

УДК 577.3:575.224:57.087:539.1.047

АНАЛИЗ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТЕЙ РАСЧЕТОВ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАДИАЦИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК

© 2023 г. Ю. А. Эйдельман^{1,2}, И. В. Сальников¹, С. Г. Андреев^{1,2,*}¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия² Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия

*e-mail: andreev_sg@mail.ru

Поступила в редакцию 29.09.2022 г.

После доработки 12.10.2022 г.

Принята к публикации 09.11.2022 г.

Компьютерные вычисления эффективности образования радиационно-индуцированных повреждений ДНК достаточно широко востребованы в радиобиологии и биомедицине. Методы расчета основаны на молекулярных представлениях об образовании разрывов, структуре ДНК и информации о распределении поглощенной энергии излучения в ядре клетки. Поскольку расчетные данные используют разные предпосылки, постулаты и алгоритмы, сопоставление точности расчетов по разным схемам часто затруднено, как и определение параметров моделей разрывов с учетом разброса экспериментальных данных. В данной работе проведен сравнительный анализ предсказаний двух базовых моделей структуры ДНК, молекулярной и субобъемной, использующих различные предположения о механизме образования одно- и двунитевых разрывов ДНК, на примере облучения фрагментов ДНК протонами и α -частицами. Расчеты эффективности радиационных повреждений ДНК, учитывающие вклады прямого и квазипрямого действия, молекулярную структуру ДНК и стохастическую структуру трека заряженных частиц, показывают зависимость частот повреждений ДНК от параметров моделей. Найдены области параметров, где предсказания моделей согласуются или отличаются друг от друга.

Ключевые слова: заряженные частицы, компьютерное моделирование, метод Монте-Карло, повреждения ДНК, одностранные разрывы ДНК, двунитевые разрывы ДНК, структура трека

DOI: 10.31857/S086980312301006X, **EDN:** JXAGEO

Радиационно-индуцированные разрывы ДНК являются главным событием, лежащим в основе радиобиологических эффектов на клеточном и организменном уровнях: аберрации хромосом, хромосомная и геномная нестабильность, клеточная гибель, мутагенез, канцерогенез и др. Однако разрывы ДНК непосредственно не наблюдаются в эксперименте. Их анализируют косвенными методами – кометный анализ [1], FAR (Fraction of Activity Released) [2] и фрагментный анализ [3], γ -H2AX-фокусы [4]. Поэтому существенной частью исследований механизмов радиационных повреждений ДНК становится биофизическое моделирование взаимодействий заряженных частиц с основной клеточной мишенью, молекулой ДНК. К настоящему времени такого рода исследования посвящены многие работы [5–14]. Обзор современных методов радиобиологического моделирования [12] показывает, насколько такие подходы могут быть использованы в прикладных исследованиях, в частности, для оценки и повышения эффективности методов ра-

диотерапии и др. В [13] обсуждается подход, основанный на методе Монте-Карло, для моделирования треков ионизирующих частиц в биологической среде. Моделирование радиационно-индуцированных фрагментов ДНК и эволюции повреждений во времени за счет репарации открывает пути к предсказанию повреждений ДНК с использованием Geant4-DNA для заряженных частиц с различной линейной передачей энергии (ЛПЭ). В [14] микродозиметрические величины для протонов с энергией 0.5–100 МэВ были получены для цилиндров с размерами, соизмеримыми с типичными размерами субклеточных мишеней, таких как ДНК, нуклеосомы и хроматиновые фибриллы. Используя Geant4-DNA для учета стохастического характера поглощения энергии излучения для объемов, сравнимых по массе и средней длине хорды с ДНК, наблюдали корреляцию микродозиметрических величин (средних линейной и удельной поглощенной энергий) и радиационных повреждений ДНК. В [10] моделирование методом Монте-Карло повреждений

ДНК, вызванных протонами, проводилось на основе учета трех моделей хроматина – регулярного соленоида, зигзагообразной и переплетающейся (cross-linked) геометрии. Различия между моделями наблюдались в микродозиметрических распределениях, хотя среди нанодозиметрических параметров различия были незначительные. Был сделан вывод, что выбор модели хроматина существенно не влияет на рассчитанные нанодозиметрические параметры и можно использовать любую из этих моделей хроматина для оценки прямого повреждения ДНК, вызванного ионами. В [11] представлено исследование реакции клеток после облучения протонами с энергиями 0.5–500 МэВ (ЛПЭ 60–0.2 кэВ/мкм). Модель ядра клетки с фрактальной геометрией ДНК была реализована в программном пакете TOPAS-nBio для предсказания радиационных повреждений ДНК.

При сравнении предсказаний разных моделей [5, 6, 10–14] необходимо учитывать множество факторов, в том числе использование разных программ генерации структуры треков заряженных частиц. Многие важные параметры теоретических моделей, такие как порог энерговыделения, при котором образуется повреждение нуклеотида [5, 6], или зависимость вероятности повреждения нуклеотида от энерговыделения [15], не определяются в самой теории и не измеряются независимо, т.е. являются подгоночными. Поэтому их определение может зависеть от используемой модели ДНК, структуры трека, условий получения экспериментальных данных и др. Зависимость точности предсказаний биофизических методов от неопределенностей используемых параметров представляет собой общую проблему.

Целью данной работы был анализ неопределенностей предсказаний, полученных с помощью популярных атомарной и субобъемной моделей структуры ДНК и двух схем образования разрывов ДНК [5, 6] с использованием программного комплекса генерации структуры треков заряженных частиц Geant4-DNA [16]. Нами получены ЛПЭ-зависимости эффективности образования одно- и двунитевых разрывов ДНК разного уровня сложности в зависимости от значений порога энерговыделения, необходимого для разрыва сахарофосфатного остова ДНК. Найдены области значений параметров, при которых модели дают близкие и различающиеся результаты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Структура мишени

В атомарной модели ДНК каждый атом представляется в виде шара, радиус которого равен ван-дер-ваальсовскому радиусу атома. Мишень

представляет собой линейный фрагмент В-ДНК размером 54 пары нуклеотидов (п.н.), олиго-АСТГ (рис. 1, а). Координаты нуклеотидных пар, а также геометрические параметры цепи брали из [17]. В субобъемной укрупненной модели ДНК, предложенной в [5], нуклеотидная пара представляет собой цилиндрический субобъем, в котором внутренний цилиндр содержит пару азотистых оснований, а периферийный – сахарофосфатные остовы (рис. 1, б). Мишень представляет собой линейную молекулу размером 54 п.н., геометрические параметры субобъемов взяты из [5].

Структура трека заряженной частицы

Использовали треки протонов с начальной энергией 0.1–5 МэВ (ЛПЭ 81.61–7.91 кэВ/мкм) и α -частиц с начальной энергией 2–6.5 МэВ (ЛПЭ 162.5–73.4 кэВ/мкм), сгенерированные с помощью пакета Geant4-DNA [16]. Соотношение энергии и ЛПЭ для жидкой воды брали из [18]. Структура трека представляет собой координаты точек энерговыделений и величины поглощенной энергии.

Радиационные повреждения ДНК

Моделирование радиационных повреждений ДНК треками заряженных частиц осуществляли методом Монте-Карло. Как и в алгоритмах [5, 7, 19, 20], структуру трека совмещали со структурой мишени, ориентированной случайным образом со случайным прицельным параметром, после чего осуществляли суперпозицию координат энерговыделений трека и координат мишени. Далее подсчитывали энерговыделение в мишени. Расстояние от начала трека до центра мишени в данной работе было 100 нм. Потери энергии исходной частицы на этом расстоянии составляют менее 2% для всех рассмотренных частиц, кроме самых медленных протонов ($E = 0.1$ МэВ, ЛПЭ 81.51 кэВ/мкм), для них оценка потерь энергии ~10%.

