму, т.к. их количество линейно зависит от дозы излучения, в то время как при образовании ДР вследствие наложения или близкого расположения двух однонитевых повреждений (ОП) ДНК (этот механизм, как принято считать, преобладает при образовании ДР в облученных растворах очищенной ДНК) количество ДР должно быть пропорционально квадрату дозы. С другой стороны, известно [3], что большая часть ДР ДНК достаточно эффективно репарируется клеткой, причем характерное время репарации составляет величину порядка 2...4 часа, однако, часть ДР оказывается нерепарированной и по прошествии 24 часов после завершения облучения, причем количество этих нерепарированных ДР имеет квадратичную зависимость от дозы излучения. Таким образом, достаточно логичным, на наш взгляд, является предположение о том, что именно эта плохо репарируемая (или нерепарируемая) часть ДР является летальными повреждениями, и именно эти ДР, главным образом, и являются причиной репродуктивной гибели облученных клеток. Обсуждению возможных механизмов образования ДР такого типа и построению математической модели указанных процессов посвящена настоящая работа.

Наличие квадратичной зависимости от дозы числа нерепарируемых или очень медленно репарируемых ДР, с которыми обычно связывают [5] основную часть летального эффекта облучения, свидетельствует о двуударном механизме их образования, т.е. об образовании ДР из двух независимо возникших ОП ДНК клетки. Вместе с тем, нами ранее [6] проводились количественные оценки числа ДР, возникающих при наложении или близком расположении однонитевых разрывов (ОР) или однонитевых брешей ДНК, если эти брешки имеют небольшой размер (что характерно для большинства случаев эксцизионной репарации ОП ДНК), и было показано, что число таких ДР слишком мало для объяснения количественных показателей репродуктивной гибели облученных клеток. Одновременно нами высказывалась точка зрения о возможности значимого вклада в образование летальных ДР процесса трансформации однонитевых повреждений большого размера (ОПБР) облученной ДНК в двунитевые разрывы.

Известно [4,5], что однонитевые брешки большого размера (сотни и тысячи пар нуклеотидов (п.н.)) репарируются ДНК-полимеразой  $\Pi$  у прокариот и ДНК-полимеразой  $\delta$  (и, возможно, ДНК-полимеразами  $\sigma$  или  $\epsilon$  [7]) у эукариот, и репарация таких повреждений – это медленная компонента репарации ОП с временем репарации до 2...8 часов и более. Мы не будем сейчас анализировать возможные механизмы возникновения ОПБР. Вместе с тем, как одно из базовых предположений для дальнейшего математического моделирования будет использовано предположение о том, что на одном участке ДНК, соответствующем одной петле хроматина (20...80 тыс. п.н.) [5, 8], не может образовываться более одного ОПБР, и средний размер ОПБР близок по порядку к среднему размеру отдельного гена.

Нами предполагается, что образованию ОПБР предшествует образование ОР в некотором небольшом по размеру участке транскрибируемой последовательности нуклеотидов хромосомы, а затем естественные процессы клеточной жизнедеятельности (вероятнее всего, процесс транскрипции) трансформи-

рует ОР в ОПБР. Таким образом, само образование ОПБР сравнительно маловероятно, но, если уже такое повреждение образовалось, то вследствие своего большого размера оно с высокой вероятностью трансформируется в ДР при появлении в области ОПБР еще одного (или нескольких) ОР.

### МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Сформулированная гипотеза позволяет построить математическую модель процесса образования ОПБР и их трансформации в ДР ДНК. Пусть  $L$  – общая длина (здесь и далее имеется в виду длина, выраженная в парах нуклеотидов) транскрибируемых последовательностей ДНК клетки, в наибольшей степени подверженных действию рентгеновского и гамма-излучений;  $k$  – число участков ДНК, на которых могут образовываться ОПБР;  $\ell_0$  – длина участка транскрибируемой последовательности, образование ОР в которой приводит к последующему формированию ОПБР;  $D$  – доза излучения;  $N$  – число ОР, образующихся в среднем на клетку при дозе  $D$  (общеизвестно, что величина  $N$  прямо пропорциональна величине  $D$ ).

Пусть также  $p_{m,N}$  – вероятность образования в клетке  $m$  ОПБР при дозе  $D$  (т.е. при числе ОР, равном  $N$ ),  $q_{r,m}$  – вероятность того, что из  $m$  образовавшихся ОПБР  $r$  трансформируются в ДР,  $\bar{m}$  – среднее на клетку число ОПБР,  $\bar{r}$  – среднее на клетку число ДР, образовавшихся из ОПБР. Тогда

$$\bar{m} = \sum_{m=1}^{N_{\max}} m p_{m,N} \quad (1)$$

и

$$\bar{r} = \sum_{m=1}^{N_{\max}} \left( p_{m,N} \cdot \sum_{r=1}^m r q_{r,m} \right), \quad (2)$$

где  $N_{\max} = \begin{cases} N, & k \geq N \\ k, & k \leq N \end{cases}$ .

