



مدل سازی ترمیم NHEJ آسیب‌های DNA ناشی از پرتوهای الکترونی محاسبه شده با کمک کدهای Geant4-DNA و MCNPX

شهناز فرازمنده^{۱*}، مجتبی مکاری^{۲*}، محمدحسن علامت‌ساز^۱

۱. دانشکده فیزیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، صندوق پستی: ۸۴۱۵۶۸۳۱۱۱، اصفهان - ایران
۲. گروه فیزیک، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیا (ص) بهبهان، صندوق پستی: ۶۳۶۱۶۶۳۹۷۳، بهبهان - ایران

*Email: mokari@bkatu.ac.ir

مقاله‌ی پژوهشی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۷/۳

چکیده

در پرتو درمانی، از پرتوهای یون‌ساز جهت ایجاد آسیب در سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود. شبیه‌سازی مونت کارلو برهم‌کنش‌های پرتو با DNA، اطلاعات بسیار خوبی درباره نوع آسیب‌ها و فرایند ترمیم آن‌ها به ما می‌دهد که برای درمان سرطان و حفاظت در مقابل پرتوها می‌تواند بسیار مفید باشد. آسیب‌های پرتوهای یون‌ساز شامل شکست‌های تک‌رشته‌ای، دو رشته‌ای و آسیب بازها (BL, DSB, SSB) هستند که در این میان آسیب‌های DNA که به طور ناقص، ترمیم شوند یا اصلاً ترمیم نشوند، خصوصاً از نوع شکست‌های دو رشته‌ای می‌توانند منجر به مرگ سلول شوند. این فرایند در کشتن سلول‌های سرطانی و درمان آن نقش اساسی ایفا می‌کند. در این پژوهش ابتدا با کد MCNPX دز در هسته سلول به دست آمده و سپس با شبیه‌سازی فرایندهای فیزیکی و شیمیایی الکترون‌های کم انرژی و پرنرژی با کد Geant4-DNA، احتمال شکست‌های مختلف در DNA سلول محاسبه شده و سپس با کمک برنامه Matlab و مدل‌سازی ریاضی، زمان ترمیم برای آسیب‌ها به دست آمده است. نتایج این پژوهش، نشان می‌دهد که در انرژی‌های ۱۰۰ تا ۳۰۰ الکترون ولت تعداد شکست‌ها افزایش می‌یابد و سپس در انرژی بالاتر در سلول به دلیل سهم برد پرتوها در هندسه مورد نظر (سلول) تعداد شکست‌ها کاهش می‌یابد. هم‌چنین سرعت واکنش ترمیم از مسیر پیش‌سازنده اتصال انتهایی غیرهمولوگ (NHEJ) برای بازه انرژی ۱۰۰ eV تا ۱ MeV محاسبه شده است. در بخش ترمیم نیز، زمان ترمیم در انرژی‌های پایین به دلیل فزونی شکست دو رشته‌ای، نسبت به انرژی‌های بالاتر، مقدار بیش‌تری است.

کلیدواژه‌ها: آسیب DNA، ترمیم DNA، آسیب الکترون، شکست دو رشته‌ای، NHEJ، کد MCNPX، کد Geant4-DNA

Modeling the NHEJ repair of DNA damage induced by electrons calculated using the MCNPX and Geant4-DNA codes

S. Farazmand¹, M. Mokari^{2*}, M.H. Alamatsaz¹

1. Department of Physics, Isfahan University of Technology, P.O.Box: 8415683111, Isfahan - Iran
2. Department of Physics, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, P.O.Box: 6361663973, Behbahan - Iran

Research Article

Received 8.7.2021, Accepted 25.9.2021

Abstract

In radiotherapy, ionizing radiation is used to damage cells. Monte Carlo simulations of radiation interactions with DNA give us good information about the type of damage and their repair process, which can be very useful in treating cancer and protecting against radiation. The ionizing radiation damage includes single- and double-strand breaks as well as base lesions (SSB, DSB, BL). The DNA damage can be repaired through some processes within the cell. DNA damage, especially of DSBs that are mis-repaired or unrepaired, can result in cell death. This process plays a crucial role in killing cancer cells and treating cancer. In this research, first, the dose was calculated in the cell nucleus with the MCNPX code. Then, the possibility of different damage types in DNA was investigated by simulating the physical and chemical processes of low and high-energy electrons with the Geant4-DNA code. Then with the help of the Matlab software and mathematical modeling, we investigated the repair of DSBs for the latter energies. The results show that at ranging energies of 100 to 300 eV, the number of breaks increases, and for higher energies, it decreases due to the electron range in the cell nucleus. The repair reaction rate is also calculated from the NHEJ presynaptic process for ranging energies 100 eV to 1 MeV. In the repair section, the repair time at low energies is longer than the higher energies due to more DSBs.

Keywords: DNA damage, DNA repair, Electron damage, DSB, NHEJ, MCNPX, Geant4-DNA

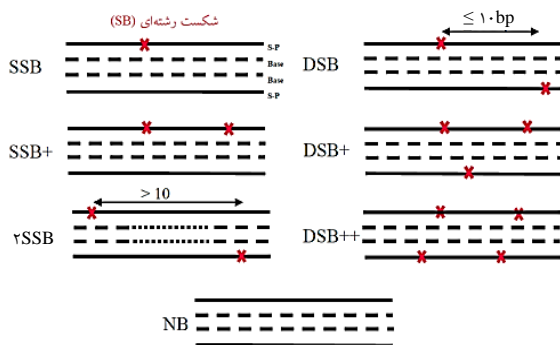


۱. مقدمه

پستانداران فعال است. مسیر HR در اواخر S و G₂ از چرخه سلولی فعال می‌باشد، جایی که یک کروماتید خواهری به عنوان الگوی ترمیم در دسترس است و مسیر MMEJ به‌طور عمده در مرحله G₁ و اوایل S، چرخه سلولی فعال است.

