

Хурдан нейтрон, Рентген туяаны шарлагаар үүсэх ДНХ-ийн гинжний эвдрэл

Ж.Эрдэнэтогтох^{1*}, А.Ито²

¹ ШУА-ын Физик Технологийн Хүрээлэн

² Япон улс, Токай Их Сургууль

Нейтрон, фотон нь цахилгаан цэнэггүй улмаас организмоор хялбархан нэвтрэх тул хянаж удирдахад багагүй бэрхшээл дагуулдаг. Тиймээс тэдгээр цацрагийн амьд биед үйлчлэх механизм, учруулах хор нөлөөг нарийвчлан судлах ажил эрчимтэй хийгдэж байна. Бид энэхүү ажлаар хурдан нейтрон болон Рентген туяаны ДНХ-ийн гинжийг тасалж эвдэх нөлөөг судалж харьцууллаа. Үүний тулд Япон улсын Яаёой хурдан нейтроны судалгааны реактор болон софтекс Рентген туяаны үүсгүүрийг ашиглаж, плазмид ДНХ-ийн усан уусмалыг шарах туршилт хийв. Туршилтаар ДНХ-ийн гинжний эвдрэлийн хэмжээ нь дээжид шингэсэн тунгаас хамаарч логарифм хуулиар өсөж буй нь тогтоогдлоо. Мөн шарлагын дүнд дээжид үүсэх чөлөөт радикалыг антиоксидант идэвхт нэгдлээр дарангуйлахад ДНХ-ийн гинжний эвдрэл үүсэхээс хамгаалж байсан. Дээжид агуулагдах плазмид ДНХ-ийн тал хувьд эвдрэл үүсэхэд шаардагдах шарлагын тунг антиоксидант хэрэглэсэн болон хэрэглээгүй үед тодорхойлж харьцуулахад, эхний тохиолдолд хоёр дахиаас 4-6 дахин их тунгийн шарлага шаардагдаж буй нь тогтоогдсон.

Түлхүүр үг: ДНХ, Рентген туяа, хурдан нейтрон, дам нөлөө, шууд нөлөө, DMSO

I. УДИРТГАЛ

Организмаар цацраг нэвтрэхэд энергиэ алдаж, организмын бүтэц дэх атом молекулыг өдөөх, эсвэл иончлох процесс явуулна. Үүний дүнд эсийн цөмийн ДНХ эвдэрч, амьдрах чадвараа алдана. Уг шинж чанарт тулгуурлан хавдрын эсийг устгахад цацрагийг өргөнөөр ашигладаг [1,2]. Үүний зэрэгцээ энд цөмийн цэнэгт бөөмсийг илүү түгээмэл ашигладаг боловч эдгээр бөөмс цөмийн цахилгаан орны нөлөөгөөр энергиэ хурдан алдана. Өөрөөр хэлбэл, шугаман энергийн шилжилт (Liner Energy Transfer, LET) их бөгөөд иончлолын нягт өндөртэй. Тиймээс объект хавдрын эс дээр энергиэ бүрэн алдаж, объектоос алслагдсан хэсэгт хор хөнөөл учруулахгүйгээр хавдрын эсийг устгах боломжтой юм. Гэтэл фотон, нейтрон нь цахилгаан цэнэггүй тул бие, организмоор хялбархан нэвтрэх биеийн эрүүл хэсгүүдэд хор нөлөө учруулах нь хавдрын эмчилгээнд хэрэглэх сонирхлыг бууруулж буй гол шалтгаан юм. [3-5] Гэхдээ ¹⁰B изотопын дулааны нейтрон шингэх (Boron Neutron Capture, BNC) урвалыг ашигладаг БНШЭ (Boron Neutron Capture Therapy, BNCT, Бор-нейтрон шингэх урвалын эмчилгээ) аргыг хавдрын эмчилгээнд өргөн ашигладаг. Энэ аргын хувьд BNC урвалын дүнд үүсэх хүнд цэнэгт бөөмсийг хавдрыг эмчлэхэд ашиглах хэдий ч нейтрон болон фотон оролцож буй нь биеийн бусад эрүүл хэсгийг хамгаалахад багагүй бэрхшээл учруулдаг. Иймд БНШЭ-ийг хөгжүүлж, эрүүл аюулгүй технологи бүтээхийн

тулд нейтрон болон фотоны хүний биеийг бүрдүүлэгч биомолекултой харилцан үйлчлэх механизмыг нарийвчлан судалж, хянан удирдах нэн шаардлага тулгараад байна [6,7].

