

## A hörgők hámszövetében $\alpha$ -részecskék hatására keletkezett mutációk kialakulásának numerikus modellje

Madas Balázs Gergely\*

Magyar Tudományos Akadémia Energiatudományi Kutatóközpont

1121 Budapest, Konkoly-Thege Miklós út 29-33.

\*madas.balazs@energia.mta.hu

*Title and Abstract – Numerical model of mutation induction by  $\alpha$ -radiation in the bronchial epithelium.*

*The objective of this work is to study how some cellular effects of radiation manifest at the tissue level by modeling mutation induction due to chronic exposure to densely ionizing radiation, with particular attention to  $\alpha$ - particles emitted by inhaled radon progeny. For this purpose, a mathematical model of the bronchial epithelium with a cell dosimetry model, and the related mutagenesis model have been elaborated to estimate the number of induced mutations. Results show that cell cycle shortening due to chronic radiation exposure significantly increases the number of induced mutations; its role seems to be more important than that of radiation induced DNA damages. The significance of accelerated cell turnover points out that even the radiation burden of non-progenitor cells can result in the increase of the number of mutations in progenitor cells, which increases the risk of cancer induction.*

*Keywords- radon progeny, mutation, modeling at the tissue level, non-targeted effects*

*The material in this paper has been published earlier in English. Excerpts have been used and translated with kind permission from Springer Science+Business Media. The original paper containing further results and details (Madas BG, Balásházy I. Mutation induction by inhaled radon progeny modeled at the tissue level. Radiation and Environmental Biophysics. 2011;50(4):553-70. © Springer-Verlag 2011) can be accessed at the website of the publisher: <http://www.springerlink.com/content/w01111148619886t/>*

*Kivonat – E munka célja annak vizsgálata, hogy egyes sejtszintű válaszok hogyan manifesztálódnak szövetszinten sűrűn ionizáló sugárzásból származó krónikus terhelések esetén különös tekintettel a belélegzett radon-leányelemekből származó  $\alpha$ -részecskékre. Ennek érdekében elkészítettük a hörgők hámszövetének egy matematikai modelljét a hozzá tartozó sejtdozimetriai modellel, és egy ezekhez kapcsolódó modellt a kialakult mutációk számának becsléséhez. Az eredmények azt mutatják, hogy a sejtciklus krónikus sugárterhelés miatti rövidülése jelentősen növeli a kialakuló mutációk számát; szerepe fontosabbnak tűnik, mint a sugárzás által okozott DNS-sérüléseké. A sejtosztódási gyakoriság megnövekedésének jelentősége rámutat, hogy az osztódásra nem képes sejtek sugárterhelése is eredményezheti a mutációk számának növekedését növelve a rák kialakulásának kockázatát.*

*Kulcsszavak – radon-leányelemek, mutáció, szövetszintű modellezés, nem célzott hatások*

*E cikk anyaga korábban megjelent angolul. Az átvett részek felhasználása és fordítása a Springer Science+Business Media szíves engedélyével történt. Az eredeti, további eredményeket és részleteket tartalmazó cikk (Madas BG, Balásházy I. Mutation induction by inhaled radon progeny modeled at the tissue level. Radiation and Environmental Biophysics. 2011;50(4):553-70. © Springer-Verlag 2011) elérhető a kiadó oldalán: <http://www.springerlink.com/content/w01111148619886t/>*

## BEVEZETŐ

Az ionizáló sugárzás hatása jelentősen függ a vizsgált biológiai rendszer tulajdonságaitól. E tulajdonságok egyike a tanulmányozott élő anyag szerveződési szintje, amely részben még a lehetséges mérési módszereket is meghatározza. Sejtalkotókat, sejteket és szöveteket vizsgálhatunk természetes környezetükből kiszakítva *in vitro*. *In vivo* kísérletekkel tanulmányozhatóak az egyedek. Még egy szintet továbblépve a populációk szintjéhez és az ezeket vizsgáló tudományterülethez az epidemiológiához érünk. A különböző szerveződési szinteken nemcsak az élő rendszer besugárzásra adott válasza, hanem maguk a mérhető mennyiségek is különbözőek. Emiatt kulcsfontosságú, hogy meg tudjuk-e becsülni a különböző szerveződési szinteken mérhető, az ionizáló sugárzás hatását jellemző mennyiségek közötti összefüggéseket. A különböző szintekre jellemző adatok kapcsolatba hozása nagymértékben segítheti az egész szervezetre gyakorolt biológiai hatás megértését. Ugyanakkor az is nyilvánvaló, hogy még távol vagyunk attól, hogy a sugárhatás globális elemzését el tudjuk végezni, de az lehetséges, hogy megtegyük az első lépéseket efelé a szervezet különböző szerveződési szintjeit figyelembe vevő, teljesen integrális vizsgálat felé (1).