Очевидно, что  $p_{0,N} = \left(1 - \frac{k\ell_0}{L}\right)^N$ . Что касается вероятностей  $p_{m,N}$ , то их можно вычислить по рекуррентной формуле

$$p_{m,n} = p_{m-1,n-1} \cdot a_m + p_{m,n-1} \cdot b_{m+1}, \quad (3)$$

где  $p_{m,n}$  – вероятность того, что образование  $n$  ОР приведет к образованию  $m$  ОПБР,

$$a_m = \frac{(k-m+1)\ell_0}{L}, \quad b_m = 1 - a_m.$$

При использовании формулы (3) следует учитывать, что

$$p_{0,n} = b_1^n, \quad a \quad p_{m,m} = \prod_{j=1}^m a_j.$$

Вместе с тем, вычисления по формуле (1) при естественных представлениях о значениях величин  $L$ ,  $k$ ,  $\ell_0$  и  $N$  мало отличаются от вычислений по формуле

$$\bar{m} = \frac{k\ell_0 N}{L}. \quad (4)$$

Это подтверждается данными, приведенными в таблице 1, в которой указаны значения величины

$$\varepsilon = \frac{\bar{m}_2 - \bar{m}_1}{\bar{m}_2},$$

где  $\bar{m}_1$  и  $\bar{m}_2$  – значения  $\bar{m}$ , рассчитанные по формулам (1) и (4) соответственно.

Таблица 1

L \ N	1000	3000	5000
30000000	0,00134	0,00400	0,00670
100000000	0,00040	0,00121	0,00202
300000000	0,00012	0,00041	0,00068

Вероятность трансформации ОПБР в ДР зависит от длины этой ОПБР в момент образования под действием излучения трансформирующего ОР. Длина ОПБР, в свою очередь, может быть различной, причем она возрастает с ростом времени, прошедшего от момента начала образования ОПБР (время инициации ОПБР,  $t_i$ ), и зависит от возможного времени образования ОПБР (вероятно, определяемого средним временем транскрибирования гена). Определим сначала плотность вероятности длины ОПБР при заданном  $t$ , где  $t$  – время, отсчитываемое от момента начала облучения.

Пусть  $T_o$  – время облучения,  $T_m$  – максимально возможное время образования ОПБР,  $\ell$  – длина ОПБР,  $f(\ell/t)$  – вышеупомянутая плотность вероятности,  $v$  – скорость роста ОПБР (вероятно, скорость транскрипции).

Время инициации ОПБР при постоянной мощности дозы излучения имеет равномерное распределение. Также равномерное распределение имеет и время завершения образования ОПБР ( $t_s$ ), отсчитываемое от момента инициации ОПБР. Поэтому

$$f_i(t) = \begin{cases} 0, & t < 0 \\ \frac{1}{T_o}, & 0 \leq t \leq T_o \\ 0, & t > T_o \end{cases} \quad \text{и} \quad f_s(t) = \begin{cases} 0, & t < 0 \\ \frac{1}{T_m}, & 0 \leq t \leq T_m \\ 0, & t > T_m \end{cases}$$

где  $f_i(t)$  и  $f_s(t)$  – плотности вероятностей времени инициации ОПБР и времени завершения образования ОПБР соответственно. Тогда

$$f(\ell/t) = \begin{cases} 0, & \ell < 0 \\ \frac{(T_o - t)\delta(\ell)}{T_o}, & \ell = 0 \\ \frac{v(T_m + t) - 2\ell}{v^2 T_o T_m}, & 0 < \ell \leq vt \\ 0, & \ell > vt \end{cases} \quad (5)$$

где  $\delta(\ell)$  – дельта-функция Дирака. В формуле (5) величина  $t$  изменяется от 0 до  $\min(T_o, T_m)$ , где  $\min(T_o, T_m)$  – минимальное из значений  $T_o$  и  $T_m$ . Пусть  $t_{\max} = \min(T_o, T_m)$ , а  $\xi(t)$  – вероятность не трансформации ОПБР в ДР в момент времени  $t$ .

