

В.Г. Кнігавко,  
О.П. Мещерякова,  
Є.Б. Радзішевська

Харківський державний  
медичний університет,  
Інститут медичної радіології  
ім. С.П. Григор'єва  
АМН України,  
м. Харків

## Математичне моделювання впливу насичення репаративних систем клітин на виживаність цих клітин Повідомлення 2. Моделювання кривих виживаності еукаріотів

Mathematical simulation of influence of cell  
reparative system saturation on the survival  
of these cells.  
Communication 2. Simulation of survival curves  
in eukaryotes

**Цель работы:** Построение математических моделей процессов формирования кривых выживаемости для облученных клеток эукариотов.

**Материалы и методы:** Математическое моделирование, алгоритмизация и программирование.

**Результаты:** Построены и проанализированы 3 модели, которые учитывают насыщение систем репарации облученных клеток при больших дозах излучения. Модели отличаются тем, образование какого количества реparableных радиационных повреждений они учитывают, и учитывают ли образование не-reparableных радиационных повреждений.

**Выводы:** Построены математические модели процессов, определяющих выживаемость облученных клеток, которые основываются на предположении о насыщении репарационных систем облученных клеток при больших значениях дозы и предполагают ограниченность области клеточного хроматина, обслуживаемой одним ферментативным репарационным комплексом. Показано качественное соответствие расчетных кривых выживаемости облученных клеток экспериментальным данным. Обсуждены возможные направления дальнейшего совершенствования математических моделей процессов, определяющих выживаемость облученных клеток.

**Ключевые слова:** математическое моделирование, репарация радиационных повреждений, кривые выживаемости.

**Objective:** To build mathematical models of the process of forming survival curves for irradiated eukaryote cells.

**Material and Methods:** Mathematical simulation, algorithm, programming.

**Results:** Three models which take into consideration saturation of reparation systems in the irradiated cells at large doses were built and analyzed. The models differ in the number of reparable radiation damages they consider and whether they take into account formation of irreparable radiation lesions.

**Conclusion:** Mathematical models of the processes determining survival of irradiated cells which are based on the idea about saturation of repairing systems of irradiated cells at large doses and suggest limitation of the area of cellular chromatin served by one enzyme repairing complex were built. Qualitative correspondence of the calculated curves of survival and experimental data was shown. Possible perspectives of improvement of the mathematical models of the processes determining cell survival are discussed.

**Key words:** mathematical simulation, radiation lesion reparation, survival curves.

У повідомленні 1 були розглянуті математичні моделі процесів, що визначають форму кривої виживаності деяких прокариотів. У повідомленні 2 ми описуємо й аналізуємо подібні моделі для еукаріотичних клітин. В основу цих моделей, як і розглянутих у повідомленні 1, покладена основна ідея про насичення систем репарації клітин при високих дозах опромінення [1].

Стисло нагадаємо основні модельні припущення, на яких базуються розглянуті моделі: опромінюється асинхронна популяція клітин; під дією випромінень у них утворюються кілька видів реparableних радіаційних пошкоджень (РП); серед яких є такі, що мають значний час репарації, причому клітина гине, якщо репарація всіх таких РП не буде завершена до певного моменту клітинного циклу. Кількість ферментативних репаруючих комплексів (ФРК) у клітині обмежена; тривалість опромінення і час утворення РП менші як за тривалість клітинного циклу, так і за час репарації РП даного виду. Час, який витрачає ФРК на репарації кожного РП даного виду, однаковий; кількість ФРК у клітині з часом не змінюється.

Радіаційні пошкодження зі значним часом репарації, незавершеність яких спричиняє загибель опромінених клітин, як і раніше, називатимемо небезпечними реparableними радіаційними пошкодженнями (НРРП).

Розглянуті в цьому повідомленні моделі ґрунтуються також на припущенні про те, що окремий ФРК здійснює репарацію тільки в межах окремої хромосоми (а можливо, навіть тільки її частини). Таким чином, припускається, що кожному хромосому обслуговує один чи кілька своїх власних ФРК.