اگر شکست دو رشته‌ای از نوع پیچیده و یا شکست در ناحیه متراکم کروماتین معروف به هتروکروماتین باشد و در صورتی که ترمیم از مسیر NHEJ صورت نگیرد، مسیرهای HR یا MMEJ می‌توانند شکست دو رشته‌ای را با سرعت واکنش کندتر ترمیم کنند [۵]. البته مسیرهای ترمیم برای انواع آسیب‌ها (BL) و SSB⁺ و DSB⁺ تخصصی هستند. مثلاً ترمیم SSB و BL بسیار ساده و سریع است و تعمیر DSB بسیار دشوار است و ممکن است ترمیم در مدت زمان زیادی انجام شود [۶].

تاکنون چندین کار به‌صورت تجربی و شبیه‌سازی برای بررسی آسیب و ترمیم DNA پس از پرتودهی انجام شده است که از جمله کارهای تجربی در زمینه آسیب و ترمیم DNA به پژوهش‌های دی لارا و همکاران بر سلول‌های همستر چینی در اثر پرتودهی با اشعه ایکس در سال ۲۰۰۱ می‌توان اشاره کرد [۷]. مکاری و همکاران در سال ۲۰۱۸، با کد Geant4-DNA و یک برنامه تحلیلی با زبان پایتون، آسیب پرتوهای الکترون را در DNA بررسی و محاسبه کرده و با کارهای تجربی و شبیه‌سازی قبلی مقایسه کردند [۸] که در این پژوهش، روش محاسبه آسیب DNA ایشان مورد استفاده قرار گرفته است. در پژوهش دیگر نیکجو، طالعی و همکارانش شبیه‌سازی برای الکترون‌ها و یون‌های سنگین، با کد KURBUC انجام دادند و سرعت واکنش ترمیم برای چند پرتو خاص را با استفاده از مدل ترمیم برای شکست دو رشته‌ای، محاسبه کردند [۹].



شکل ۱. مدل شکست‌های رشته‌ای DNA ناشی از انباشت انرژی و واکنش رادیکال‌های شیمیایی: DNA با چهار خط نشان داده شده است. خطوط بالا و پایین نشان‌دهنده قند-فسفات (رشته‌ها) هستند و خطوط نقطه‌چین نشان‌دهنده بازها هستند. شکست‌ها با علامت قرمز نشان داده شده است. (اگر دو شکست در رشته‌های مخالف و در فاصله کم‌تر یا مساوی ۱۰ bp از یک‌دیگر قرار بگیرند، آسیب DSB در نظر گرفته می‌شود) [۴].

پرتوهای یون‌ساز در صنعت و پزشکی کاربردهای زیادی دارند. در پزشکی در زمینه‌هایی مثل تصویربرداری و درمان سرطان به‌وسیله کشتن سلول‌های سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از یک طرف، پرتوهای یون‌ساز در درمان سرطان به عنوان یک عامل بهبودی استفاده می‌شود، از طرف دیگر ما باید خود را از اثرات خطرناک آن محافظت کنیم. پرتوها به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر سلول‌ها اثر می‌گذارند، در برهم‌کنش مستقیم، اتم‌های هدف می‌توانند به وسیله انباشت انرژی ناشی از یونیزه‌شدن یا برانگیختگی اتم‌ها، باعث آسیب فیزیکی شوند. همچنین چون ۸۰ درصد سلول از آب تشکیل شده است، این پرتوها باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌شوند. این رادیکال‌ها به‌خاطر داشتن الکترون آزاد به DNA متصل شده و در اثر ناپایداری شیمیایی، منجر به شکست غیرمستقیم DNA می‌شوند. آسیب‌های DNA شامل شکست‌های قند-فسفاتی تک‌رشته‌ای و دو رشته‌ای و شکست بازها هستند. پس از پرتودهی و شکست DNA بسته به این‌که نوع شکست چگونه باشد، ترمیم DNA انجام می‌شود. البته گاهی این ترمیم با موفقیت انجام نمی‌شود و باعث مرگ سلول یا جهش ژن‌های سلول می‌شود [۱]. بررسی برهم‌کنش‌های پرتوهای یون‌ساز با ماده و آسیب‌های وارد شده به DNA و محاسبه زمان ترمیم، نقش اصلی در درمان سرطان دارد؛ زیرا در پرتو درمانی سعی در کشتن سلول‌های سرطانی بدون آسیب رساندن به بافت‌های سالم اطراف است. شکست‌ها همچنین به دو دسته ساده و پیچیده از نوع تک‌رشته‌ای و دو رشته‌ای تقسیم می‌شوند (شکل ۱). انواع مختلف شکست‌های رشته‌ای در DNA شامل شکست‌های ساده SSB، DSB، SSB⁺ و پیچیده شکست‌ها چند bp از هم فاصله دارند طبقه‌بندی می‌شوند (هر bp برابر ۳/۴ انگستروم است).

تاکنون سه مسیر اصلی ترمیم DSB شناسایی شده است که می‌توان به موارد زیر اشاره کرد [۲، ۳]:

الف) اتصال انتهای غیرهمولوگ (NHEJ)

ب) نوترکیبی همولوگ (HR)

ج) اتصال انتهای با واسطه میکروهومولوژی (MMEJ)

در میان سه مسیر اصلی ترمیم، NHEJ ساده‌تر و روند ترمیم آن در مقایسه با ترمیم MMEJ و HR سریع‌تر است و این نوع ترمیم در کل چرخه سلولی در رده‌های سلولی

1. Mutation
2. Base Pair (bp)
3. Nonhomologous End-Joining
4. Homologous Recombination
5. Microhomology Mediated End-Joining