Az ionizáló sugárzás sejtszintű hatásait kísérleti és elméleti módon is széles körben vizsgálták. A többsejtű élőlények szervezetében azonban a sejtek nincsenek elszigetelve egymástól, hanem szoros kölcsönhatásban állnak egymással, és ezért a sugárhatás célpontjában sem csupán egyedi sejtek állnak, hanem az egész szöveti mikrokörnyezet is (2). Ennek egy bizonyítéka a szomszédhatás (vagy szomszédási hatás, angolul: bystander effect) jelensége, amikor az ionizáló sugárzás hatása egy olyan sejten mutatkozik meg, amellyel a sugárzás nem lépett közvetlen kölcsönhatásba, csak annak szomszédjaival (3, 4). Bár a mikrokörnyezetben bekövetkező változások akár a rák kialakulásához is hozzájárulhatnak (5), mégsem vizsgálják kellőképpen az ionizáló sugárzás szövetszintű hatásait (2).

A szövetben a sejtek együtt látnak el különböző feladatokat. Ezek elvégzéséhez az élő rendszernek számos paramétert kell közel állandó értéken tartani. E paraméterek egyike a különböző sejtípusok száma. Az ionizáló sugárzás sejtpusztító hatása révén csökkenti a sejtszámot. Az osztódásra képes sejtek – melyek az elpusztult sejtek pótlásáért is felelősek – osztódási gyakoriságuk növelésével ellensúlyozni tudják az ionizáló sugárzás e hatását. Miután a mutációk kialakulási gyakorisága arányos az osztódási gyakorisággal, a sejtciklus krónikus sugárterhelés miatti rövidülése növelheti egy adott időtartam alatt kialakuló mutációk számát. A klasszikus szomszédhatás mellett az ionizáló sugárzás ilyen módon is hathat közvetlenül az osztódásra képes sejtekre. E jelenség súlya feltehetőleg csekély a ritkán ionizáló sugárzások kis dózisa esetén, de a nem célzott hatások e fajtája kis dózisok esetén is igen jelentős lehet sűrűn ionizáló sugárzások esetén a nagy sejtpusztítási hatékonyság miatt. Ráadásul, ha a szövet egy része bármilyen okból kifolyólag lokálisan nagy terhelésnek van kitéve, a sejtciklus-rövidülés még jelentősebb lehet mutációk kialakulása szempontjából.

A belélegzett,  $\alpha$ -részecskéket kibocsátó radon-leányelemek rendkívül egyenetlenül ülepednek ki a tüdőben, különösen is a hörgőkben (6). A lokális kiülepedési sűrűség több százszorosa lehet a néhány elágazás felszínére vonatkoztatott átlagnak, ami lokálisan magas sejtszintű terheléseket és magas sejtpusztulási valószínűségeket eredményez (7-11). Következésképp a belélegzett radon leányelemek esetén a sejtciklus rövidülése igen jelentős szerepet játszhat a mutációk kialakulásában.

Célkitűzésünk annak vizsgálata, hogy egyes sejtszintű válaszok hogyan manifesztálódnak szövetszinten sűrűn ionizáló sugárzásból származó krónikus terhelések esetén különös tekintettel a belélegzett radon-leányelemekből származó  $\alpha$ -részecskékre. A szövetszintű modellezés során egyetlen kölcsönhatást veszünk figyelembe: a sejtciklus sugárzás által kiváltott sejtpusztulás miatti rövidülését. Célunk elérése érdekében kísérleti adatok alapján (12, 13) elkészítjük a hörgők hámszövetének matematikai modelljét, melynek segítségével a

makroszkopikus terhelés függvényében meghatározzuk a sejtmag-találatszámokat és a sejtdózisokat, végül egy a mutációk kialakulását leíró modell (14) átdolgozott változatával megvizsgáljuk, hogy hogyan viszonyul egymáshoz a sejtciklusrövidülés és a DNS sérülések szerepe a mutációk kialakulásában.