Правда, якщо ототожнювати НРРП із двонитковими розривами (ДР) клітинної ДНК, то можливо, що кожний із ФРК обслуговує не одну, а дві гомологічні хромосоми.

Характер розглянутих моделей, як і в повідомленні 1, залежить від того, чи можуть утворюватися абсолютно летальні РП, тобто нерепарабельні радіаційні пошкодження (НРП).

Складним є питання, чи поширюється дія окремого ФРК на всю хромосому, чи тільки на її частину. Зважаючи на те, що реплікація окремих ділянок хромосоми (репліконів) відбувається незалежно одна від одної, можна припустити, що кожен реплікон обслуговує окремий ферментативний комплекс, який здійснює реплікацію. Як зазначалося у повідомленні 1, ферментативні комплекси, що здійснюють реплікацію і рекомбінаційну репарацію, містять ряд однакових компонентів. Це дозволяє висунути припущення про те, що це не різні, а один багатофункціональний ферментативний комплекс. Якщо це так, то вельми ймовірно, що кожен реплікон (який, можливо, морфологічно відповідає петельному домену хромосоми) обслуговується своїм окремим ФРК. Модель, що базується на такому припущенні, розглядатиметься в наступному повідомленні. У цьому ж ми припускатимемо, що один чи кілька ФРК обслуговують усю хромосому.

Нехай  $n_i$  — число НРРП в окремій  $i$ -й хромосомі,  $D$  — доза випромінювання,  $n_0$  — кількість НРРП, що утворюються в середньому на клітину при дозі, яка дорівнює одиниці. Очевидно, що ймовірності утворення НРРП у різних хромосомах різні. У випадку фотонних іонізуючих випромінень (ФІВ) це впливає з того, що під дією ікс- чи гамма-випромінювання в клітинах передусім ушкоджуються ті нуклеотидні послідовності, які активно транскрибуються [2, 3], а в різних хромосомах загальна довжина (у парах нуклеотидів) таких послідовностей різна. Для нефотонних випромінень з великою ЛПЕ це пов'язано, головним чином, з різною довжиною різних хромосом. Нехай  $q_i$  — імовірність того, що одне навмання взяте РП утвориться саме в  $i$ -й хромосомі. Очевидно, що  $q_i = \frac{\ell_i}{L}$ , де у випадку ФІВ  $\ell_i$  і  $L$  — загальні довжини послідовностей, які активно транскрибуються, в  $i$ -й і всіх хромосомах клітини відповідно, а в разі опромінювання корпускулярними випромінюваннями з великою ЛПЕ  $\ell_i$  і  $L$  — довжина  $i$ -ї хромосоми і загальна довжина всіх хромосом у клітині відповідно. Тоді  $\bar{n}_i = q_i n_0$  — середня кількість НРРП, що утворюються в  $i$ -й хромосомі при дозі, яка дорівнює одиниці.

Розглянемо модель 1. У рамках цієї моделі припускається, що при опромінюванні клітини в ній утворюються НРРП одного виду, а НРП не утворюються. Вважаємо також, що кожна хромосома обслуговується однаковою кількістю ФРК. Кількість НРРП в окремій хромосомі — випадкова величина, що має розподіл Пуассона. Тому ймовірність того, що величина  $n_i$  дорівнює деякому  $n$ , обчислюють за формулою

$$p_i(n) = \frac{\xi_i^n e^{-\xi_i}}{n!},$$

де  $\xi_i = q_i n_0 D$ . Очевидно, що  $\sum_{i=1}^{n_x} q_i = 1$ , де  $n_x$  — число хромосом у клітині.

Використовуватимемо позначення повідомлення 1, а саме: нехай  $t$  — тривалість репарабельного інтервалу, тобто проміжку часу від утворення НРРП, до моменту, коли його нерепарованість спричинить необоротну дезорганізацію генома і загибель клітини,  $T$  — максимальна тривалість репарабельного інтервалу,  $\tau$  — тривалість репарації одного НРРП,  $k = \frac{\tau}{T}$ ,  $N$  — ціла частина числа  $\frac{T}{\tau}$ ,  $m$  — число ФРК, що обслуговують одну хромосому,  $S$  — імовірність виживання (виживаність<sup>в</sup>) опроміненої клітини. Нехай  $\rho_{pi}$  — імовірність того, що протягом репарабельного інтервалу репарація  $i$ -ї хромосоми буде завершена.