6. Base Lesion (BL)

7. Single Strand Break (SSB)

8. Double Strand Break (DSB)

Journal of Nuclear Science and Technology

Vol. 102, No 1, 2023, P 59-66

مجله علوم و فنون هسته‌ای

جلد ۱۰۲، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱، ص ۵۹-۶۶



ترابرد شده است. چشمه الکترون‌ها به صورت تک انرژی در روی سطح نیم‌کره سلول تعریف شده و به صورت موازی با قطر اصلی سلول تابانده می‌شوند. به جهت محاسبه دز در این مرحله از تالی F4 استفاده شده است. برای تعیین میزان انباشت انرژی و مختصات رادیکال‌های شیمیایی به منظور محاسبه آسیب DNA از کد Geant4-DNA که با قابلیت‌های بیش‌تر نسبت به کد مادر (Geant4) توسعه داده شده، استفاده شد. این کد امکان شبیه‌سازی پرتوها را در محیط‌های کوچک در ابعاد DNA یعنی محدوده نانومتری دارد و با استفاده از روش مونت‌کارلو در ترابرد ذرات، توانایی محاسبه مسیر و برهم‌کنش‌های فیزیکی و شیمیایی ذرات را در محیط آب (معادل محیط سلول) دارد. مطابق سطح مقطع‌های پیش‌فرض کد، الکترون‌ها تا انرژی برش 7.4 eV ، که بر اساس مدل‌های یونیزاسیون و برانگیختگی الکترون در آب تعیین شده، ترابرد شده و با رسیدن به انرژی‌های کم‌تر تمام انرژی جنبشی خود را در نقطه برهم‌کنش انباشت می‌کنند. مدل‌های به‌کار رفته در این تحقیق برای برهم‌کنش الکترون‌ها شامل برانگیختگی الکترونی ($1 \text{ MeV} - 9 \text{ eV}$)، برانگیختگی ارتعاشی ($2 - 100 \text{ eV}$)، پراکندگی الاستیک ($1 \text{ MeV} - 7.4 \text{ eV}$)، یونیزاسیون ($1 \text{ MeV} - 11 \text{ eV}$)، و پیوند مولکولی ($4 - 13 \text{ eV}$) می‌باشند. در این پژوهش کلیه برهم‌کنش‌های فیزیکی مثل الاستیک، یونیزاسیون، برانگیختگی و فرایندهای آبخاری اوزه در نظر گرفته شده و ذرات تا محدوده تعریفی هندسه مادر و انرژی برش ترابرد شده‌اند [10]. پس از شبیه‌سازی پرتوها در محیط آب، مختصات و انرژی انباشت برهم‌کنش‌های فیزیکی و مختصات رادیکال‌های شیمیایی تولیدی در محیط آب بعد از 1 ns در کره مذکور جهت محاسبه آسیب در DNA استخراج شده است.

برای انجام دقیق این پژوهش، محیطی شامل 10^4 تا 10^5 مولکول DNA با طول 216 bp که به‌صورت تصادفی در کره به قطر 6 میکرومتر پخش شده، انتخاب شده است. الکترون‌های اولیه تولید شده در چشمه (در بخش شبیه‌سازی با Geant4-DNA) برابر 10^3 تا 2×10^4 ذره اولیه با انرژی بین 100 eV تا 1 MeV در نظر گرفته شده که از سطح نیم‌کره به داخل آن تابیده می‌شوند. مدل اصلی Geant4-DNA برای این کار انتخاب شده است و کلیه برهم‌کنش‌ها برای الکترون‌های اولیه و ثانویه با این مدل شبیه‌سازی شده است (توضیحات بیش‌تر فرضیات و مراحل محاسبه آسیب، در مرجع [8] آمده است). سپس آسیب وارده به مولکول DNA محاسبه شده و مورد بررسی قرار گرفته است.

در این پژوهش ابتدا با کد MCNPX دز درون هسته سلول را برای انرژی‌های مختلف اندازه‌گیری می‌کنیم و سپس با کد Geant4-DNA و شبیه‌سازی فیزیکی و شیمیایی پرتوها در محیط آب (معادل سلول)، توزیع انرژی انباشت پرتوها، میزان رادیکال‌های شیمیایی و آسیب از نوع دو رشته‌ای و هم‌چنین ساده و پیچیده نمونه‌ی DNA محاسبه می‌شود. در ادامه کار به کمک نتایج به‌دست آمده از کدهای MCNPX و Geant4-DNA و هم‌چنین با استفاده از یک مدل ریاضی، ترمیم آسیب‌های دو رشته‌ای را برای الکترون‌ها در بازه انرژی 100 eV تا 1 MeV که بیش‌تر الکترون‌های اولیه و ثانویه ساطع شده از رادیونوکلیدهای مورد استفاده در پرتودرمانی را پوشش می‌دهد، بررسی و محاسبه می‌کنیم. در این پژوهش سعی شده با کدهای ذکر شده خصوصاً Geant4-DNA و روش محاسباتی فرایند ترمیم با معادلات جمع‌آوری شده از پژوهش‌های قبلی، فرایند ترمیم با دقت بیش‌تر نسبت به کارهای قبلی محاسباتی مورد بررسی قرار گرفته و در خصوص فرایند پرتودرمانی و آسیب‌های پرتو، اطلاعات بیوفیزیکی مفیدی جهت بررسی فرایند برهم‌کنش پرتو با سلول ارایه شود. لازم به ذکر است در فرایند پرتودهی سلول‌های سرطانی فرایند آسیب، ترمیم و مرگ سلول‌ها با هم اهمیت دارند که به ترتیب در سلول رخ می‌دهند.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش شامل دو قسمت است. قسمت اول به کمک کدهای ۲.۴ MCNPX و Geant4-DNA (مبتنی بر شبیه‌سازی مونت‌کارلو 710.3 Geant4 برای ترابرد ذرات داخل ماده) انجام گرفته است. برای این منظور در محیط کره‌ای معادل هسته سلول میزان دز فیزیکی با کد MCNPX محاسبه شده و از کد Geant4-DNA برای شبیه‌سازی توزیع انرژی و رادیکال‌های شیمیایی استفاده شده است. کد Geant4-DNA توانایی محاسبه مسیر و برهم‌کنش‌های فیزیکی و شیمیایی ذرات را در محیط آب (معادل محیط سلول) دارد. این کد برهم‌کنش‌های فیزیکی الکترون‌های اولیه و هم‌چنین الکترون‌های ثانویه با محیط را شبیه‌سازی می‌کند [10]. هم‌چنین برهم‌کنش‌های شیمیایی رادیکال‌های هیدروکسیل با DNA نیز مورد بررسی قرار گرفته شده است. در مرحله شبیه‌سازی با کد MCNPX (و هم‌چنین Geant4-DNA) شکل هندسی یک کره از جنس آب به قطر 6 میکرومتر برابر میانگین شعاع هسته سلول‌های پستاندارن در نظر گرفته شده و به جهت تأیید آزمون‌های اعتبار و کاهش خطای شبیه‌سازی با کد MCNPX، تا تعداد 10^9 ذره