При моделировании повреждений ДНК для атомарной и субобъемной моделей использовали разные алгоритмы. В атомарной модели подсчитывали энерговыделения в пределах ван-дер-ваальсовских радиусов атомов молекулы ДНК, входящих в сахарофосфатные остовы нуклеотидов (прямое энерговыделение), а также вне пределов ван-дер-ваальсовских радиусов атомов, но в пределах цилиндра, огибающего молекулу ДНК (попадание в молекулу воды в бороздках вблизи атомов сахарофосфатного остова, называемое квази-прямым энерговыделением) [6].

Если суммарное энерговыделение во всех атомах сахарофосфатного остова нуклеотида превосходит порог $E_{од}$, предполагается, что образуется повреждение нуклеотида за счет прямого дей-

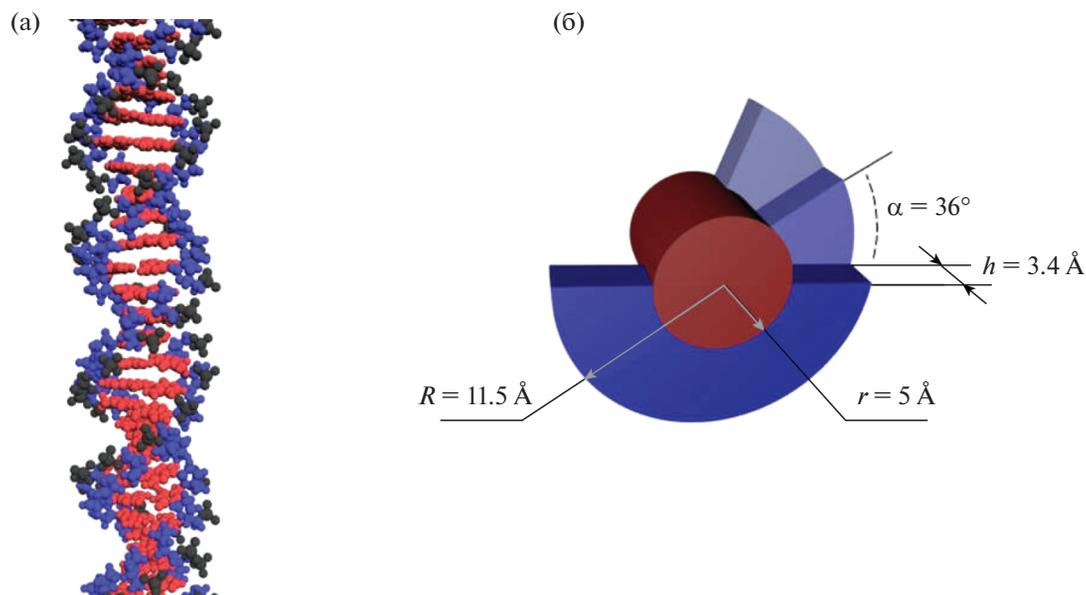


Рис. 1. Атомарная и субобъемная модели ДНК для расчета радиационных повреждений.

а: атомарная модель. Синие шары — дезоксирибоза, черные — фосфатная группа, красные — азотистое основание. Радиус каждого шара равен ван-дер-ваальсовскому радиусу соответствующего атома. Координаты атомов взяты из [17].
 б: субобъемная модель. Красный цилиндр — азотистые основания, цилиндрические полукольца синих оттенков — сахарофосфаты и бороздки одной из цепей ДНК. Сахарофосфаты второй цепи не изображены. Геометрические параметры модели взяты из [5].

Fig. 1. Atomic and subvolume DNA models for radiation damage calculation.

a: atomic model. Blue spheres, a deoxyribose; black spheres, a phosphate group; red spheres, a base. The radius of each sphere is equal to the van der Waals radius of the corresponding atom. The coordinates of the atoms are taken from [17].

b: subvolume model. The red cylinder, bases; cylindrical half-rings of blue shades are sugar-phosphates and grooves of one of the DNA chains. Sugar-phosphates of the second chain are not depicted. The geometric parameters of the model are taken from [5].

ствия. Если происходит энерговыделение в бороздке, превосходящее порог E_{0q} , предполагается, что это событие также приводит к повреждению нуклеотида за счет квазипрямого действия. Оба события происходят независимо. Рассматривались значения пороговой энергии $E_{0d} = 10$ эВ и $E_{0q} = 17$ эВ, использованные в [6], а также другие значения. Также учитывался вариант, при котором играет роль сумма прямого и квазипрямого энерговыделений, и повреждение нуклеотида образуется, если она превосходит порог E_0 .

В субобъемной модели ДНК подсчитывали энерговыделения в цилиндрическом полукольце, соответствующем сахарофосфатному остову нуклеотида и бороздкам, и повреждение нуклеотида образуется, если энерговыделение превосходит величину E_0 . Рассматривались пороговая энергия $E_0 = 17.5$ эВ, использованная в [5], а также другие значения.

Для определения типов и частот односторонних разрывов (ОР) и ДР ДНК использовали две классификации: [5] и [7]. В классификации [5] есть один параметр, критическое расстояние между повреждениями на разных цепях, при котором образуется ДР. Как и в [5, 7, 19, 20], оно равно 10 п.н.

Два и более ОР на одной цепи образуют сложный ОР, или ОР+. Два ОР на одной цепи и один на противоположной в пределах критического расстояния классифицируются как ДР+. Два или более ДР в данном сегменте ДНК классифицируются как ДР++. В классификации [7], помимо вышеупомянутого параметра, есть еще один — расстояние, при котором два повреждения на одной цепи формируют сложный односторонний разрыв, ОР+; в противном случае это — два отдельных ОР. Это расстояние взято равным 10 п.н., как и в [7].

Для каждого рассмотренного значения ЛПЭ частицы определялась микродозиметрическая величина, средняя удельная поглощенная энергия $\langle z_1 \rangle$ в одном событии, и эффективность образования разрыва на единицу поглощенной дозы рассчитывалась по соотношению $\langle N_1 \rangle / \langle z_1 \rangle / L$, где $\langle N_1 \rangle$ — среднее число разрывов данного типа на событие абсорбции энергии, $L = 54$ п.н. — длина мишени.

Сравнение моделей

Для сравнения предсказания разных моделей между собой вычисляли среднеквадратичное от-