Імовірності того, що  $t < \tau$ ;  $\tau \leq t < 2\tau$ ;  $2\tau \leq t < 3\tau$ ; ...;  $N\tau \leq t$  для асинхронної популяції клітин дорівнюють відповідно  $k$ ;  $k$ ;  $k$ ; ...;  $1 - kN$ .

При  $t < \tau$  клітина виживає в тому разі, коли в жодній із хромосом не утворилося жодного НРРП. Імовірність цього ( $\rho_0$ ) дорівнює

$$\rho_0 = \prod_{i=1}^{n_x} p_i(0),$$

де  $p_i(0) = e^{-\xi_i}$ . Враховуючи, що  $\sum_{i=1}^{n_x} q_i = 1$ , запишемо

$$\rho_0 = \prod_{i=1}^{n_x} e^{-q_i n_0 D} = e^{-n_0 D \sum_{i=1}^{n_x} q_i} = e^{-n_0 D}.$$

При  $\tau \leq t < 2\tau$  клітина виживає, якщо кількість НРРП, утворених у кожній із хромосом, не більша за  $m$ . Імовірність цього ( $\rho_1$ ) становить

$$\rho_1 = \prod_{i=1}^{n_x} p_i(n \leq m) = \prod_{i=1}^{n_x} \left( \sum_{n=0}^m p_i(n) \right) = \prod_{i=1}^{n_x} \left( \sum_{n=0}^m \frac{\xi_i^n e^{-\xi_i}}{n!} \right).$$

При  $2\tau \leq t < 3\tau$  клітина виживає, якщо в кожній із хромосом кількість НРРП, що утворилися, не перевищує  $2m$ . Імовірність цього ( $\rho_2$ ) дорівнює

$$\rho_2 = \prod_{i=1}^{n_x} p_i(n \leq 2m) = \prod_{i=1}^{n_x} \left( \sum_{n=0}^{2m} p_i(n) \right) = \prod_{i=1}^{n_x} \left( \sum_{n=0}^{2m} \frac{\xi_i^n e^{-\xi_i}}{n!} \right).$$

Аналогічно для всіх  $\rho_j$  ( $j = 1, 2, \dots, N$ ) можна записати

$$\rho_j = \prod_{i=1}^{n_x} \left( \sum_{n=0}^{jm} \frac{\xi_i^n e^{-\xi_i}}{n!} \right).$$

Тепер для  $S$  формула матиме такий вигляд:

$$S = k e^{-n_0 D} + k \sum_{j=1}^{N-1} \left( \prod_{i=1}^{n_x} \left( \sum_{n=0}^{jm} \frac{\xi_i^n e^{-\xi_i}}{n!} \right) \right) + (1 - kN) \prod_{i=1}^{n_x} \left( \sum_{n=0}^{Nm} \frac{\xi_i^n e^{-\xi_i}}{n!} \right).$$

Існуючий рівень знань не дозволяє коректно оцінювати значення величин  $q_i$ , тим більше, що вони, найімовірніше, змінюються залежно від того, на якому етапі тієї чи іншої стадії клітинного циклу перебувала клітина в момент опромінювання. Тому неминучим (хоч і невідомо, наскільки коректним) стає припущення, яке спрощує модель, про те що, всі  $q_i$  дорівнюють одна одній. У межах цього припущення  $q_i = \frac{1}{n_x}$  для всіх  $i = 1, 2, \dots, n_x$ . Тоді

$$\begin{aligned} S &= k e^{-n_0 D} + k \sum_{j=1}^{N-1} \left( \sum_{n=0}^{jm} \frac{\xi^n e^{-\xi}}{n!} \right)^{n_x} + (1 - kN) \left( \sum_{n=0}^{Nm} \frac{\xi^n e^{-\xi}}{n!} \right)^{n_x} = \\ &= e^{-n_0 D} \cdot \left( k \cdot \left( 1 + \sum_{j=1}^{N-1} \left( \sum_{n=0}^{jm} \frac{\xi^n}{n!} \right)^{n_x} \right) + (1 - kN) \cdot \left( \sum_{n=0}^{Nm} \frac{\xi^n}{n!} \right)^{n_x} \right), \end{aligned} \quad (1)$$