Мөн бага энергитэй фотон нь биологийн эффект бага болох нь дутагдалтай ч бие, бодисоор нэвтрэх чадвар сул учраас шарлагын үед биеийн эрүүл хэсгүүдэд хор хөнөөл бага учруулна. Гэхдээ сүүлийн үеийн зарим судалгаагаар хэт ягаан туяа, Рентген туяа зэрэг бага энергитэй фотоныг ашиглаж хавдрын эсийг устгах боломж буйг тогтоогоод байна. [8,9]

Иймд бид энэхүү судалгааны ажлаар нейтрон болон фотоны биологийн эффектийг сонирхож, тэдгээрийн хор нөлөө болон хавдрын эсийг устгах боломж, үйлчлэх механизмыг судлах зорилго тавилаа. Үүний тулд эсийн үржил, өсөлтийг удирдах үүрэгтэй ДНХ-ийн молекулыг хурдан нейтрон болон Рентген туяагаар үйлчлэх туршилт тавилаа. ДНХ-ийн молекулын гинж тасарч эвдрэхээс бусад төрлийн эвдрэлийн хувьд ДНХ нь хялбархан засагдах тул шарлагын дараа ДНХ-ийн гинжний эвдрэлийг шинжиллээ. Мөн эвдрэл үүсэхэд нөлөөлөх цацрагийн шууд нөлөө болон дам нөлөө (чөлөөт радикалын урвалын нөлөө)-ий хувь хэмжээг тодорхойллоо.

II. СУДАЛГААНЫ МАТЕРИАЛ, АРГА ЗҮЙ

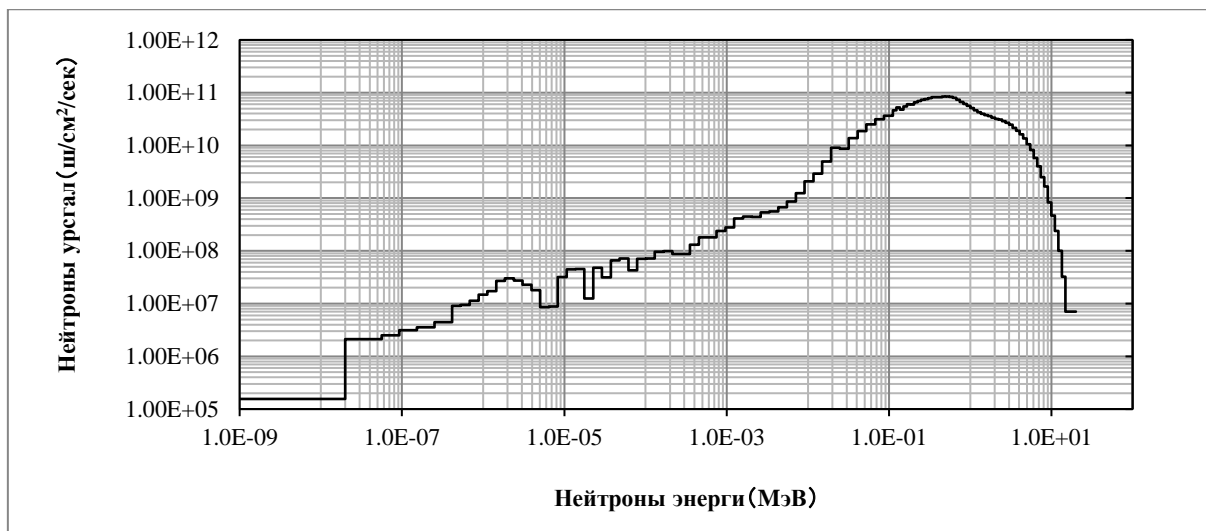
Уг судалгааны туршилтад 4361 сууриас тогтох E. Coli бактерийн pBR322 плазмид ДНХ ашигласан. ДНХ-ийн концентрацыг эсийн цөмийн шингэнтэй тохируулж 10.4 мкг/мл уусмал

* ja.erdenetogtokh@gmail.com

бэлтгэсэн. Дээж шарах туршилтад Япон улсын Яаёй хурдан нейтроны реактор, софтекс Рентген туяаны үүсгүүрийг ашигласан. Реакторын цөмд дээжийг оруулж шарах зориулалтаар бэлтгэсэн нүхэн дэх нейтроны урсгалын түгэлт [10] болон Рентген туяаны спектрийг Зураг 1, 2-т тус тус харуулав.