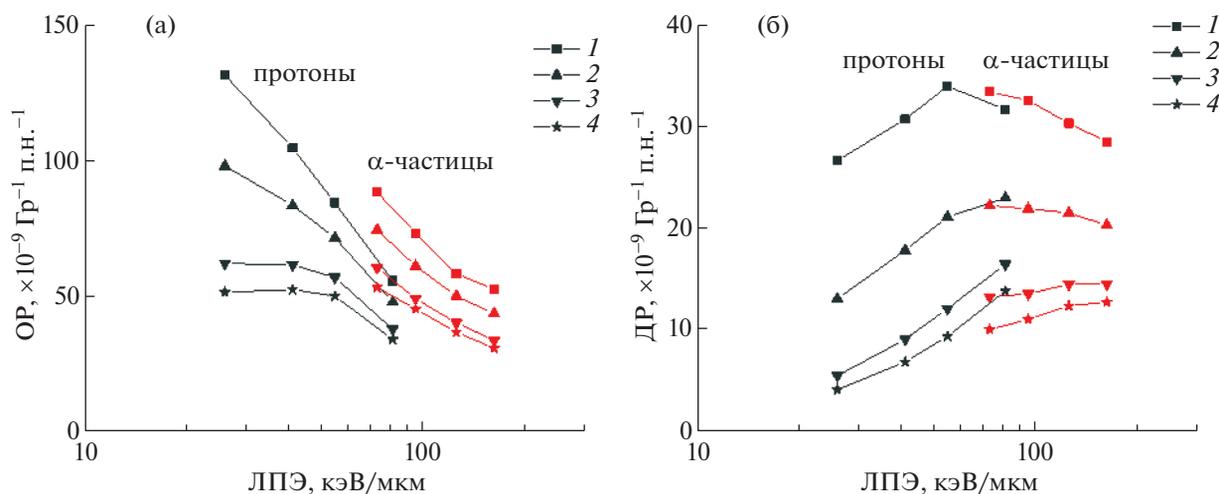


Рис. 2. Зависимость эффективности индукции ОР и ДР ДНК от величины порога энерговыведения для субобъемной модели ДНК. а – ОР ДНК; б – ДР ДНК. Пороговая энергия E_0 : 1 – 12; 2 – 14; 3 – 17.5; 4 – 20 эВ.

Приведены частоты ОР и ДР как сумма по всем типам сложности разрывов.

Fig. 2. Dependence of the efficiency for single- and double-stranded DNA break induction on the threshold of energy deposition for the subvolume DNA model. а – DNA ssb; б – DNA dsb. Threshold energy E_0 : 1 – 12 eV; 2 – 14 eV; 3 – 17.5 eV; 4 – 20 eV.

Ssb and dsb frequencies are given as the sum over all types of break complexity.

клонение (root mean-square deviation, RMSD) между ЛПЭ-зависимостями частоты индукции соответствующих типов повреждений. Для вычисления RMSD учитывались расчетные данные по эффективности разрывов для α -частиц и протонов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В данной работе исследовали две модели структуры ДНК и два механизма радиационных повреждений структуры. В атомарной модели мишенью энерговыведения служат атомы молекулы ДНК, а также связанная вода в бороздках ДНК. В укрупненной субобъемной модели нуклеотид вместе с бороздками рассматривали как мишень полуцилиндрической формы [5]. Свободными параметрами в обеих моделях являются пороговые энерговыведения в сахарофосфатном остове и/или в бороздке, при которых образуются поврежденные нуклеотиды. Результаты расчетов представлены на рис. 2 для субобъемной модели и на рис. 3 для атомарной модели ДНК. Рассмотрены все разрывы (ОР, ДР) безотносительно классификации сложности, т.е. просуммированные по разным типам сложности. Пороги 10 эВ для прямого действия и 17 эВ для квазипрямого в атомарной модели соответствуют значениям, использованным в [6]. Порог 17.5 эВ в субобъемной модели соответствует значению, использованному в оригинальной работе [5].

В работе анализируется чувствительность предсказаний эффективности образования ОР и

ДР ДНК, рассчитанных по разным схемам (см. Материалы и методика) для атомарной и субобъемной моделей ДНК. В атомарной модели имеются два параметра: E_{0d} , порог образования повреждения нуклеотида при прямом действии, или энерговыведении в атомах сахарофосфатного остова, и E_{0q} , при квазипрямом действии, или энерговыведении в бороздках в непосредственной близости от сахарофосфатного остова. Был также рассмотрен вариант, когда суммарное энерговыведение в атомах сахарофосфата и в бороздке больше порогового значения E_0 . Различия разных вариантов расчета представлены на рис. 3, кривые 2, 3. Вариант, когда в одном треке квазипрямое и прямое события происходят с энерговыведением больше соответствующих порогов одновременно, т.е. действуют сразу два механизма повреждения нуклеотида, отдельно не оценивался. Атомарная и субобъемная модели ДНК отличаются по уровню детализации структуры и по подсчету частот разрывов. Вариации свободных параметров приводят к различным результатам по обеим моделям. Для определения, какие наборы параметров обеих моделей ДНК наилучшим образом соответствуют друг другу, были рассмотрены их ЛПЭ-зависимости при различных порогах (рис. 4) и рассчитаны среднеквадратические отклонения (RMSD) между предсказаниями частот разрывов, просуммированных по сложности, для двух моделей (табл. 1).

Атомарная модель с порогами $E_{0d} = 10$ эВ для прямого действия и $E_{0q} = 17$ эВ для квазипрямого, использованная в [6], хорошо соответствует суб-

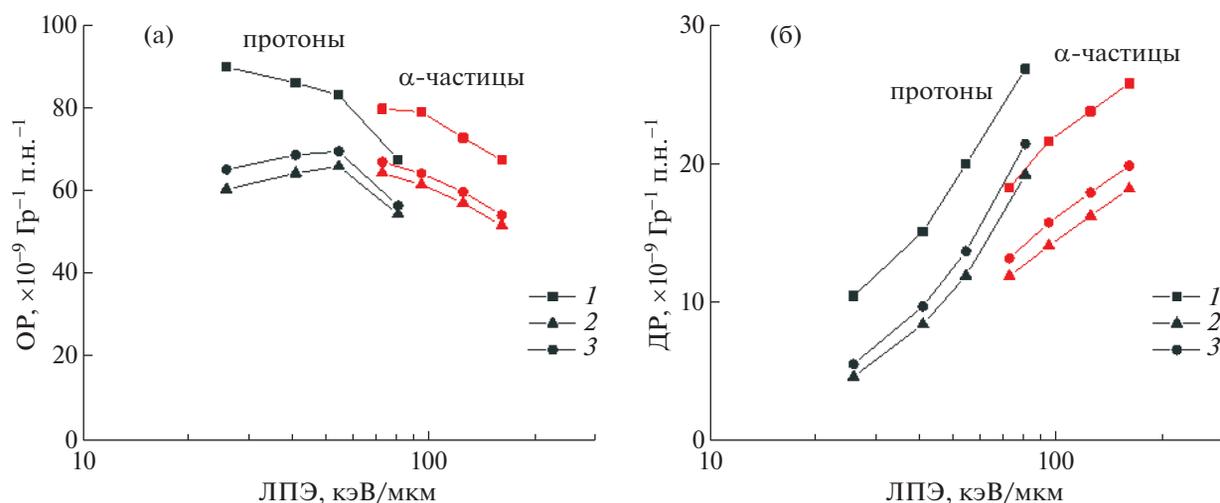


Рис. 3. Зависимость эффективности индукции ОР и ДР ДНК от порога энерговыведения в атомарной модели ДНК. а – ОР ДНК; б – ДР ДНК. 1 – $E_{0d} = 10$ эВ, порог энерговыведения в нуклеотиде, прямое действие. $E_{0q} = 17$ эВ, порог энерговыведения в бороздке, квазипрямое действие; 2 – $E_{0d} = 17.5$ эВ, $E_{0q} = 17.5$ эВ; 3 – $E_0 = 17.5$ эВ, порог суммарного энерговыведения в бороздке и в нуклеотиде.

Приведены частоты ОР и ДР как сумма по всем типам сложности разрывов.

Fig. 3. Dependence of the efficiency for single- and double-stranded DNA break induction on the threshold of energy deposition in DNA for the atomic structural model. а – DNA ssb; б – DNA dsb. 1 – $E_{0d} = 10$ eV, energy deposition in the nucleotide, direct action. $E_{0q} = 17$ eV, energy deposition in the groove, quasi-direct action; 2 – $E_{0d} = 17.5$ eV, $E_{0q} = 17.5$ eV; 3 – $E_0 = 17.5$ eV, total energy deposition in the groove and in the nucleotide.