де  $\xi = \frac{n_0 D}{n_x}$ .

Нехай  $y = \ln S$ . Тоді

$$y = \ln \left( k \cdot \left( 1 + \sum_{j=1}^{N-1} \left( \sum_{n=0}^{jm} \frac{\xi^n}{n!} \right)^{n_x} \right) + (1 - kN) \cdot \left( \sum_{n=0}^{Nm} \frac{\xi^n}{n!} \right)^{n_x} \right) - n_0 D.$$

Графік залежності у від  $D$  для моделі 1 представлений на рис. 1.

Розрахунки, на підставі яких побудований графік, показаний на рис. 1, проводили при таких значеннях параметрів моделі:  $n_0 = 50$ ,  $m = 2$ ,  $k = 0,2$ ,  $n_x = 46$ .

З рис. 1, видно, що в разі використання моделі 1 залежність  $\ln S$  від  $D$  має плече при невеликих значеннях дози, а при великих переходить у ділянку, що візуально не відрізняється від лінійної. Разом з тим, розрахункові залежності  $\ln S$  від  $D$  відрізняються від експериментальних, які реєструються для клітин ссавців і, зокрема, людини. Так, відрізняється просування кривої при значеннях  $D$  порядку кількох  $c\Gamma_r$  (розрахункова крива на цій ділянці має опуклість донизу, а експериментальна — догори). Крім того, у розрахунковій кривій плече виражене більше, ніж у експериментальних. Зазначені відмінності, можливо, пов'язані з тим, що модель 1 — найпростіша з тих, що враховують вплив насичення систем репарації на виживаність еукаріотичних клітин.

Розглянемо складніші моделі.

У моделі 2 будемо припускати, що утворюються НРРП двох видів, а НРП не утворюються. Кожне з НРРП характеризується своїми значеннями параметрів  $n_0$ ,  $\tau$  і  $N$  ( $n_{01}$ ,  $\tau_1$ ,  $N_1$  і  $n_{02}$ ,  $\tau_2$ ,  $N_2$  відповідно). Можливо, різними для обох НРРП є і значення параметра  $m$  ( $m_1$  і  $m_2$ ).

Нехай  $\theta_r$  — це розташовані в порядку зростання такі числа:  $0; \tau_1, 2\tau_1, \dots, N_1\tau_1; \tau_2, 2\tau_2, \dots, N_2\tau_2$ ;  $T$ , причому  $r = 0, 1, \dots, N_1 + N_2 + 1$ . Очевидно, що  $\theta_0 = 0$ . Нехай також  $p_r = \frac{\theta_r - \theta_{r-1}}{T}$  (для  $r > 0$ ),

а змінні  $j_{1r}$  і  $j_{2r}$  є цілими частинами чисел  $\frac{\theta_r + \theta_{r-1}}{2\tau_1}$  та  $\frac{\theta_r + \theta_{r-1}}{2\tau_2}$  відповідно. Очевидно, що вели-

чина  $p_r$  — це ймовірність того, що тривалість репарабельного інтервалу клітини має значення, що лежить в інтервалі від  $\theta_{r-1}$  до  $\theta_r$ , а величина  $j_{ir}$  — це максимальна кількість НРРП  $i$ -го виду, які клітина встигне репарувати при зазначеній тривалості репарабельного інтервалу.

За аналогією з моделлю 1 позначимо  $\xi_1 = \frac{n_{01}D}{n_x}$  і  $\xi_2 = \frac{n_{02}D}{n_x}$ . Як і при виведенні заключних формул моделі 1, вважатимемо, що для обох НРРП усі ймовірності  $q_i$  дорівнюють одна одній.