## MÓDSZEREK

Az alkalmazott modell három részre osztható. Ezek a hörgők hámszövetének matematikai modellje, az ehhez kapcsolódó sejtdozimetriai modell és a sejtpusztulást és mutációk kialakulását mennyiségileg leíró biológiai modell.

### *A hörgők hámszövetének matematikai modellje*

Mikron átmérőjű nyalábbal végzett kísérletek szerint az a sugárnyaláb, amely csak a citoplazmát éri, mutációk kialakulása szempontjából veszélyesebb, mint az, amely a sejtmagot is eltalálja (15). Emiatt a citoplazmában elnyelődő energiát is figyelembe kell vennünk a számításokban. Ez azt jelenti, hogy a hámszövet matematikai modelljének a teret kitöltő, egymással érintkező sejtekből kell állnia. Miután azonban a sejtek túlélési valószínűsége döntően a sejtmagot érő találatok számától függ, a matematikai modellnek a sejtmagokat is tartalmaznia kell.

A hámszövetmodell elkészítésénél nem hagyható figyelmen kívül, hogy milyen kísérleti adatok állnak rendelkezésre. Mercer és kollégái hat sejttípust megkülönböztetve meghatározták ezek sejtmagjainak és citoplazmáinak mélységi eloszlását, illetve a hámszövet vastagságát (12). E hat sejttípus a bazális (angolul: basal) és a meghatározatlan (indeterminate) sejt, a kehelysejt vagy nyák-elválasztó sejt (azaz goblet vagy mucous secretory), az egyéb elválasztó sejt (other secretory), a csillós (ciliated) és az éretlen csillós sejt (preciliated). Egy későbbi munkájukban közlést tesznek e hatféle sejttípus egységnyi felszínre jutó darabszámát, illetve négy sejttípus esetén a sejtek és sejtmagok térfogatát, illetve különböző tengelyekre vonatkoztatott vetületeit is (13).

E kísérleti adatok felhasználásával egy olyan modellt készítettünk el, melyben a sejtek hasáb alakúak, a sejtmagok pedig ellipszoidok. A különböző sejttípusokhoz tartozó sejtek egységnyi felületre eső darabszáma, illetve átlagos térfogata jól közelíti a kísérleti adatokat, míg a sejtek és sejtmagok mélységi eloszlása és a sejtmagok függőleges tengelyre vonatkozó vetülete nagyobb eltéréseket mutat a mérési adatoktól. Mindezekkel együtt e matematikai modell megteremti annak a lehetőségét, hogy a sejtmagok és a sejtek sugárterhelését párhuzamosan határozzuk meg. A modell kidolgozásának részleteit, illetve paramétereinek kísérleti adatokkal való összehasonlítását terjedelmi korlátok miatt itt nem közöljük. Az érdeklődő Olvasó mindezeket megtalálja az eredeti cikkben (16).

### *Sejtdozimetriai modell*

A sejtdózisok és a sejtmag-találatok meghatározáshoz a hörgők hámszöve mellett az ionizáló részecskék nyomvonalát is modelleznünk kell. Ebben a munkában csak az  $\alpha$ -részecskéket vesszük figyelembe, és ennek megfelelően a dozimetriai számításokban a független változó az  $\alpha$ -részecskéket kibocsátó izotópok ( $^{218}\text{Po}$  és  $^{214}\text{Po}$ ) egységnyi felületre eső darabszáma. A radon leányelemek kiülepedés-eloszlása igen egyenetlen a hörgőkben. A hörgők elágazásainak csúcsaiban a szövet felszínének kicsiny részein ( $0,1\text{--}0,2\text{ mm}^2$ ) a helyi kiülepedés-sűrűség két nagyságrenddel nagyobb lehet, mint az elágazásra vonatkoztatott átlag (6, 7). Annak érdekében, hogy néhány olyan hatást is megismerhessünk, amelyek csak ezekre a kiülepedés szempontjából forró területekre jellemzőek, a sejtdozimetriai mennyiségeket a hámszövet egy kicsiny,  $232\ \mu\text{m} \times 232\ \mu\text{m}$  felszínű része esetén határozzuk meg. Ezekben a forró területeken a hörgők szemközti faláról érkező  $\alpha$ -részecskéket figyelmen kívül lehet

hagyni, ugyanis számuk nagyságrendekkel kisebb, mint a forró területről induló  $\alpha$ -részecskék száma. Hasonlóképpen elhanyagolhatjuk azokat a részecskéket, amelyek a kilégzés folyamán ülepednek ki, mert bár a kilégzés is egyenetlen kiülepedést eredményez, de a forró területek máshol helyezkednek el, illetve az egyenetlenség mértéke is kisebb, mint belégzésnél (17).