Ssb and dsb frequencies are given as the sum over all types of break complexity.

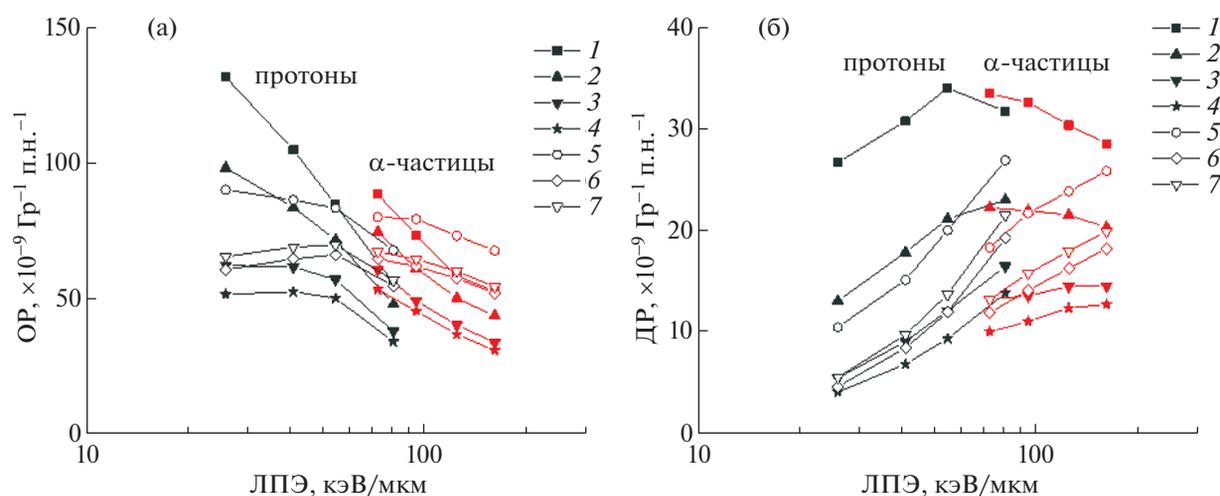


Рис. 4. Сопоставление предсказаний атомарной и субобъемной моделей ДНК при разных значениях параметров пороговой энергии. а – ОР ДНК; б – ДР ДНК. 1–4: субобъемная модель ДНК. Пороги E_0 : 1 – 12; 2 – 14; 3 – 17.5; 4 – 20 эВ. 5–7: атомарная модель ДНК. Пороги: 5 – $E_{0d} = 10$, $E_{0q} = 17$; 6 – $E_{0d} = E_{0q} = 17.5$; 7 – $E_0 = 17.5$ эВ.

Приведены частоты ОР и ДР в виде суммы по всем типам сложности разрывов.

Fig. 4. Intercomparison of predictions for atomic and subvolume DNA models at different damage thresholds. а – DNA ssb; б – DNA dsb. 1–4: the subvolume DNA model. Thresholds E_0 : 1 – 12; 2 – 14; 3 – 17.5; 4 – 20 eV. 5–7: the atomic DNA model. Thresholds: 5 – $E_{0d} = 10$ eV, $E_{0q} = 17$; 6 – $E_{0d} = E_{0q} = 17.5$; 7 – $E_0 = 17.5$ eV.

Ssb and dsb frequencies are given as the sum over all types of break complexity.

объемной модели с порогом $E_0 = 14$ эВ для большинства типов повреждений и частиц, но не совпадает со “стандартной” субобъемной моделью с порогом $E_0 = 17.5$ эВ [5]. Субобъемная модель с

порогом $E_0 = 17.5$ эВ лучше всего соответствует атомарной с порогами $E_{0d} = 17.5$ эВ, $E_{0q} = 17.5$ эВ и удовлетворительно – атомарной с порогами ($E_0 = 17.5$ эВ). Расчеты по опубликованным моделям

Таблица 1. RMSD между предсказаниями для протонов и α -частиц частот ОР и ДР, просуммированными по типам сложности, на основе атомарной и субобъемной моделей ДНК по данным рис. 4. Звездочками отмечено наилучшее согласие для каждого набора параметров атомарной модели

Table 1. RMSD between ssb and dsb predictions for atomic and subvolume DNA models summed over break complexity type. Calculations are for protons and α particles, see fig. 4. Asterisks mark the best agreement for each parameter set of the atomic model

Протоны, ОР					
Показатели		Субобъемная модель. Пороги, эВ			
		12	14	17.5	20
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	23.59	12.38*	27.35	34.97
Пороги, эВ:	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	41.92	21.54	9.74*	15.13
	$E_0 = 17.5$	38.44	18.54	12.09*	18.5
Протоны, ДР					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	13.47	2.77*	7.64	9.92
Пороги, эВ:	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	20.17	8.03	1.49*	3.11
	$E_0 = 17.5$	18.75	6.70	2.66*	4.69
α -частицы, ОР					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	11.74*	19.19	29.72	33.78
Пороги, эВ:	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	13.28	7.47*	14.20	17.86
	$E_0 = 17.5$	11.57	8.39*	16.63	20.42
α -частицы, ДР					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	9.97	3.58*	8.76	11.02
Пороги, эВ:	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	16.67	7.07	2.17*	3.82
	$E_0 = 17.5$	15.18	5.75	3.38*	5.36

с параметрами в [6] и [5] между собой не совпадают (рис. 4, кривые 3 и 5).

Разрывы разной степени сложности могут иметь разное биологическое значение. Поэтому было необходимо проанализировать результаты не только суммарно, но и дифференциально по разрывам разной сложности. Одна из первых классификаций разрывов ДНК [5] подразделяет ОР и ДР на категории в зависимости от количества и расположения повреждений нуклеотидов, входящих в их состав. Результаты анализа частот разрывов разной сложности представлены на рис. 5 для атомарной и рис. 6 для субобъемной моделей ДНК и соответствующих алгоритмов индукции и классификации разрывов [5] и [7].

Из рис. 5 видно, что сплошные и пунктирные линии, кривые для классификаций [5] и [7], идут близко друг к другу для простых ОР, ОР+ и простых ДР (панели а–в). Это означает, что выбор классификации сложности разрывов слабо влияет на частоты всех типов повреждений, за исключе-

нием наиболее сложных, ДР+ и ДР++ (рис. 5, г, д). Пороговые значения поглощенной энергии, напротив, существенно влияют на выход поврежденных всех категорий.

Чтобы выяснить, при каких параметрах атомарная и субобъемная модели ДНК и разрывов дают близкие предсказания, мы рассчитали среднеквадратическое отклонение (RMSD) между двумя моделями для всех пороговых значений для каждого типа повреждений по отдельности. Результаты для протонов и α -частиц представлены в табл. 2 и 3 соответственно. Разрывы разных типов подсчитывались по классификации [5].