Тоді

$$S = \sum_{r=1}^{N_1+N_2+1} \left( p_r \cdot \left( \left( \sum_{n_1=0}^{m_1 j_{1r}} \frac{\xi_1^{n_1}}{n_1!} \right) \cdot \left( \sum_{n_2=0}^{m_2 j_{2r}} \frac{\xi_2^{n_2}}{n_2!} \right) \right)^{n_x} \right) = e^{-(n_{01}+n_{02})D} \cdot \sum_{r=1}^{N_1+N_2+1} \left( p_r \cdot \left( \left( \sum_{n_1=0}^{m_1 j_{1r}} \frac{\xi_1^{n_1}}{n_1!} \right) \cdot \left( \sum_{n_2=0}^{m_2 j_{2r}} \frac{\xi_2^{n_2}}{n_2!} \right) \right)^{n_x} \right).$$

Нехай, як і раніше,  $y = \ln S$ . Тоді

$$y = \ln \left( \sum_{r=1}^{N_1+N_2+1} \left( p_r \cdot \left( \left( \sum_{n_1=0}^{m_1 j_{1r}} \frac{\xi_1^{n_1}}{n_1!} \right) \cdot \left( \sum_{n_2=0}^{m_2 j_{2r}} \frac{\xi_2^{n_2}}{n_2!} \right) \right)^{n_x} \right) \right) - (n_{01} + n_{02})D.$$

Графік залежності  $\ln S$  від  $D$  для моделі 2 показаний на рис. 2.

Розрахунки, на підставі яких побудований графік, показаний на рис. 2, проводили при таких значеннях параметрів моделі:  $n_{01} = 50$ ,  $m_1 = 2$ ,  $k_1 = 0,2$ ,  $n_{02} = 10$ ,  $m_2 = 2$ ,  $k_2 = 0,3$ ,  $n_x = 46$ .

При застосуванні моделі 2 ми припускали, що двома видами НРРП мають бути ДР ДНК та однострункові ушкодження великого розміру, і використовували літературні дані для вибору

значень величин  $n_{01}$  та  $n_{02}$ . Параметри моделі 2 для першого із зазначених НРРП збігаються з параметрами моделі 1. Порівнюючи графіки залежностей  $\ln S$  від  $D$ , показані на рис. 1 та 2, легко помітити, що вони майже збігаються. Це, з нашого погляду, є наслідком того, що зазначену залежність у випадку моделі 2 розраховували для набору параметрів, у якому величина  $n_{01}$  істотно більша за  $n_{02}$ . Отже, просування кривої у випадку моделі 2 головним чином визначається першим НРРП, і при застосуванні запропонованих моделей можна враховувати лише ДР ДНК. Разом з тим, необхідно ще проаналізувати модель, яка припускає існування НРП.

Розглянемо модель 3. У ній передбачається, що при опромінуванні можуть утворювати НРРП одного виду, а також НРП. В такому разі окрема клітина виживає при виконанні двох умов:

НРРПУ або не утворюються, або цілком репаруються протягом репарабельного інтервалу; НРП не утворюються.

Ймовірність виконання першої умови обчислюють за формулою (1), якщо, звичайно, при цьому виконуються також припущення моделі 1 (крім припущення про відсутність НРУ).

Якщо вважати, що існують або, принаймні, є значущими НРП одного виду, а кількість НРП, що утворилися, — випадкова величина, яка має розподіл Пуассона, то ймовірність ( $S_2$ ) того, що в клітині не утвориться жодного НРП, обчислюють за формулою

$$S_2 = e^{-\zeta},$$

де  $\zeta$  — число НРП, що утворюються в середньому на одну клітину при дозі, яка дорівнює одиниці.

Якщо, як це зроблено в повідомленні 1, ототожнювати НРП із фракцією ДР, які повільно репаруються і мають квадратичну залежність числа від дози [4, 5], то

$$\zeta = \chi D^2 \text{ і } S_2 = e^{-\chi D^2},$$

де  $\chi$  — деякий коефіцієнт пропорційності.