۱.۲ مدل سازی ریاضی ترمیم

هتروداایمر $Ku\gamma_0/Ku\lambda_0$ کاهش می یابد و α میزان القای DSB در یک گری دز در سلول است یا بازده شکست های دورشته ای در سلول (ستون آخر جدول ۱) است (در روابط این بخش Y_i غلظت مجموعه هر پروتیین در فرایند ترمیم، V_i سرعت ترمیم و K_i ثابت ترمیم هر پروتیین می باشند).

$$\frac{dY_1}{dt} = \alpha \frac{dD}{dt} - V_1 \quad (1)$$

$$V_1 = K_1 [Ku\gamma_0 / Ku\lambda_0] V_1 \quad (2)$$

هترو دایمر $Ku\gamma_0/Ku\lambda_0$ به سمت داخل جابه جا می شود تا فضای بیش تری را برای به کارگیری $DNA-PK$ فراهم کند. $DNA-PK$ ها به مجموعه $Ku-DNA$ متصل می شود. هتروداایمر $Ku\gamma_0/Ku\lambda_0$ همراه با $DNA-PK$ ها مجموعه $DNA-PK$ ها را تشکیل می دهند. مطابق معادله ۳، Y_2 به کارگیری $Ku\gamma_0/Ku\lambda_0$ افزایش می یابد و با به کارگیری $DNA-PK$ ها کاهش می یابد.

$$\frac{dY_2}{dt} = V_1 - V_2 \quad (3)$$

$$V_2 = K_2 [DNA - PKcs] Y_2 \quad (4)$$

فرایندهای ترمیم DSB، هم چنین توسط اتوفسفوریلاسیون در دو سایت تنظیم می شود [۱۷]. Y_3 و Y_4 نشان دهنده غلظت اتوفسفوریلاسیون $DNA-PK$ ها از دو جایگاه است.

$$\frac{dY_3}{dt} = V_2 - V_3 \quad (5)$$

$$V_3 = K_3 Y_3 \quad (6)$$

$$\frac{dY_4}{dt} = V_3 - V_4 \quad (7)$$

$$V_4 = K_4 Y_4 \quad (8)$$

برحسب نوع DSB، فرایند ترمیم از سه زیر مجموعه ترمیم با سرعت واکنش ترمیم V_5 و V_8 و V_{12} پردازش می شوند.

$$\frac{dY_5}{dt} = V_3 - V_5 - V_8 - V_{12} \quad (9)$$

$$V_5 = K_5 [Polymerase \lambda - \mu] Y_5 \quad (10)$$

$$V_8 = K_8 [Artemis / ATM] Y_5 \quad (11)$$

$$V_{12} = K_{12} [MRN] Y_5 \quad (12)$$

برای کشف کمی جزئیات فرایندهای ترمیم، ما از مدل سازی ریاضی خاصی که از تحلیل نتایج تجربی به دست آمده، استفاده می کنیم. کوکینوتا و همکارانش یک رویکرد ریاضی و بیوشیمیایی را ارائه دادند که می تواند سرعت واکنش ترمیم شکست دو رشته ای و هم چنین سرعت واکنش کانونی شدن γ -H2AX را توصیف کند [۱۱، ۱۲]. در ادامه پژوهش ها، براساس همان رویکرد ریاضی، طالعی و همکاران نیز مدل های ترمیمی را توسعه دادند [۱۳، ۱۴]. در مدل اشاره شده با استفاده از رویکرد دینامیکی، تلاش برای بررسی ترمیم DSB با پیدا کردن آسیب، صورت می گیرد. شکست های دو رشته ای (DSB) به سه زیر گروه DSB ساده در یوکروماتین (EC)، DSB ساده در هتروکروماتین (HC) و DSB پیچیده (در HC یا EC) تقسیم می شود که در طی این فرایند ترمیمی، $DNA-PK$ ها به سرعت به تمام DSB ها متصل می شوند. در مدل ارائه شده در پژوهش ما نیز ترمیم تمام DSB ها با فرایندهای پیش سازنده NHEJ بررسی می شوند که شامل یافتن آسیب توسط هتروداایمر $Ku\gamma_0/Ku\lambda_0$ و به کار گرفتن $DNA-PK$ ها و اتوفسفوریلاسیون $DNA-PK$ ها است. با مشاهدات تجربی ترمیم DNA، می توان دریافت که هتروداایمر $Ku\gamma_0/Ku\lambda_0$ به همراه مجموعه $XRCC4/Ligase IV$ می تواند انتهای سازگار با ترمیم را فراهم کند [۱۵]. البته فرایند پیش سازنده NHEJ برای آسیب های ساده بسیار سریع تر است. برای آسیب های ساده در هتروکروماتین، پردازش بیش تر و بازکردن کروماتین توسط پروتیین های آرتمیس و ATM انجام می شود، که با $KAP-1$ فسفریله می شوند. سرانجام آسیب های پیچیده، مستقل از آسیب در HC یا EC، تحت عمل ترمیم قرار می گیرند. در این رویکرد، از قانون اثر جرم برای بیان مدل به فرمول های ریاضی استفاده می شود و Y_i و V_i و K_i به ترتیب غلظت مجموعه پروتیین های ترمیم، نرخ ترمیم و ثابت سرعت واکنش ترمیم در مرحله اول ترمیم را نشان می دهند. فرض بر این است که یک دز حاد به سلول ها تحویل داده می شود و نقطه شروع برای ترمیم، زمان آغاز پرتودهی است. هتروداایمرهای $Ku\gamma_0/Ku\lambda_0$ جذب DSB می شوند و در ادامه پروتیین های MRN و $PAPR-1$ وارد عمل می شوند [۱۶].