A vizsgált hámszövetdarab mérete elég kicsiny ahhoz a feltevéshez, mely szerint ezen már egyenletesen ülepednek ki a radioaktív izotópok, és a bomlások a centrális légutakat borító nyák felszínén következnek be. Az  $\alpha$ -részecskék emittálása izotróp folyamat, és az  $\alpha$ -nyomok a vizsgált mérettartományban geometriai szempontból szakaszoknak tekinthetők. Az  $\alpha$ -részecskék behatolási mélységét a kezdeti energia és a hámszövetre jellemző behatolási mélység-energia függvény határozza meg. A kezdeti energia 6,00 MeV  $^{218}\text{Po}$  és 7,69 MeV  $^{214}\text{Po}$  esetén. A behatolási mélység-energia függvényt az internetről letölthető „SRIM” kóddal számoltuk (18), ahol közelegnek a program könyvtárában megtalálható „trachea”-t választottuk. A két izotóp arányát a maximális kiülepedési sűrűséggel jellemzett területen Szőke és társai szimulációiból vettük át (9). E szimulációk alapján az adott forró területen az  $\alpha$ -részecskék 10,4%-a a  $^{218}\text{Po}$  bomlásából származik, míg a maradék 89,6% a  $^{214}\text{Po}$  bomlásához köthető<sup>1</sup>.

A sejtdozimetriai számolásokhoz egy saját fejlesztésű kódot használunk, amely meghatározza az  $\alpha$ -nyomok (szakaszok) sejtekkel (hasábokkal), illetve sejtmagokkal (ellipszoidokkal) vett metszetét. Ilyen módon a találatszámok igen egyszerűen adódnak a metszetek számolásából. A sejtben elnyelődött energia egyenlő a sejtből kilépő  $\alpha$ -részecskék energiáinak összegéből és a sejtbe belépő  $\alpha$ -részecskék energiáinak összegéből képzett különbséggel. Ezt a sejt tömegével elosztva megkapjuk a sejtdózist.

### ***Mutációk kialakulását leíró modell***

A mutációk kialakulását leíró modell központi feltevése az, hogy mutáció akkor keletkezik, ha egy osztódásra képes sejt DNS-sérüléssel osztódik (14). Fontos megjegyezni, hogy a valóságban a mutációk nem a kijavítatlan, hanem a rosszul kijavított sérülések következményei. Biológiai szempontból tehát helyesebb lenne, ha úgy fogalmaznánk meg az előző feltevést, hogy a két osztódás között rosszul kijavított DNS-sérülések száma egyenesen arányos a kijavítatlan DNS-sérülések számával, az arányossági tényező pedig eggyel egyenlő. Matematikai szempontból a két megfogalmazás között nincsen különbség.

A DNS-sérülések mennyiségét a kettős törések számával jellemezzük. Az irodalomban különböző adatokat találunk arra nézve, hogy  $\alpha$ -részecskékből származó egységnyi dózis hány kettős törést eredményez. Frankenberg és kollégái munkája alapján  $42\text{ Gy}^{-1}$  érték segítségével becsülhető az emberi sejtekben  $\alpha$ -részecskék hatására kialakuló kettős törések száma (19), ha figyelembe vesszük, hogy egy emberi diploid sejtben  $6,4 \times 10^9$  bázispár található (20). Ugyanakkor Claesson és kollégái azt mérték, hogy ugyanakkora elnyelt dózis esetén  $^{211}\text{At}$ -ből származó  $\alpha$ -részecskék<sup>2</sup> akár 107 kettős törést is eredményezhetnek egy Gy dózis esetén (21). A kísérleti adatok bizonytalansága miatt fontos megvizsgálni az általunk alkalmazott biológiai modell érzékenységét az egységnyi elnyelt dózis által okozott kettős törések számára vonatkozóan. Emiatt a  $107\text{ Gy}^{-1}$  (21) és a  $42\text{ Gy}^{-1}$  (19) értékkel is végzünk szimulációkat (előbbi az „A”, utóbbi a „B” paraméterbeállításához tartozik). Emellett azt is figyelembe vesszük, hogy a sejtben kialakult kettős törések száma arányos a sejtben lévő DNS-mennyiségével. Miután a DNS mennyisége megkétszereződik a sejtciklus S fázisa során, az előbbi értékeket csak az S fázist megelőző  $G_0$  és  $G_1$  fázis esetén alkalmazzuk, az S

<sup>1</sup> Az idézett közleményben, amely a szimulációk eredményeit tartalmazza, nem találhatóak meg a használt értékek.