Тоді

$$S = \left( k e^{-n_0 D} + k \sum_{j=1}^{N-1} \left( \sum_{n=0}^{jm} \frac{\xi^n e^{-\xi}}{n!} \right)^{n_x} + (1 - kN) \left( \sum_{n=0}^{Nm} \frac{\xi^n e^{-\xi}}{n!} \right)^{n_x} \right) \cdot e^{-\chi D^2} =$$

$$= e^{-n_0 D - \chi D^2} \cdot \left( k \cdot \left( 1 + \sum_{j=1}^{N-1} \left( \sum_{n=0}^{jm} \frac{\xi^n}{n!} \right)^{n_x} \right) + (1 - kN) \cdot \left( \sum_{n=0}^{Nm} \frac{\xi^n}{n!} \right)^{n_x} \right)$$

і

$$y = \ln S = \ln \left( k \cdot \left( 1 + \sum_{j=1}^{N-1} \left( \sum_{n=0}^{jm} \frac{\xi^n}{n!} \right)^{n_x} \right) + (1 - kN) \cdot \left( \sum_{n=0}^{Nm} \frac{\xi^n}{n!} \right)^{n_x} \right) - n_0 D - \chi D^2,$$

де, як і раніше,  $\xi = \frac{n_0 D}{n_x}$ .

Графік залежності  $\ln S$  від  $D$  у випадку моделі 3 представлений на рис. 3.

Розрахунки, на підставі яких побудований графік, показаний на рис. 3, проводили при таких значеннях параметрів моделі:  $n_0 = 50$ ,  $m = 2$ ,  $k = 0,2$ ,  $n_x = 46$ ,  $\chi = 0,2$ .

Таким чином, у випадку всіх трьох моделей, що враховують ефект насичення систем репарації опромінених клітин і припускають обмеженість області хроматину, доступної для кожного окремого ФРК, розрахункові криві мають форму, подібну до експериментальних кривих. Разом з тим, хід розрахункової кривої на початковій ділянці (при дозі випромінювання порядку декількох сантигрей) відрізняється від традиційно зображуваного для кривої при малих значеннях дози. Враховуючи, однак, що розкид експериментальних даних при зазначених величинах доз зазвичай досить великий, навряд чи можна твердити, що розрахункові криві не відповідають експериментальним даним.

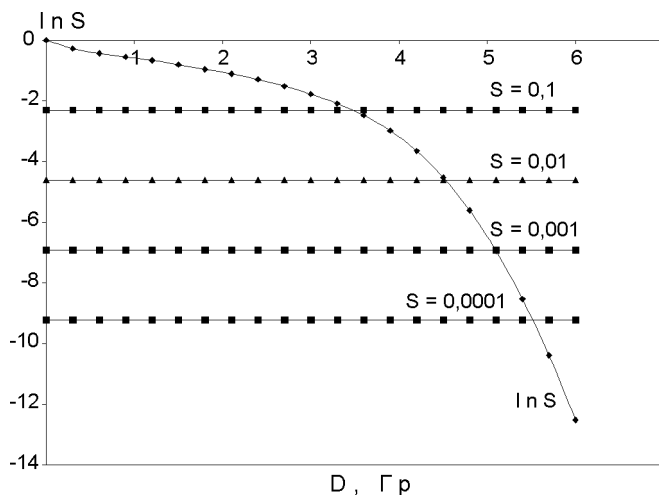


Рис. 1. Залежність  $\ln S$  від  $D$  для моделі 1  
Dependence of  $\ln S$  on  $D$  for model 1