معادله ۱ نشان می دهد Y_1 (غلظت مجموعه پروتیین اول) با میزان دز در واحد زمان (dD/dt) افزایش می یابد و با جذب

1. Heterodimers
2. Auto Phosphorylation
3. Phosphorylate



مراحل آخر ترمیم توسط MMEJ، پر کردن شکاف و پایان دادن توسط پلیمرز و لیگاز است. سنتز شکاف توسط آنزیم پلیمرز β [۲۱] انجام می‌شود و مجموعه $XRCC \ 1 / Ligase \ III$ فرایند اتصال را انجام می‌دهد.

$$\frac{dY_{15}}{dt} = V_{14} - V_{15} \quad (27)$$

$$(28)$$

$$V_{15} = K_{15} [Polymerase \ \beta] Y_{15}$$

$$\frac{dY_{16}}{dt} = V_{15} - V_{16} \quad (29)$$

$$V_{16} = K_{16} [XRCC \ 1 / LIG \ III] Y_{16} \quad (30)$$

$$\frac{dY_{17}}{dt} = V_{16} - V_{17} \quad (31)$$

$$V_{17} = K_{17} Y_{17} \quad (32)$$

۳. بحث و بررسی نتایج

در این پژوهش برای الکترون‌های کم انرژی (۱۰۰ eV تا ۳۰ keV) و سپس الکترون پرنرژی ۱ MeV مقادیر احتمال انواع شکست‌ها، توزیع انرژی انباشته و انواع آسیب‌های مستقیم و غیرمستقیم محاسبه شده‌اند و سپس توابع توزیع احتمال (PDF) و تابع توزیع تجمعی (CDF) فرایندهای تصادفی پروتیین‌های ترمیم محاسبه و رسم شده است و با کمک تابع توزیع تجمعی، بر حسب این‌که شکست از چه نوعی باشد، زمان ترمیم برای هر شکست به روش نمونه‌گیری تبدیل معکوس^۳ (ITS) محاسبه شده است.

۳.۱ نتایج شبیه‌سازی آسیب الکترون‌ها در DNA و سلول

با توجه به نتایج این پژوهش، در جدول ۱ احتمال انواع شکست‌ها در DNA و بازده شکست‌های دورشته‌ای در سلول (تعداد شکست دورشته‌ای در واحد دز در یک سلول) ارایه شده است. احتمال هر نوع آسیب برابر تعداد آسیب مورد نظر در کل DNAهای هدف قرار گرفته شده در فرایند پرتودهی است. نتایج نشان می‌دهد، که احتمال شکست دو رشته‌ای در بازه ۱۰۰ eV تا ۵۰۰ eV با افزایش همراه است و احتمال شکست در بازه ۵۰۰ eV تا ۱ MeV کاهش می‌یابد.

سپس DSB ساده توسط مجموعه $XRCC \ 4 / LIG \ IV$ بسته می‌شود.

$$\frac{dY_p}{dt} = V_5 - V_p \quad (13)$$

$$V_p = K_p [XRCC \ 4 / LIG \ IV] Y_p \quad (14)$$

$$\frac{dY_v}{dt} = V_p - V_v \quad (15)$$

$$V_v = K_v Y_v \quad (16)$$

آرتمیس، که یک پروتیین ترمیم اندونوکلاز^۱ است، کسری از DSB را به آرامی ترمیم می‌کند. علاوه بر پردازش نهایی آرتمیس، و فسفریلاسیون ATM از $KAP-1$ برای بازسازی کروماتین مورد نیاز است و در این قسمت، ترمیم با پرکردن شکاف و بستن و اتصال زنجیره انجام می‌شود [۱۸].

$$\frac{dY_\lambda}{dt} = V_\lambda - V_\lambda \quad (17)$$

$$V_\lambda = K_\lambda [Polymerase \ \lambda - \mu] Y_\lambda \quad (18)$$

$$\frac{dY_{10}}{dt} = V_9 - V_{10} \quad (19)$$

$$V_{10} = K_{10} [XRCC \ 4 / LIG \ IV] Y_{10} \quad (20)$$

$$\frac{dY_{11}}{dt} = V_{10} - V_{11} \quad (21)$$

$$V_{11} = K_{11} Y_{11} \quad (22)$$

در مسیر MMEJ مجموعه MRN در برداشت مجدد DSB شرکت دارد. این کار با ترمیم توسط $PARP-1$ انجام شده که یکی از پروتیین‌هایی است که توسط هتروداایمر Ku مهار می‌شود [۱۹] و در ترمیم MMEJ دخیل است. $PARP-1$ هم‌چنین در مراحل اولیه ترمیم MMEJ پس از کوتاه کردن تأثیر می‌گذارد و می‌تواند مراحل ترمیم بعدی MMEJ را کنترل کند.

$$\frac{dY_{12}}{dt} = V_{12} - V_{12} \quad (23)$$

$$V_{12} = K_{12} [PARP - 1] Y_{12} \quad (24)$$

پس از جفت شدن همسان میکروهومولوژی که از طریق فرایند برش‌دهی مهیا می‌شود؛ آنزیم فلپ اندونوکلاز^۲ ($FEN1$) نوکلئوتیدهای جفت نشده را حذف می‌کند [۲۰].