Сходство предсказаний между моделями для разных типов повреждений (табл. 2, 3) наблюдается при одних и не наблюдается при других наборах параметров. В таблицах для каждого набора параметров атомарной модели отмечены звездочками параметры субобъемной модели, при которых согласие наилучшее, т.е. минимальное значение RMSD в данной строке. Следует заметить,

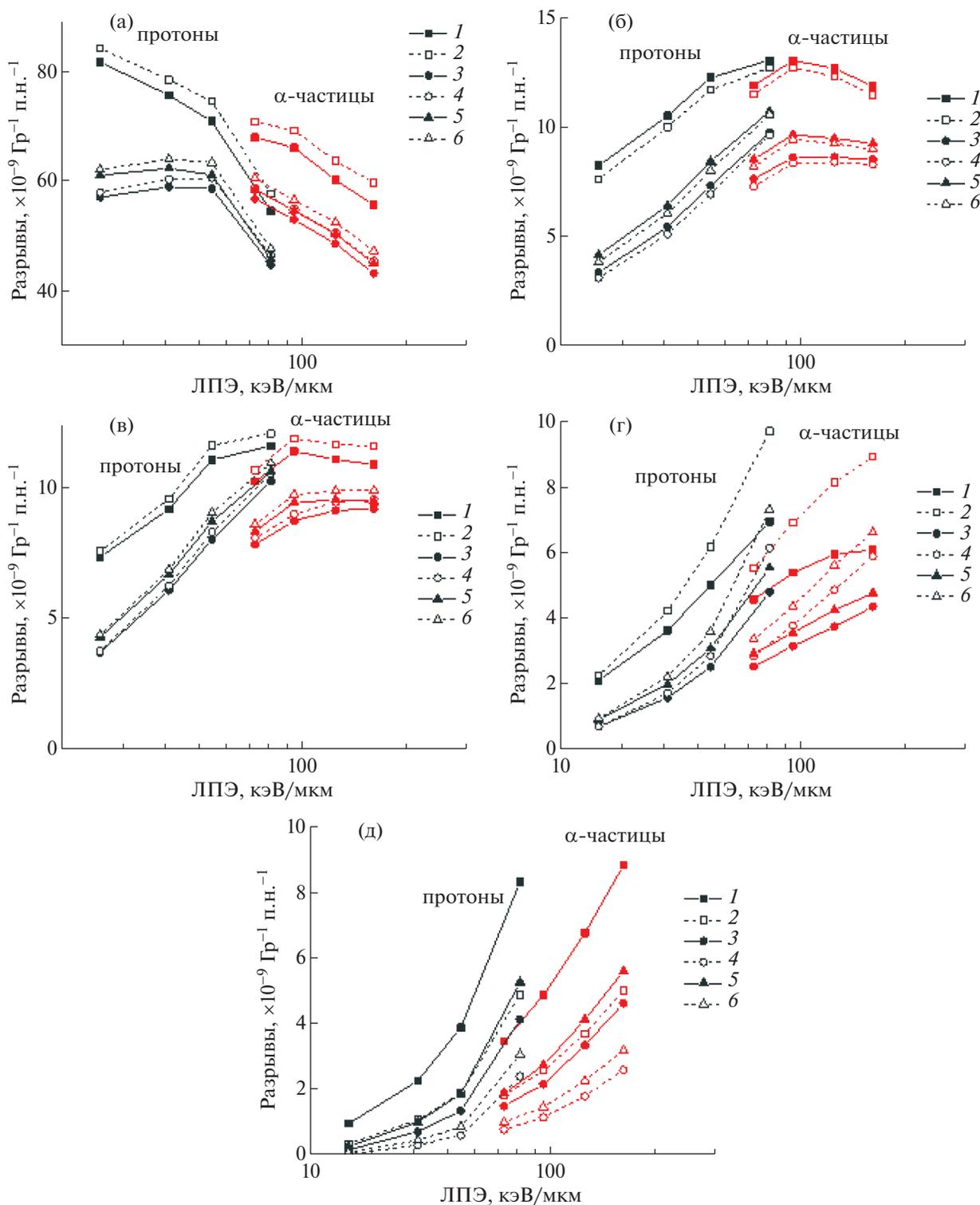


Рис. 5. Зависимость частоты индукции разрывов ДНК разного типа от пороговой энергии и от классификации разрывов для атомарной модели ДНК. а – простые ОР; б – ОР+; в – простые ДР; г – ДР+; д – ДР++ и более сложные. Пороги: 1, 2 – прямые энерговыделения $E_{0d} = 10$ эВ, квазипрямые $E_{0q} = 17$ эВ; 3, 4 – $E_{0d} = 17.5$ эВ, $E_{0q} = 17.5$ эВ; 5 – прямые и квазипрямые, суммарный порог $E_0 = 17.5$ эВ. Классификация разрывов: сплошные линии (1, 3, 5) – согласно [5]; пунктирные линии (2, 4, 6) – согласно [7].

Fig. 5. Dependence of the induction frequency for DNA breaks of different types on the threshold energy and the break classification for the atomic model of DNA. а – simple ssb; б – ssb+; в – simple dsb; г – dsb+; д – dsb++ and more complex. Thresholds: 1, 2 – direct energy deposition $E_{0d} = 10$ eV, quasi-direct $E_{0q} = 17$ eV; 3, 4 – $E_{0d} = 17.5$ eV, $E_{0q} = 17.5$ eV. 5 – direct and quasi-direct, total threshold $E_0 = 17.5$ eV. Break classification: solid lines (1, 3, 5) – according to [5]; dashed lines (2, 4, 6) – according to [7].