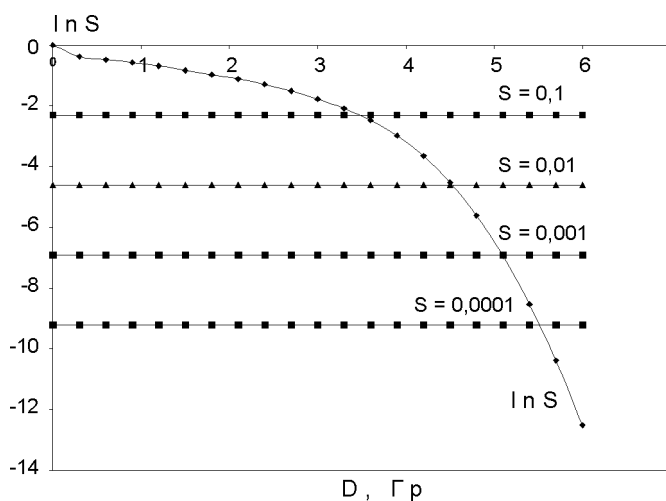


Рис. 2. Залежність  $\ln S$  від  $D$  для моделі 2  
Dependence of  $\ln S$  on  $D$  for model 2

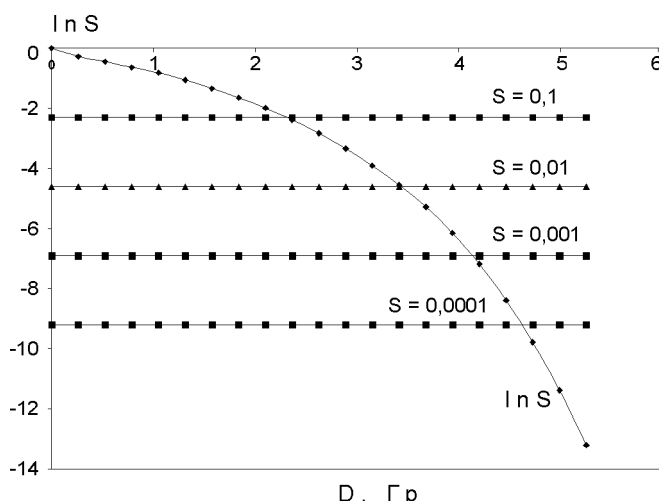


Рис. 3. Залежність  $\ln S$  від  $D$  для моделі 3  
Dependence of  $\ln S$  on  $D$  for model 3

Такі криві, показані на рис. 1–3, характеризуються плечем, більшим, ніж в експериментальних кривих. Втім, можна очікувати, що ретельний підбір значень параметрів моделей може дати кращу відповідність розрахункових і експериментальних кривих. Крім того, результати — експериментальні й модельних розрахунків — мають бути зіставлені з тими, що впливають з моделі, яка припускає незалежну репарацію РП в кожному з петельних доменів хромосоми. Ця остання модель розглядатиметься в наступному повідомленні.

## ВИСНОВКИ

1. Побудовані математичні моделі процесів, що визначають виживаність опромінених клітин, ґрунтуються на припущенні про насичення систем репарації опромінених клітин при великих значеннях дози і припускають обмеженість ділянки клітинного хроматину, яку обслуговує один ферментативний репаруючий комплекс.

2. Показано якісну відповідність розрахункових кривих виживаності опромінених клітин експериментальним даним.

3. Обговорено можливі напрямки подальшого удосконалення математичних моделей процесів, що визначають виживаність опромінених клітин.

## Література

1. Обатуров Г.М. Биофизические модели радиобиологических эффектов. — М.: Энергоатомиздат, 1987. — 148 с.
2. Баскаева И.О. // Радиобиол. — 1992. — Т. 32, вып. 5. — С. 673–683.
3. Газиев А.И. // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1999. — Т. 39, № 6. — С. 630–638.
4. Москалева Е.Ю., Илюшина Н.А. // Итоги науки и техники. Радиационная биология. — 1990. — Т. 9. — С. 1–113.
5. Гродзинський Д.М. Радиобіологія. — К.: Либідь, 2000. — 448 с.

Надходження до редакції 09.06.2004.

Прийнято 22.06.2004.

Адреса для листування:  
Кнігавко Володимир Гілярієвич,  
Харківський державний медичний університет,  
пр-кт Леніна, 4, Харків, 61022, Україна