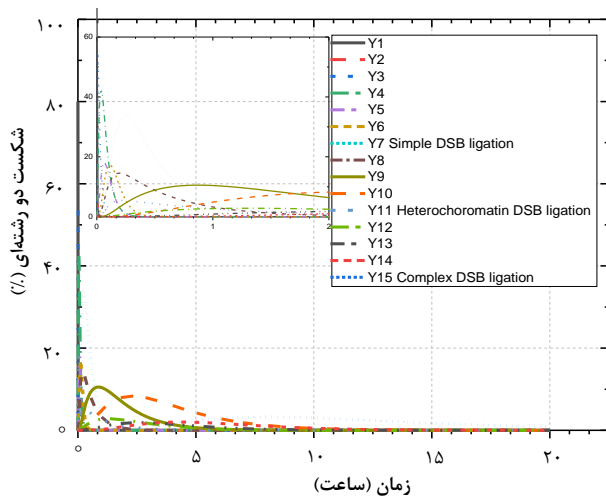
$$\frac{dY_{13}}{dt} = V_{13} - V_{13} \quad (25)$$

$$V_{13} = K_{13} [FEN \ 1] Y_{13} \quad (26)$$

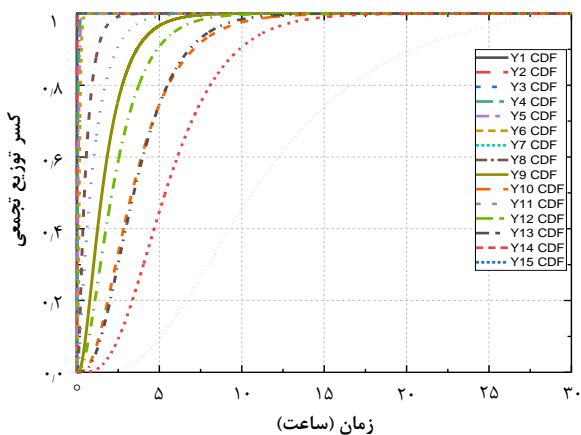


شکل ۳ تابع توزیع تجمعی (CDF) پروتیین‌های ترمیم (Y_1 تا Y_{17}) را نشان داده است که با تجمع PDF در طول زمان محاسبه شده است. نمونه‌برداری تبدیل معکوس CDF، زمان سپری شده برای فرایندهای ترمیم بیوفیزیکی در DSB توسط هر پروتیین را نشان داده است. به منظور محاسبه زمان ترمیم کل، کلیه شکست‌های دو رشته‌ای ایجاد شده، به وسیله معادلات ترمیم مورد بررسی قرار گرفتند و تعداد DSB ترمیم شده با گذشت زمان محاسبه شدند [۲۴].

شکل ۴ درصد شکست‌های دورشته‌ای ترمیم نشده را نسبت به زمان نشان می‌دهد. با توجه به شکل مشاهده می‌شود، سرعت واکنش ترمیم الکترون‌های 100 eV تا 300 eV کاهش یافته و سپس با افزایش انرژی، بیش‌تر می‌شود. این مشاهدات به دلیل سهم بیش‌تر آسیب‌ها رخ داده است [۲۵].



شکل ۲. فرایند مرحله به مرحله ترمیم که به وسیله مدل ارائه شده در این پژوهش محاسبه می‌شود. درصد ترمیم DSB ساده، DSB در هتروکروماتین و DSB پیچیده مشخص شده است.



شکل ۳. تابع توزیع تجمعی فرایندهای ترمیم در هر مرحله را نشان می‌دهد.

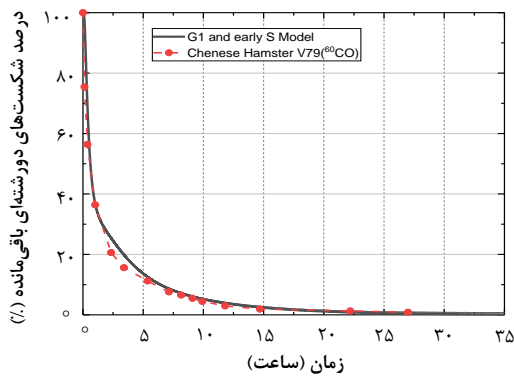
جدول ۱. احتمال شکست‌های دو رشته‌ای ساده و پیچیده در DNA با انرژی آستانه آسیب مستقیم برابر 17.5 eV و احتمال آسیب غیرمستقیم رادیکال هیدروکسیل برابر 0.13 برای الکترون‌های 100 eV تا 1 MeV (فرضیات از مرجع [۸] انتخاب شده است).

انرژی	Y_{DSB} ($\text{Gy}^{-1} \cdot \text{cell}^{-1}$)	DSB ⁺⁺ %	DSB ⁺ %	DSB %
100 eV	55.19 ± 2.2	0.15	1.42	3.91
200 eV	110.33 ± 2.2	2.78	6.71	6.76
300 eV	154.66 ± 2.09	7.44	9.95	7.5
500 eV	158.94 ± 1.64	5.54	10.94	9.94
1 keV	72.28 ± 1.31	1.3	5.88	10.91
1.5 keV	33.58 ± 0.79	0.33	2.49	6.68
4.5 keV	27.01 ± 1.34	0.3	0.5	2.32
30 keV	5.37 ± 1.34	0.1	0.0	0.14
1 MeV	3.88 ± 1.58	0.0	0.0	0.05

۲.۳ سرعت واکنش ترمیم

در این پژوهش از روش تصادفی که توسط فریلند و همکاران انجام شده، استفاده شده است [۲۲، ۲۳]. برای حل معادلات این مدل، به غلظت پروتیین‌های ترمیمی نیاز است (معادلات و مقادیر ثابت ترمیم در این مرجع نشان داده شده است) [۹]. اولین فرضیه برای حل سیستم معادلات این بود که غلظت پروتیین‌های ترمیم‌کننده در سلول‌ها به اندازه کافی زیاد باشد. سپس معادلات را به صورت عددی با روش رانگ-کوتا مرتبه چهارم به شکل هم‌زمان و پیوسته حل می‌کنیم. در این پژوهش، فرض بر این است که سیستم ترمیم بدون توجه به کیفیت تابش، به نوع آسیب ناشی از DNA پاسخ می‌دهد. بنابراین، یک DSB ساده ایجاد شده توسط الکترون یا فوتون یا یون‌های سنگین با همان سرعت واکنش ترمیم می‌شود. با استفاده از روش نمونه‌گیری معکوس، زمان ترمیم مورد نیاز برای ترمیم هر مرحله DSB توسط پروتیین مربوط به آن مرحله محاسبه می‌شود. در شکل ۲ اجزای مرحله به مرحله سرعت واکنش ترمیم DSB را نشان داده شده است. Y_1 تا Y_5 فرایندهای ترمیم پیش‌سازنده قبل از پایان پردازش و متصل شدن DSB را نشان داده، که برای همه DSB‌ها مشترک است. Y_6 و Y_7 ترمیم DSB ساده را که توسط مسیر NHEJ انجام شده، نشان می‌دهد. Y_9 تا Y_{11} پردازش و متصل شدن نهایی DSB ساده را در هتروکروماتین نشان داده است و Y_{12} تا Y_{17} فرایند نهایی و متصل شدن DSB پیچیده در یوکروماتین یا هتروکروماتین در MMEJ را نشان داده است. با مشاهده سرعت واکنش اتصال DSB ساده، DSB در هتروکروماتین و DSB پیچیده که به ترتیب توسط Y_7 و Y_{11} و Y_{17} (در شکل ۲) مشخص می‌شوند، ملاحظه می‌کنیم که میانگین زمان اتصال Y_{17} بیش‌تر از Y_{11} و Y_{11} بیش‌تر از Y_7 است.