Зураг 2-т дүрслэгдсэн спектр нь 58 кВ хүчдэлээр хурдассан электроны урсгалаар

молевдины атомыг буудахад үүсэх тормозлогч Рентген туяаны спектр юм [11]. Манай туршилтад ашиглаж буй софтекс Рентген туяаны үүсгүүр нь 58 кВ хүчдэлээр ажилладаг ба молевдин ялтсыг электроноор үйлчлэх аргаар Рентген туяа гарган авдаг. Мөн хурдан нейтрон, Рентген туяаны энерги болон дээжид шингэх тунгийн чадлыг Хүснэгт 1-д нэгтгэлээ.



1-р зураг. Яаёй судалгааны реакторын голомт дахь нейтроны урсгалын түгэлт



2-р зураг. Софтекс Рентген туяаны үүсгүүрийн эрчмийн түгэлт

1-р хүснэгт. Хурдан нейтрон, Рентген туяаны үүсгүүрийн энерги болон тунгийн чадал

	Энерги		Тунгийн чадал
	Пикэд харгалзах утга	Хамгийн их утга	
Хурдан нейтрон	2 МэВ	~10 МэВ	52 Грей/мин
Рентген туяа	37 кэВ	58 кэВ	4.37 Грей/мин

Туршилтад ашигласан плазмид ДНХ нь давхар эрчилсэн буюу соленойд (Closed Circular, CC)

хэлбэрт оршино. Цацрагийн шарлагын дүнд ДНХ-ийн молекулын гинж тасрахад ДНХ-ийн

бүтэц өөрчлөгдөх ба дан гинж тасрахад цагираг (Open Circular, OC), давхар гинж тасрахад шулуун (Linear, L) хэлбэрт шилжинэ. Тиймээс ДНХ-ийг гель дотор байрлуулж электрофорезд оруулахад цахилгаан орны нөлөөгөөр ДНХ шилжиж хөдлөх ба хэлбэрээс хамаарч шилжилтийн хурд өөр өөр байх тул эвдрэлд орсон ДНХ-ийг хялбархан ялгах боломжтой юм. Ялгасан ДНХ-г *murid* гель дүрсжүүлэх систем болон *scion image* програмаар дүрсжүүлж, ДНХ-ийн хэмжээг судаллаа.

Нэгж плазмидад ноогдох ДНХ-ийн молекулын тоо ба талбайн хэмжээ дараах илэрхийллүүдээр өгөгддөг [12]:

$$OC = \frac{S(OC)}{S}, CC = \frac{1.42 S(CC)}{S}, L = \frac{S(L)}{S} \quad (1)$$

$$S = S(OC) + 1.42 S(CC) + S(L), \quad (2)$$

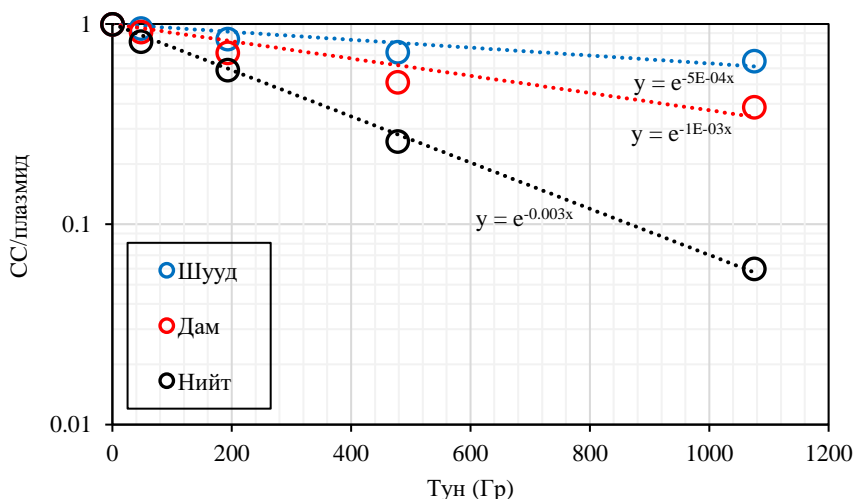
энд: *OC*, *CC*, *L* - харгалзан нэгж плазмидад харгалзах цагираг, соленийд болон шулуун бүтэц бүхий ДНХ-ийн молекулын тоо; *S(OC)*, *S(CC)*, *S(L)* - харгалзан цагираг, соленийд ба шулуун бүтэц бүхий ДНХ-д харгалзах “*Scion image*” програмаар хэмжсэн дүрсийн талбай.