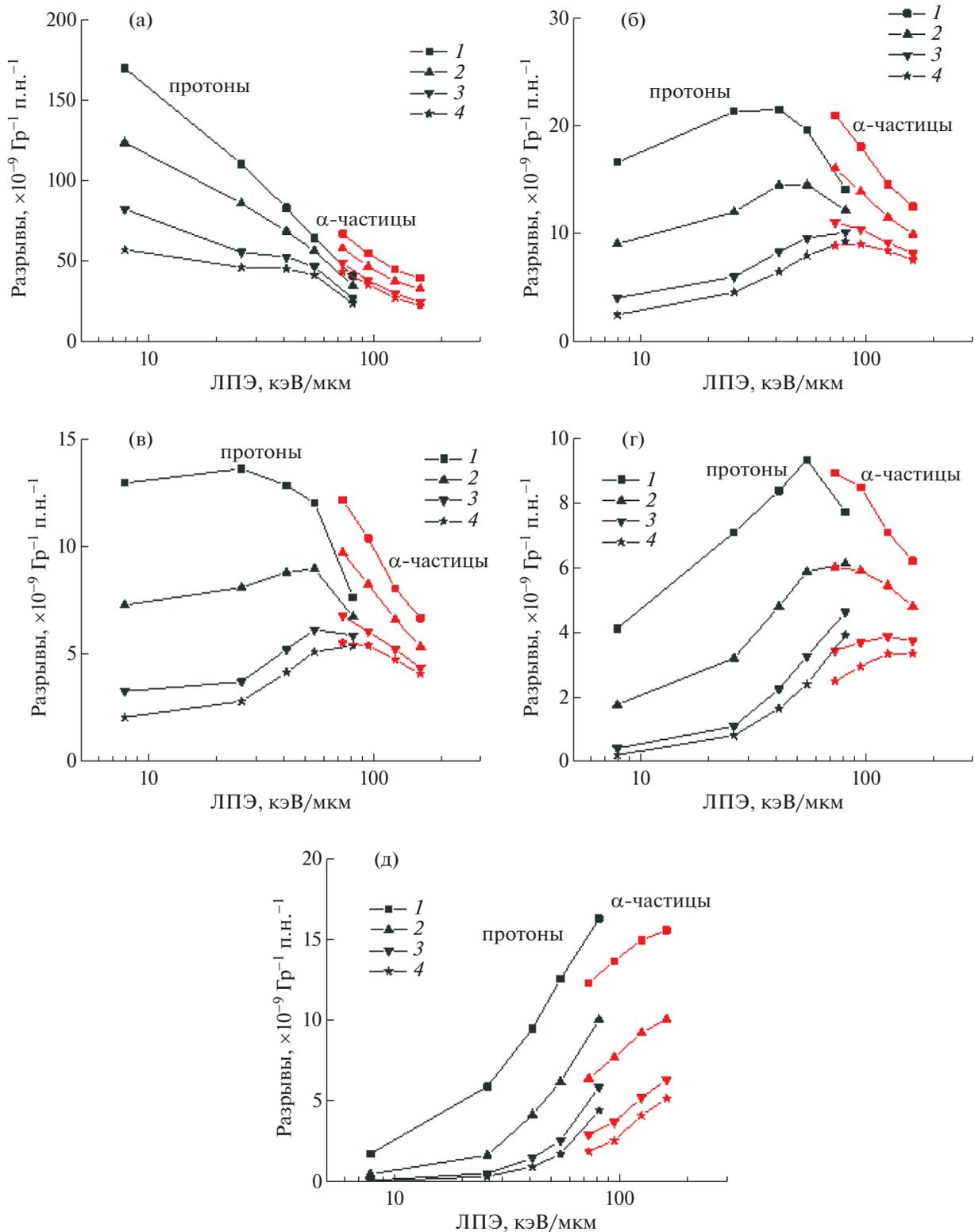


Рис. 6. Зависимость частоты индукции разрывов ДНК разного типа от порога для субобъемной модели ДНК. а – простые ОР; б – ОР+; в – простые ДР; г – ДР+; д – ДР++ и более сложные. Пороги повреждений: 1 – 12; 2 – 14; 3 – 17.5; 4 – 20 эВ. Классификация разрывов – согласно [5].

Fig. 6. Dependence of the frequency of induction for DNA breaks of different types on the threshold energy and the break classification for the subvolume model of DNA. а – simple ssb; б – ssb+; в – simple dsb; г – dsb+; д – dsb++ and more complex. Nucleotide damage thresholds: 1 – 12; 2 – 14; 3 – 17.5; 4 – 20 eV. Break classification: according to [5].

Таблица 2. RMSD между предсказаниями для протонов частот ОР и ДР разной сложности на основе атомарной и субобъемной моделей ДНК по данным рис. 5, 6. Звездочками отмечено наилучшее согласие для каждого набора параметров атомарной модели

Table 2. RMSD between DNA breaks of different complexity predicted for protons on the basis of atomic and subvolume models. Numerical data are from fig. 5, 6. Asterisks mark the best agreement for each parameter set of the atomic model

Показатели		Субобъемная модель. Пороги, эВ			
		12	14	17.5	20
Простые ОР					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	16.46	12.59*	24.96	31.16
Пороги, эВ:	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	29.4	16.00	10.87*	15.65
	$E_0 = 17.5$	26.83	14.05	12.78*	18.14
ОР+					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	9.37	3.08	2.42*	3.84
Пороги, эВ:	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	13.75	7.41	2.36	0.97*
	$E_0 = 17.5$	12.89	6.53	1.56	0.74*
Простые ДР					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	4.14	2.67*	4.61	5.45
Пороги, эВ:	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	6.44	3.15	2.41*	3.01
	$E_0 = 17.5$	6.00	2.91*	2.80*	3.48
ДР+					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	4.09	1.00*	1.68	2.32
Пороги, эВ:	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	5.97	2.73	0.55	0.45*
	$E_0 = 17.5$	5.55	2.32	0.50*	0.90
ДР++ и более сложные					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	7.35	1.78	1.43*	2.32
Пороги, эВ:	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	9.79	4.27	1.17	0.31*
	$E_0 = 17.5$	9.22	3.67	0.57	0.42*

что это не обязательно минимальное значение RMSD в данном столбце. В качестве примера рассмотрим последнюю субтаблицу табл. 3, посвященную ДР++, индуцированным α -частицами. Минимальное RMSD в первой строке (атомарная модель с параметрами $E_{0d} = 10$ эВ и $E_{0q} = 17$ эВ [6]) находится в третьем столбце, 1.58 (субобъемная модель с параметром $E_0 = 17.5$ эВ [5]), и в этом смысле две модели с параметрами, используемыми в литературе, соотносятся наилучшим образом. Но в третьем столбце это значение RMSD не минимальное, минимальное (1.00) соответствует атомарной модели с параметром $E_0 = 17.5$ эВ. Минимумы по строкам и по столбцам не совпадают более чем в половине субтаблиц табл. 2 и 3. Таким образом, по RMSD критерию нет однозначного количественного соответствия атомарной и субобъемной моделей.

Для определения, какие наборы параметров моделей ДНК и разрывов наилучшим образом соответствуют эксперименту, мы сравнили данные расчетов и экспериментов (рис. 7). В расчетах частоты ДР просуммированы по типам сложности, использована классификация [5].

Сопоставление данных экспериментов с расчетными и выбор параметра порога для протонов и α -частиц затруднены в силу значительного разброса экспериментальных данных. Кроме того, количественные результаты различны для двух моделей ДНК. Для атомарной модели экспериментальные данные по протонам [22, 23] лежат между расчетными ЛПЭ-зависимостями с порогами от $E_{0d} = 10$ эВ, $E_{0q} = 17$ эВ до $E_{0d} = 17.5$ эВ, $E_{0q} = 17.5$ эВ (рис. 7, а, кривые 4 и 6). Для субобъемной – между расчетными кривыми с порогами 14 и 20 эВ (рис. 7, б, кривые 6 и 10). Данные по

Таблица 3. RMSD между предсказаниями для α -частиц частот ОР и ДР разной сложности на основе атомарной и субобъемной моделей ДНК по данным рис. 5, 6. Звездочками отмечено наилучшее согласие для каждого набора параметров атомарной модели

Table 3. RMSD between DNA breaks of different complexity predicted for α particles on the basis of atomic and subvolume models. Numerical data are from fig. 5, 6. Asterisks mark the best agreement for each parameter set of the atomic model

Показатели		Субобъемная модель. Пороги, эВ			
		12	14	17.5	20
Простые ОР					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	12.21*	19.06	27.06	30.00
Пороги, эВ	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	5.86*	7.89	15.18	18.00
	$E_0 = 17.5$	5.68*	9.34	16.86	19.72
ОР+					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	5.33	2.41*	2.80	3.82
Пороги, эВ	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	8.98	5.29	2.02	0.85*
	$E_0 = 17.5$	8.15	4.51	1.46	0.99*
Простые ДР					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	2.80*	3.88	5.39	5.98
Пороги, эВ	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	2.69	2.48*	3.40	3.91
	$E_0 = 17.5$	2.53*	2.67	3.80	4.34
ДР+					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	2.74	1.04*	1.87	2.47
Пороги, эВ	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	4.59	2.40	0.62	0.55*
	$E_0 = 17.5$	4.20	2.04	0.61*	0.92
ДР++ и более сложные					
Атомарная модель	$E_{0d} = 10, E_{0q} = 17$	8.20	2.49	1.58*	2.62
Пороги, эВ	$E_{0d} = 17.5, E_{0q} = 17.5$	11.23	5.47	1.67	0.58*
	$E_0 = 17.5$	10.55	4.79	1.00	0.21*

α -частицам из [21] описываются обеими моделями при более высоких, чем для протонов, значениях порогов: 21–23 эВ для атомарной модели и 23 эВ для субобъемной.

ОБСУЖДЕНИЕ

В работе получены ЛПЭ-зависимости эффективности индукции одно- и двунитевых разрывов ДНК различной сложности, предсказанные на основе двух моделей структуры ДНК и двух алгоритмов расчета повреждений, индуцированных протонами и α -частицами. Модели качественно предсказывают сходные ЛПЭ-зависимости, но обнаруживают количественные различия (рис. 5, 6). Обращает на себя внимание, что при одних и тех же ЛПЭ, ~70 кэВ/мкм, простые разрывы, особенно ОР, индуцируются с большей эффективностью α -частицами (энергии ~6 МэВ), чем прото-

нами (энергии ~0.1 МэВ), рис. 5, а, рис. 6, а. Для сложных разрывов наблюдается обратный эффект, для атомарной модели, начиная с ОР+ и простых ДР (рис. 5, б–д), для субобъемной – только для самых сложных, ДР++ и отчасти ДР+ (рис. 6, г, д).