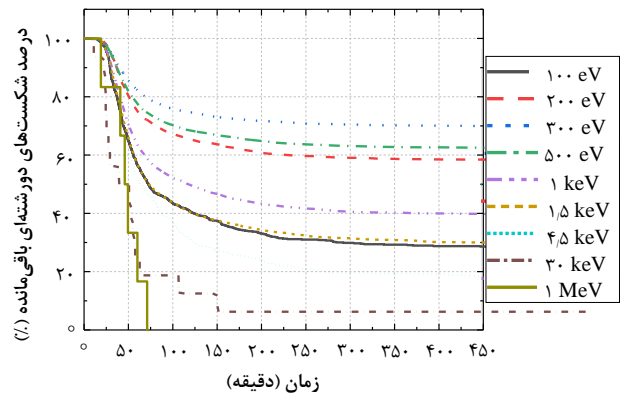




شکل ۵. مقایسه سرعت واکنش کلی ترمیم DSB در مدل ارائه شده در این پژوهش با نتایج تجربی سلول‌های V79 تابش شده با ^{60}Co .

۴. نتیجه‌گیری

در این کار تلاش شده تا با کد Geant4-DNA برای الکترون‌های ۱۰۰ eV تا ۱ MeV با در نظر گرفتن تمام عوامل مثل برهم‌کنش‌های مستقیم الکترون‌ها و برهم‌کنش‌های غیرمستقیم رادیکال هیدروکسیل با DNA، دقت و محاسبات بالاتر رود و مدل دقیق‌تری برای محاسبه و بررسی شکست‌ها در DNA ارائه شود و به کمک برنامه Matlab سرعت واکنش ترمیم برای همه انرژی‌های مذکور محاسبه شود. شکست دورشته‌ای به عنوان یک آسیب مخرب برای از بین بردن DNA سلول سرطانی در نظر گرفته شد و نتایج نشان داد، که احتمال شکست دورشته‌ای در بازه ۱۰۰ eV تا ۳۰۰ eV با افزایش همراه است و احتمال شکست در بازه ۵۰۰ eV تا ۱ MeV با کاهش همراه است و در نتیجه سرعت واکنش ترمیم الکترون‌های ۱۰۰ eV تا ۳۰۰ eV کاهش یافته و سپس از ۵۰۰ eV تا ۱ MeV افزایش می‌یابد. بدین ترتیب می‌توان دریافت که پیچیدگی DSB یک پارامتر مهم برای سرعت واکنش ترمیم است. با افزایش پیچیدگی DSB سرعت واکنش ترمیم کندتر می‌شود. با مقایسه مدل ترمیم در این پژوهش با نتایج تجربی مشاهده می‌شود، مدل‌سازی ریاضی این پژوهش به خوبی قادر به توضیح سرعت واکنش ترمیم DSB می‌باشد. نتایج این پژوهش می‌تواند در فرایند درمان سرطان با پرتودرمانی و هم‌چنین طراحی یک نرم‌افزار جامع جهت محاسبه دز، نوع پرتو و میزان زمان پرتودهی به بیمار، نقش بسیار مؤثری داشته باشد.



شکل ۴. نمودار سرعت واکنش ترمیم DSB برای الکترون‌ها در بازه انرژی ۱۰۰ eV تا ۱ MeV.

با توجه به شکل ۲ مشاهده می‌شود که DSB ساده در حدود ۸۸ دقیقه ترمیم شده و DSB‌های ساده‌ای که در منطقه هتروکروماتین قرار دارند در مدت زمان حدود ۴۰۰ دقیقه ترمیم شده و DSB‌های پیچیده نیز در یک روند آهسته در حدود ۱۵۱۰ دقیقه ترمیم شده‌اند. میانگین زمان ترمیم DSB ساده، DSB پیچیده و DSB در هتروکروماتین با تغییر انرژی تابش تقریباً تغییری نمی‌کند، با این حال، نسبت پیچیدگی با تغییر انرژی تابش تغییر می‌کند.

مدل‌سازی انجام شده نشان‌دهنده این است که کد Geant4-DNA و MCNPX می‌تواند انواع شکست‌های دورشته‌ای ساده و پیچیده را با توجه به نوع آسیب که به صورت مستقیم و غیرمستقیم است به خوبی شبیه‌سازی کرده و سرعت واکنش ترمیم را با توجه به این مقادیر به خوبی پیش‌بینی کنند. زمان ترمیم برای انرژی‌های مختلف در شکل ۴ ارائه شده است و مشاهده می‌شود که عامل مهم برای از بین بردن سلول‌های سرطانی ایجاد شکست‌های دورشته‌ای مخصوصاً از نوع پیچیده می‌باشد. با ایجاد شکست دورشته‌ای از نوع پیچیده، زمان ترمیم افزایش یافته و در صورت عدم ترمیم، سلول دست به خودکشی زده و از بین می‌رود.

به منظور اعتبارسنجی محاسبه ترمیم، در شکل ۵ سرعت واکنش کلی ترمیم DSB در مدل ارائه شده در این پژوهش با نتایج تجربی سلول‌های V79 با حدود ۴۵ Gy از گامای تابش شده از ^{60}Co که به کمک ژل الکتروفورز در میدان الکتریکی سرعت واکنش کل ترمیم DSB اندازه‌گیری شده، مقایسه شده است [۲۶]. از مقایسه سرعت واکنش کلی ترمیم DSB با اندازه‌گیری‌های تجربی مشاهده شد، درصد تفاوت بین کار انجام شده در این پژوهش و کار تجربی ذکر شده بین ۰.۴٪ و ۰.۳٪ است.