Тогда

$$\xi(t) = \int_0^{vt} \left(1 - \frac{\ell}{L}\right) f(\ell/t) d\ell = 1 - \frac{vt^2(3T_m - t)}{6LT_o T_m}.$$

Пусть  $q_1$  – вероятность того, что один ОР, образующийся произвольно при облучении, не трансформирует данное ОПБР в ДР. Тогда

$$q_1 = \int_0^{t_{\max}} \frac{\xi(t)}{T_o} dt.$$

Вычисляя последний интеграл, получаем:

1) если  $T_o < T_m$ , то

$$q_1 = 1 - \frac{vT_o(4T_m - T_o)}{24LT_m}; \quad (6.1)$$

2) если  $T_o > T_m$ , то

$$q_1 = 1 - \frac{vT_m^3}{8LT_o^2}. \quad (6.2)$$

Пусть  $q$  – вероятность того, что за время облучения данное ОПБР не трансформируется в ДР. Очевидно, что

$$q = q_1^{N-m}. \quad (7)$$

Тогда

$$q_{r,m} = \frac{m!}{r!(m-r)!} (1-q)^r q^{m-r}. \quad (8)$$

Из (8) вытекает, что сумма  $\sum_{r=1}^m r q_{r,m}$  в формуле (2) равна

$$\sum_{r=1}^m r q_{r,m} = m(1-q).$$

Тогда

$$\bar{r} = \sum_{m=1}^{N_{\max}} p_{m,N} m(1-q). \quad (9)$$

что позволяет при рассчитанных значениях  $p_{m,n}$  с использованием формул (6.1), (6.2), (7) и (9) вычислить значение  $\bar{r}$ .

Вместе с тем, сколько-нибудь корректная оценка числа ДР, образующихся из ОПБР, затруднена, поскольку неизвестны величины  $v$  и  $T_m$ . Если считать, что ОПБР образуются при транскрипции и  $v$  – скорость этого процесса, то для прокариот значение  $v$  по разным источникам (см., например, [8, 9]) составляет величину 30...45 нуклеотидов в секунду. Что касается величины  $v$  для эукариот, то в доступной нам литературе мы не нашли сколько-нибудь точной оценки этой величины. Если использовать значение  $v$ , известное для прокариот, то для большинства практических случаев выполняется условие  $T_0 > T_m$  и для вычисления величины  $q_1$  должна использоваться формула (6.2).

Предполагая, что в формуле (6.2) второе слагаемое значительно меньше первого, можно, разлагая в ряд по степеням  $N - m$  величину  $q_1^{N-m}$ , пренебрегая всеми членами разложения, кроме первых двух, и учитывая то, что при больших значениях  $m$  величины  $p_{m,N}$  пренебрежимо малы, получить приближенное выражение для оценки величины  $\bar{r}$

$$\bar{r} \approx \frac{\ell_0 N^2}{8L} \left( \frac{T_m}{T_0} \right)^2.$$

Таким образом, зависимость числа ДР, образующихся из ОПБР, действительно пропорциональна квадрату величины  $N$ , т.е. квадрату дозы излучения, что характерно, как указывалось, для плохо репарируемых (или нерепарируемых) ДР.

## ВЫВОДЫ

1. Предложена гипотеза об образовании плохо репарируемых (или нерепарируемых) двустранных разрывов ДНК облученных клеток как результате трансформации в такие разрывы одностранных разрывов большого размера, образующихся в ДНК клеток при облучении.
2. Предложена математическая модель, описывающая процессы образования ОПБР и их трансформации в ДР. Получены формулы для оценки числа ОПБР и образующихся из них ДР.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Окада Ш. Радиационная биохимия клетки. М.: Мир, 1974. - 409 с.
2. Ярмоненко С.П. Радиобиология человека и животных. М.: Высшая школа, 1988. - 424 с.
3. Газиев А.И. Повреждение ДНК в клетках под действием ионизирующей радиации. // Радиационная биология. Радиозология. 1999. Т. 39. № 6. С. 630 - 638.
4. Гродзинский Д.М. Радиобиология. К.: Либидь, 2000. - 448с.
5. Москалева Е.Ю., Иппошина Н.А. Повреждение ДНК при действии ионизирующих излучений и их репарация. // Итоги науки и техники. Радиационная биология. 1990. Т. 9. С. 1 - 113.
6. Книгавко В.Г., Мещерякова О.П. О возможных механизмах образования двустранных разрывов ДНК клеток при облучении их рентгеновским или гамма-излучениями. // Физика живого. 2003. Т.11. № 2. С. 46-51.
7. Соффер В.Н. Репарация генетических повреждений. // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 8. С. 4-13.
8. Ярыгин В.Н. Биология. Кн. 1. М.: Высшая школа, 2000. - 448 с.
9. Спириин А.С. Биосинтез белка: элонгация полипептида и терминация трансляции. // Соросовский образовательный журнал. 1999. № 6. С. 4-13.