Более высокую эффективность протонов по сравнению с α -частицами для сложных разрывов и менее высокую – для простых мы связываем с тем, что при равной ЛПЭ большая энергия означает большие пробеги δ -электронов, а значит, более широкое, но менее плотное поперечное (относительно оси трека) распределение энергии. Это приводит к тому, что низкоэнергетические частицы с большей вероятностью повреждают несколько нуклеотидов в непосредственной близости друг от друга (приводя к сложным разрывам ДНК), а высокоэнергетические – несколько нуклеотидов, расположенных относительно далеко

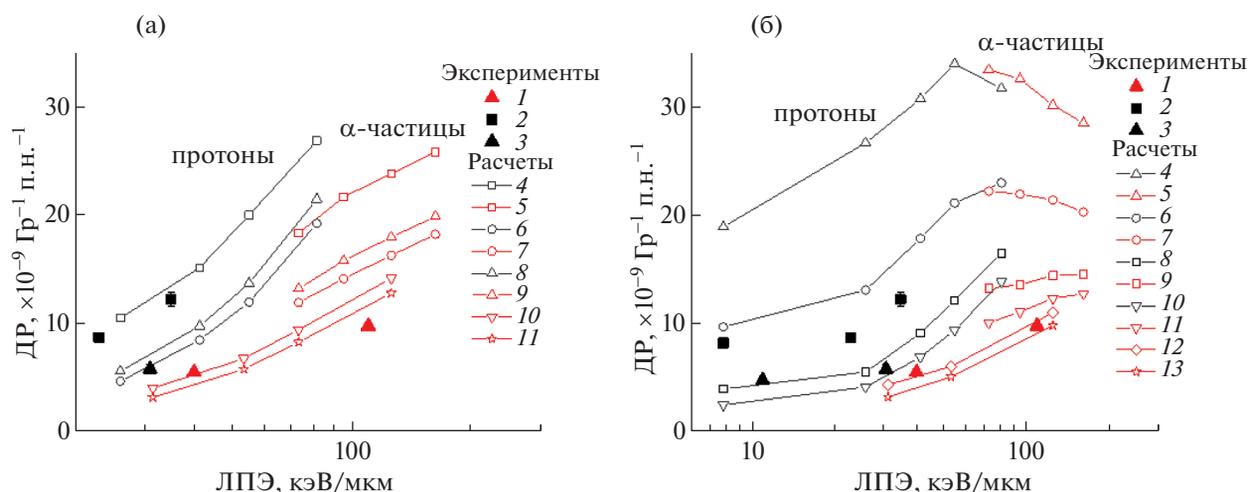


Рис. 7. Сравнение модельных расчетов эффективности индукции ДР с экспериментальными данными.

а: атомарная модель. 1–3: эксперименты. 1 – данные из [21], α -частицы; 2 – [22], протоны; 3 – [23], протоны; 4–11: расчеты. 4, 6, 8 – протоны; 5, 7, 9, 10, 11 – α -частицы. Пороги: 4, 5 – $E_{0d} = 10$ эВ, $E_{0q} = 17$ эВ; 6, 7 – $E_{0d} = 17.5$ эВ, $E_{0q} = 17.5$ эВ; 8, 9 – $E_0 = 17.5$ эВ; 10 – $E_0 = 21$ эВ; 11 – $E_0 = 23$ эВ.

б: субобъемная модель. 1–3: эксперименты, те же, что в панели а; 4–13: расчеты. 4, 6, 8, 10 – протоны; 5, 7, 9, 11, 12, 13 – α -частицы. Порог E_0 : 4, 5 – 12 эВ; 6, 7 – 14 эВ; 8, 9 – 17.5 эВ; 10, 11 – 20 эВ; 12 – 21 эВ; 13 – 23 эВ.

Fig. 7. Comparison of the model calculations of dsb induction with the experimental data.

a: Atomic model. 1–3: experiments. 1 – data from [21], α -particles; 2 – [22], protons; 3 – [23], protons; 4–11: calculations. 4, 6, 8 – protons; 5, 7, 9, 10, 11 – α particles. Thresholds: 4, 5 – $E_{0d} = 10$ eV, $E_{0q} = 17$ eV; 6, 7 – $E_{0d} = 17.5$ eV, $E_{0q} = 17.5$ eV; 8, 9 – $E_0 = 17.5$ eV; 10 – $E_0 = 21$ eV; 11 – $E_0 = 23$ eV.

b: the subvolume model. 1–3: experiments, the same as in panel a; 4–13: calculations. 4, 6, 8, 10 – protons; 5, 7, 9, 11, 12, 13 – α particles. Threshold E_0 : 4, 5 – 12 eV; 6, 7 – 14 eV; 8, 9 – 17.5 eV; 10, 11 – 20 eV; 12 – 21 eV; 13 – 23 eV.

друг от друга (приводя к множественным простым разрывам ДНК). Следует заметить, что результат был получен для порогового расстояния между нуклеотидами, при котором два ОР образуют ДР, равное 10. Для иных значений закономерность может быть другой.

Проведенный анализ чувствительности предсказаний моделей и схем разрывов к вариации параметров порога энерговыделения показал как сходства, так и различия между структурными моделями разрывов в зависимости от пороговой энергии, типа разрыва и типа частицы. Сопоставление с экспериментом показало, что описание данных по обеим моделям оказывается лучше при других параметрах, чем те, которые ранее вводились в литературе. Сравнение расчетных литературных данных между собой [5–9] обнаруживает различия между ними, причины которых не ясны. Не исключено, что расхождения могут определяться алгоритмами расчета повреждений ДНК на молекулярном уровне.

Оценивалась точность расчетов радиационно-индуцированных повреждений ДНК по двум алгоритмам, для укрупненной (субобъемной) и молекулярной модели ДНК. Учет прямого и квазипрямого действия, которое феноменологически отражает повреждение нуклеотидов за счет свободных радикалов, образованных в бороздке

ДНК и не подверженных действию перехватчиков, оказался достаточным для качественного совпадения предсказаний с экспериментальными данными. Субобъемная модель ДНК, несмотря на более упрощенное описание образования разрывов, оказалась также работоспособной.

Расчеты для короткой линейной молекулы ДНК позволили решить основной вопрос – сравнение моделей на уровне первичных механизмов разрывов двухцепочечной ДНК. Для дальнейшего использования разработанных алгоритмов и сравнения с другими нужен контроль точности расчетов повреждений ДНК с более детальным учетом как косвенного действия, так и пространственной организации ДНК в хроматине в клеточном ядре (фибриллы и домены хроматина, вплоть до уровня целых хромосом) и расширение набора анализируемых экспериментальных данных.