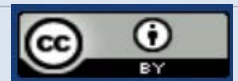


مراجع

1. E.B. Podgorsak, *Radiation Oncology Physics: A Handbook for Teachers and Students*, (International Atomic Energy Agency, Vienna 2005).
2. H. Ouyang, et al, *Ku70 is required for DNA repair but not for T cell antigen receptor gene recombination in vivo*, *J. Exp. Med.*, **186**, 921–929 (1997).
3. M. Lobrich, P.A. Jeggo, *Harmonising the response to DSBs: a new string in the ATM bow*, *DNA Repair*, **4**, 749–759 (2005).
4. H. Nikjoo, et al, *Radiation track, DNA damage and response—a review*, *Rep. Prog. Phys.*, **79**, 116601 (2016).
5. L.S. Symington, J. Gautier, *Double-strand break end resection and repair pathway choice*, *Annu. Rev. Genet.*, **45**, 247–271 (2011).
6. R. Taleei, P.M. Girard, H. Nikjoo, *DSB repair model for mammalian cells in early S and G1 phases of the cell cycle: application to damage induced by ionizing radiation of different quality*, *Mutat. Res.*, **779**, 5–14 (2015).
7. C.M. De Lara, et al., *Dependence of the Yield of DNA Double-strand Breaks in Chinese Hamster V79–4 Cells on the Photon Energy of Ultrasoft X Rays*, *Radiat. Res.*, **155**, 440–448 (2001).
8. M. Mokari, et al, *Track structure simulation of low energy electron damage to DNA using Geant4-DNA*, *Biomed. Phys. Eng. Express*, **4**, 65009 (2018).
9. R. Taleei, H. Nikjoo, *Biochemical DSB-repair model for mammalian cells in G1 and early S phases of the cell cycle*, *Mutat. Res.*, **756**, 206–12 (2013).
10. P. Kunderát, R.D. Stewart, *On the biophysical interpretation of lethal DNA lesions induced by ionizing radiation*, *Radiation Protection Dosimetry*, **122**, 169–172 (2006).
11. F.A. Cucinotta, et al, *Biochemical kinetics model of DSB repair and induction of gamma-H2AX foci by nonhomologous end joining*, *Radiat. Res.*, **169**, 214–222 (2008).
12. F.A. Cucinotta, et al, *Kinetics of DSB rejoining and formation of simple chromosome exchange aberrations*, *Int. J. Radiat. Biol.*, **76**, 1463–1474 (2000).
13. R. Taleei, H. Nikjoo, *The non-homologous end-joining (NHEJ) pathway for the repair of DNA double-strand breaks: I. A mathematical model*, *Radiat. Res.*, **179**, 530–539 (2013).
14. R. Taleei, et al, *The non-homologous end-joining (NHEJ) pathway for the repair of DNA double-strand breaks: II. Application to damage induced by ultrasoft X-rays and low energy electrons*, *Radiat. Res.*, **179**, 540–548 (2013).
15. P. Reynolds, et al, *The dynamics of Ku70/80 and DNA-PKcs at DSBs induced by ionizing radiation is dependent on the complexity of damage*, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 10821–10831 (2012).
16. M. Wang, et al, *PARP-1 and Ku compete for repair of DNA double strand breaks by distinct NHEJ pathways*, *Nucleic Acids Res.*, **34**, 6170–6182 (2006).
17. K. Meek, et al, *Trans Autophosphorylation at DNA-dependent protein kinase's two major autophosphorylation site clusters facilitates end processing but not end joining*, *Mol. Cell. Biol.*, **27**, 3881–3890 (2007).
18. A.A. Goodarzi, P. Jeggo, M. Lobrich, *The influence of heterochromatin on DNA double strand break repair: getting the strong, silent type to relax*, *DNA Repair*, **9**, 1273–1282 (2010).
19. M. Wang, et al, *PARP-1 and Ku compete for repair of DNA double strand breaks by distinct NHEJ pathways*, *Nucleic Acids Res.*, **34**, 6170–6182 (2006).
20. L. Liang, et al, *Modulation of DNA end joining by nuclear proteins*, *J. Biol. Chem.*, **280**, 31442–31449 (2005).
21. E. Crespan, et al, *Microhomology-mediated DNA strand annealing and elongation by human DNA polymerases lambda and beta on normal and repetitive DNA sequences*, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 5577–5590 (2012).
22. W. Friedland, et al, *Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC*, *Mutat. Res.*, **711**, 28–40 (2011).
23. W. Friedland, P. Jacob, P. Kunderát, *Stochastic simulation of DNA double-strand break repair by non-homologous end joining based on track structure calculations*, *Radiat. Res.*, **173**, 677–88 (2010).
24. S.P. Ingram, et al., *Mechanistic modelling supports entwined rather than exclusively competitive DNA double-strand break repair pathway*, *Scientific Reports*, **9**, 6359 (2019).
25. M. Mokari, et al, *A Simulation Approach for Determining the Spectrum of DNA Damage Induced by Protons*, *Phys. Med. Biol.*, **63**, 175003 (2018).
26. M. Belli, et al, *DNA DSB induction and rejoining in V79 cells irradiated with light ions: a constant field gel electrophoresis study*, *Int. J. Radiat. Biol.*, **76**, 1095–1104 (2000).

COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.



استناد به این مقاله

شهناز فرازمنند، مجتبی مکاری، محمدحسن علامت‌ساز (۱۴۰۱)، مدل‌سازی ترمیم NHEJ آسیب‌های DNA ناشی از پرتوهای الکترونی محاسبه شده با کمک کدهای Geant4-DNA و MCNPX. ۱۰۲، ۵۹-۶۶

DOI: 10.24200/nst.2022.1467

Url: https://jonsat.nstri.ir/article_1498.html