Шарлагын дараа эвдрээгүй үлдсэн соленийд хэлбэр бүхий ДНХ-ийн хэмжээ болон цацрагийн шууд болон дам нөлөөний хамаарлын тэгшитгэлийг 1996 онд Японы эрдэмтэд

танилцуулсан [13] ба уг тэгшитгэлийг ашиглан нейтрон болон Рентген туяаны шууд, дам нөлөөний хувь хэмжээг тодорхойлсон (Тэгшитгэл-3).

$$\frac{\ln CC_0}{\ln CC_0 - \ln CC_x} = \frac{D+I}{I} + \frac{(D+I) \cdot k_{DNA} \cdot C_{DNA}}{I \cdot k_{DMSO}} \cdot \frac{I}{C_{DMSO}} \quad (3)$$

энэ хэсгийг өмнөхийн адил засаж бичих Тэнцүүгийн тэмдгийн зүүн тал хамгаалалтын зэрэг (Protection Degree, PD)-ийн урвуу хэмжигдэхүүн, *CC*₀ нь уусмалд DMSO нэмэлгүйгээр цацрагаар шарсны дараа эвдрэлгүйгээр соленийд бүтцээ хадгалж үлдсэн ДНХ-ийн хэмжээ, *CC*_x нь X [M] концентрацтай DMSO-г уусмалд нэмж цацрагаар шарсны дараа эвдрэлгүйгээр соленийд бүтцээ хадгалж үлдсэн ДНХ-ийн хэмжээ, D нь шууд нөлөө, I нь дам нөлөө, *k*_{DNA} нь ДНХ болон ОН радикалын урвалын хурдны тогтмол, *k*_{DMSO} нь DMSO болон ОН радикалын урвалын хурдны тогтмол, *C*_{DMSO} нь DMSO-н концентрац [M], *C*_{DNA} нь ДНХ-ийн концентрац [M], тэгшитгэл ёсоор хамгаалалтын зэргийн хамгийн их утга нь нийт нөлөөнд харгалзах дам нөлөөний харьцааг ($\frac{I}{D+I}$), илэрхийлнэ.



3-р зураг. Хурдан нейтроноор плазмид ДНХ-ийг шарахад эвдрэлгүй үлдсэн плазмид болон шингэсэн тунгийн хамаарал.

III. ҮР ДҮН, ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

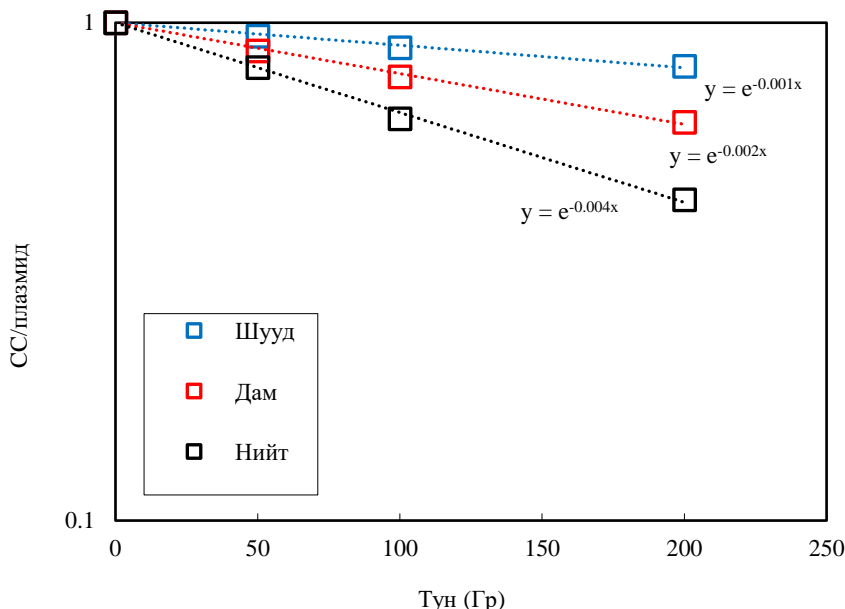
Яаёой судалгааны реакторын цөмд цэвэр ДНХ-ийн уусмал болон DMSO нэмсэн уусмалыг байрлуулан хурдан нейтроноор шарах туршилт болон софтекс Рентген туяаны үүсгүүрээр дээж шарах туршилт гүйцэтгэлээ. Шарлагын дараа эвдрээгүй үлдсэн буюу соленийд бүтэцтэй ДНХ-ийн хэмжээг тодорхойлж шарлагаас дээжид