БЛАГОДАРНОСТИ

Расчеты были проведены с использованием вычислительных мощностей Межведомственного суперкомпьютерного центра РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Fairbairn D.W., Olive P.L., O'Neill K.L.* The comet assay: a comprehensive review // *Mutat. Res.* 1995. V. 339. № 1. P. 37–59.
[https://doi.org/10.1016/0165-1110\(94\)00013-3](https://doi.org/10.1016/0165-1110(94)00013-3)
2. *Stenerlöv B., Blomquist E., Grusell E. et al.* Rejoining of DNA double-strand breaks induced by accelerated nitrogen ions // *Int. J. Radiat. Biol.* 1996. V. 70. № 4. P. 413–420.
<https://doi.org/10.1080/095530096144888>
3. *Stenerlöv B., Höglund E., Carlsson J., Blomquist E.* Rejoining of DNA fragments produced by radiations of different linear energy transfer // *Int. J. Radiat. Biol.* 2000. V. 76. № 4. P. 549–57.
<https://doi.org/10.1080/095530000138565>
4. *Ivashkevich A.N., Martin O.A., Smith A.J. et al.* γ H2AX foci as a measure of DNA damage: a computational approach to automatic analysis // *Mutat. Res.* 2011. V. 711. № 1–2. P. 49–60.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.12.015>
5. *Charlton D.E., Nikjoo H., Humm J.L.* Calculation of initial yields of single- and double-strand breaks in cell nuclei from electrons, protons and alpha particles // *Int. J. Radiat. Biol.* 1989. V. 56. № 1. P. 1–19.
<https://doi.org/10.1080/09553008914551141>
6. *Pomplun E.* A new DNA target model for track structure calculations and its first application to I–125 Auger electrons // *Int. J. Radiat. Biol.* 1991. V. 59. № 3. P. 625–642.
<https://doi.org/10.1080/09553009114550561>
7. *Khvostunov I.K., Andreev S.G., Pitkevich V.A., Chepel V.Yu.* Novel algorithm for analysis of DNA and chromatin damage induced by ionising with different quality // *Proc. of 10th Int. Congr. Radiation Research / Eds U. Hagen, D. Harder, H. Jung, C.S. Streffer. Wurzburg, 1995. V. 2. P. 254–257.*
8. *Friedland W., Jacob P., Paretzke H.G., Stork T.* Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low-linear energy transfer radiation using higher-order DNA models // *Radiat. Res.* 1998. V. 150. № 2. P. 170–182.
<https://doi.org/10.2307/3579852>
9. *Nikjoo H., O'Neill P., Wilson W.E., Goodhead D.T.* Computational approach for determining the spectrum of DNA Damage induced by ionizing radiation // *Radiat. Res.* 2001. V. 156. №5. Part 2. P. 577–583.
[https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2001\)156\[0577:cafdts\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2001)156[0577:cafdts]2.0.co;2)
10. *Henthorn N.T., Warmenhoven J.W., Sotiropoulos M. et al.* Nanodosimetric simulation of direct ion-induced DNA damage using different chromatin geometry models // *Radiat. Res.* 2017. V. 188. № 6. P. 690–703.
<https://doi.org/10.1667/RR14755.1>
11. *Zhu H., McNamara A.L., McMahon S.J. et al.* Cellular response to proton irradiation: a simulation study with TOPAS-nBio // *Radiat. Res.* 2020. V. 194. № 1. P. 9–21.
<https://doi.org/10.1667/RR15531.1>
12. *Kyriakou I., Sakata D., Tran H.N. et al.* Review of the Geant4-DNA Simulation toolkit for radiobiological applications at the cellular and DNA level // *Cancers (Basel)*. 2021. V. 14. № 1. P. 35.
<https://doi.org/10.3390/cancers14010035>
13. *Shin W.-G., Sakata D., Lampe N. et al.* A Geant4-DNA evaluation of radiation-induced DNA damage on a human fibroblast // *Cancers (Basel)*. 2021. V. 13. № 19. P. 4940.
<https://doi.org/10.3390/cancers13194940>
14. *Mokari M., Moeini H., Soleimani M. et al.* Calculation of microdosimetric spectra for protons using Geant4-DNA and a μ -randomness sampling algorithm for the nanometric structures // *Int. J. Radiat. Biol.* 2021. V. 97. № 2. P. 208–218.
<https://doi.org/10.1080/09553002.2021.1854488>
15. *Friedland W., Jacob P., Bernhardt P. et al.* Simulation of DNA damage after proton irradiation // *Radiat. Res.* 2003. V. 159. № 3. P. 401–410.
[https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2003\)159\[0401:soddap\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2003)159[0401:soddap]2.0.co;2)
16. *Incerti S., Baldacchino G., Bernal M. et al.* The Geant4-DNA project // *Int. J. Model. Simul. Sci. Comput.* 2010. V. 1. № 2. P. 157–178.
<https://doi.org/10.1142/S1793962310000122>
17. *Chandrasekaran R., Arnott S.* The structure of B-DNA in oriented fibers // *J. Biomolec. Struct. Dynam.* 1996. V. 13. № 6. P. 1015–1027.
<https://doi.org/10.1080/07391102.1996.10508916>
18. ICRU report 49. Stopping powers and ranges for protons and alpha particles. International Commission on Radiation Units and Measurements, Bethesda, Maryland, USA, 1993. 295 p.
19. *Андреев С.Г., Эйдельман Ю.А., Хвостунов И.К. и др.* Биофизическое моделирование радиационных повреждений генетических структур клетки // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2005. Т. 45. № 5. С. 549–560. [*Andreev S.G., Eidelman Yu.A., Salnikov I.V., Khvostunov I.K. et al.* The biophysical modeling of radiation induced genetic damage // *Radiat. Biol. Radioecol.* 2005. V. 45. № 5. P. 549–560. (In Russ.)]
20. *Andreev S.G., Eidelman Yu.A., Salnikov I.V., Khvostunov I.K.* Mechanistic modelling of genetic and epigenetic events in radiation carcinogenesis // *Radiat. Prot. Dosim.* 2006. V. 122. № 1–4. P. 335–339.
<https://doi.org/10.1093/rpd/ncl463>
21. *Prise K.M., Ahnström G., Belli M. et al.* A review of dsb induction data for varying quality radiations // *Int. J. Radiat. Biol.* 1998. V. 74. № 2. P. 173–184.
<https://doi.org/10.1080/095530098141564>
22. *Frankenberg D., Brede H.J., Schrewe U.J. 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/microm // *Radiat. Res.* 1999. V. 151. № 5. P. 540–549.
<https://doi.org/10.2307/3580030>
23. *Belli M., Cherubini R., Dalla Vecchia M. et al.* DNA DSB induction and rejoining in V79 cells irradiated with light ions: a constant field gel electrophoresis study // *Int. J. Radiat. Biol.* 2000. V. 76. № 8. P. 1095–1104.
<https://doi.org/10.1080/09553000050111569>

Calculation of Radiation-induced DNA Damage Efficiency. Analysis of Uncertainties

Yu. A. Eidelman^{a,b}, I. V. Salnikov^a, and S. G. Andreev^{a,b,#}

^a*N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

^b*National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia*

[#]*e-mail: andreev_sg@mail.ru*

Computer simulations of the DNA damage are widely used due to their large application area. The computational methods to predict DNA breaks are based on molecular concepts about the formation of breaks, the geometric structure of DNA, as well as information about the distribution of absorbed energy in a DNA molecule. Since the calculations use different postulates and algorithms, it is often difficult to make intercomparison between theoretical results in the literature. Due to the spread of experimental data on DNA breaks, the determination of parameters of DNA lesion models from the data is not straightforward. In this paper, a comparative analysis of two basic models of DNA structure, molecular and enlarged subvolume, various schemes for the formation of single- and double-strand DNA breaks, as well as different classifications of the break complexity after irradiation with protons and α -particles is performed. Numerical results on initial radiation-induced DNA damage due to direct and quasi-direct action demonstrate the dependence on variation of model parameters. The parameter values where the two models agree or differ are discussed.

Keywords: charged particles, computer simulation, Monte Carlo technique, DNA damage, single-strand breaks, double-strand breaks, track structure