шингэсэн тунгийн хамаарлыг судаллаа. Мөн цацрагийн шууд болон дам нөлөөгөөр үүсэх эвдрэлийг тооцоолж харьцууллаа. Үр дүнг Зураг 3 болон Зураг 4-т тус тус харуулав.

Зураг 3 ба 4-т харуулсан графикуудад хөх, улаан, хар өнгөөр цацрагийн шууд, дам нөлөө болон тэдгээрийн нийлбэр буюу нийт нөлөөгөөр үүсэх эвдрэлийн хэмжээг дүрсэллээ. Дээжид шингэсэн тун нэмэгдэхэд ДНХ-ийн гинжний эвдрэл логарифмын хуулиар өсөж байна. Мөн

цацрагийн шууд болон дам нөлөөгөөр үүсэх эвдрэлийн хувьд ч гэсэн энэ хамаарал ажиглагдаж байна. Гамма туяа, хүнд ионоор эсийг шарж эсийн үхэл, тунгийн хамаарлыг судлахад дээрх үр дүнтэй тохирсон зүй тогтол

/логарифм хамаарал/ ажиглагддаг [14] нь эсийг үхэлд хүргэх гол шалтгаан нь ДНХ-ийн гинжний эвдрэл байх өндөр магадлалтай болох нь харагдаж байна.



4-р зураг. Рентген туяагаар плазмид ДНХ-ийг шарахад эвдрэлгүй үлдсэн плазмид болон шингэсэн тунгийн хамаарал.

Мөн эсийн үхэлд ч гэсэн хавдрын эмчилгээнд өргөн ашигладаг хүнд ионы дам нөлөө гол үүрэг гүйцэтгэдэг [14] нь биомолекулыг шууд иончилж эвдэх чадваргүй бага энергитэй фотоны дам нөлөөг ашиглаж хавдрыг эмчлэх бололцоо байх магадлалтай юм.

Үүний дараагаар дээжид хангалттай их DMSO нэмж дам нөлөөг бүрэн дарангуйлсан болон DMSO огт нэмээгүй үед ДНХ-ийн молекулын 50 хувийг эвдэхэд шаардлагатай тунг тодорхойлж үр дүнг Хүснэгт 2-т харьцуулав.

Хүснэгт 2: ДНХ-ийн гинжний 50%-ийн эвдрэлийн тун

	ДНХ-ийн гинжний эвдрэлийн тун (50%)	
	DMSO нэмээгүй	DMSO нэмсэн
Рентген туяа	173 ± 11 Грей	693 ± 42 Грей
Хурдан нейтрон	231 ± 26 Грей	1386 ± 153 Грей

Дам нөлөөг бүрэн дарангуйлахад 50%-ийн эвдрэлийн тун 4-6 дахин нэмэгдэж байна. Энэ нь цацрагийн хор нөлөөнөөс хүний биеийг хамгаалахад дам нөлөөг дарангуйлагч нэгдэл буюу антиоксидант идэвхт нэгдлийн хэрэглээ чухал болохыг нотолж байна.

IV. ДҮГНЭЛТ

Энэхүү судалгааны ажлаар плазмид ДНХ-ийн усан уусмалыг хурдан нейтрон болон Рентген туяагаар үйлчлэх туршилт тавьж ДНХ-ийн

гинжний эвдрэл болон эвдрэлд нөлөөлөх хүчин зүйлийг тодорхойлох судалгааг хийлээ.

1. Хурдан нейтрон болон Рентген туяагаар дээж шарахад ДНХ-ийн гинжний эвдрэл нь дээжид шингэсэн тун нэмэгдэхэд логарифм хамаарлаар өсөж буй нь тогтоогдож байна. Энэ нь эсийн үхэл хүнд ионы тунгийн хамаарлын зүй тогтолтой тохирч байгаа ба эсийг үхэлд хүрэхэд ДНХ-ийн гинжний эвдрэл гол шалтгаан болох магадлалтайг харуулж байна.

2. Плазмид ДНХ-ийн дээжид антиоксидант идэвхт DMSO (чөлөөт радикал дарангуйлах идэвхтэй) нэмж туршихад шарлагын дүнд үүсэх ДНХ-ийн гинжний эвдрэлийн дийлэнх хэсэг нь хамгаалагдаж байв. Энэ нь шарлагын дам нөлөө буюу шарлагын дүнд үүсэх чөлөөт радикалын нөлөөгөөр үүсэх эвдрэл дийлэнх хувийг эзэлдэг болохыг нотолж байна. Үүнээс үзэхэд цацрагийн хор нөлөөнөөс хүний биеийг хамгаалахад антиоксидант идэвхт нэгдлийн хэрэглээ чухал болох нь харагдаж байна.

НОМ ЗҮЙ

- [1] William F, Roman W. Passage of particles through matter. *Oxford physics* 2009; Chapter 4.
- [2] Kevin M. Prise. Ionizing radiation therapy. *Encyclopedia of Cancer* 2011; 1907-1909.
- [3] Baskar R, Lee K. A, Yeo R, et al. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *International Journal of Medical Science* 2012; 9(3): 193–9.
- [4] Schreiber G. J, Meyers, A. D. General principles of radiation therapy. *Medscape* 2015.
- [5] Chu W. K, Energy loss of charged particles, *Material characterization using ion beams* 1978; 3-34
- [6] Barth R. F, Soloway A. H, Fairchild R. G. Boron neutron capture therapy for cancer. *Scientific American* 1990; 263 (4): 100-3, 106-7.
- [7] Coderre J. A, Morris G. M, The radiation biology of boron neutron capture therapy. *Radiation Research* 1999; 151 (1): 1–18.
- [8] Folkard M, Prise K. M, Investigating Mechanisms of Radiation-Induced DNA Damage Using Low-Energy photons. *Acta Physica Polonica A* 2006; 3, 109, 265271
- [9] Gomes P. J, Ferraria A. M, Botelho do Rego A. M, Hoffman S. V, Ribeiro P. A et al, Energy thresholds of DNA damage induced by UV radiation: An XPS study. *The Journal of Physical Chemistry B* 2015; 119 (17): 5404-11.
- [10] YAYOI research reactor: University of Tokyo (Glory Hole). (<https://bit.ly/2BPX9Ub>)
- [11] Guthrie J. M, XRF technical overview, University of Missouri Research Reactor, rev.2012
- [12] Lloyd R. S, Haidle C. W, Robberson D. L. Bloemycin-specific fragmentation of double-stranded DNA. *Biochemistry* 1978; 17:1890–6.
- [13] Shinohara K, Nakano H, Ohara H. Detection of auger enhancement induced in HeLa cells labeled with iododeoxyuridine and irradiated with 150 kV X-rays. *Acta Oncol* 1996; 35:869-75
- [14] Ito A, Nakano H, Kusano Y, Hirayama R, Furusawa Y, Murayama C et al. Contribution of indirect action to radiation-induced mammalian cell inactivation: Dependence on photon energy and heavy-ion LET. *Radiation Research* 2006; 165: 703-12.

DNA strand breakage induced by irradiation with fast neutron and X-ray

J.Erdenetokh¹, A.Ito²

¹ Institute of Physics and Technology, Mongolian Academy of Sciences

²Tokai University, Japan

It is not easy to protect from non charged radiations such as neutrons and photons due to the property penetrating through organisms. Therefore, the mechanisms to interact with biomolecules and their biological effects have been an interesting topics in the biophysical research. Thus, in this study, we have been evaluated DNA (Deoxyribonucleic acid) strand breakage induced by irradiation with fast neutron and X-rays. Yayoi research reactor and Softex X-ray source were applied as fast neutron and X-ray sources respectively. Aqueous solutions of plasmid DNA were irradiated, and the amount of DNA strand breakage was evaluated depending on the absorption dose to the sample that is logarithmic relations. When the indirect actions of radiation (actions via free radicals) were protected by using antioxidant compounds, the absorption dose to induce strand breakage in 50% of the plasmids was increased more until 4-6 times.

Key words: DNA, X-ray, fast neutron, direct action, indirect action, DMSO