<sup>2</sup> Az  $^{211}\text{At}$  41,7% valószínűséggel közvetlenül  $^{207}\text{Bi}$ -té bomlik, ami egy 5,87 MeV energiájú  $\alpha$ -részecske kibocsátásával jár, 58,7% valószínűséggel pedig egy elektronbefogással  $^{211}\text{Po}$  keletkezik, ami 7,45 MeV energiájú  $\alpha$ -részecskét bocsát ki.

fázisban az egységnyi dózishoz rendelt kettős törések számát lineárisan növekvőnek tekintjük, míg a  $G_2$  és M fázisok esetén a fenti értékek kétszeresével számolunk<sup>3</sup>.

DNS sérülések nemcsak az ionizáló sugárzással való kölcsönhatásból származhatnak; kialakulhatnak a sugárterheléstől függetlenül is. Éppen ezért az ilyen endogén kettős törések járulékat is figyelembe vesszük, amikor a mutációk kialakulását vizsgáljuk. Vilenchik és Knudson szerint körülbelül 50 kettős törés keletkezik a sejtciklus S fázisa során az egyszálú törések átalakításának következtében (22). A többi sejtciklus esetén a spontán módon kialakuló kettős törések száma arányos a sejtben lévő DNS mennyiségével, értéke pedig  $0,05 \text{ h}^{-1}$  a  $G_0$  és  $G_1$  fázisban és  $0,1 \text{ h}^{-1}$  a  $G_2$  és M fázisban (14).

Nem szabad megfeledkeznünk arról, hogy a sejteknek megvannak az eszközei arra, hogy a DNS sérüléseit kijavítsák. Több kutatás szerint a DNS sérülések kijavítása nem elsőrendű kinetikát követ (23, 24). Fowler szerint a hibajavítást másodrendű kinetika jellemzi vagy esetleg többféle elsőrendű kinetikájú hibajavítás van jelen egyszerre, melyek karakterisztikus idői aszimmetrikus eloszlást mutatnak (24). A kísérleti adatok mindkét esetben jól leírhatók egy olyan függvénnyel, amely szerint a megmaradt DNS-sérülések száma fordítottan arányos a sérülések létrejötte óta eltelt idővel, azaz az ionizáló sugárzással való kölcsönhatás után egy karakterisztikus  $\tau$  idővel a kijavítatlan sérülések száma az eredeti mennyiség felére, újabb  $\tau$  idő elteltével pedig az eredeti mennyiség harmadára csökken (24). Különböző kísérleti adatok felülvizsgálata nyomán Fowler arra jutott, hogy egértüdő esetén a DNS-javítás karakterisztikus ideje ( $\tau$ )  $0,9 \text{ h}$  (24). A szimulációk során ezt az értéket használjuk.

Az osztódásra képes sejtek sejtciklusideje attól is függ, hogy a környező szövetben milyen gyakran pusztulnak el az osztódásra képes és az osztódásra nem képes sejtek. Az alkalmazott modellben csak az osztódásra nem képes sejtek pusztulnak el, ha a szövet nincs kitéve ionizáló sugárzásnak. A sejtpusztulási gyakoriság e háttér-értékét ( $N_{ia}^0$ ) az osztódásra képes sejtek egyensúlyi számának és normális sejtciklusidejének hányadosából képezzük (rendre  $N_s$  és  $T_0$ ):

$$N_{ia}^0 = \frac{N_s}{T_0}, \quad (1)$$

ahol  $T_0$  30 nap (25). A modellben csak a bazális és a kehelysejtek képesek az osztódásra.

Annak a valószínűsége, hogy egy sejt túléli az  $\alpha$ -részecskékkel való kölcsönhatást ( $p_s$ ), exponenciálisan csökken a sejtmagot eltalált  $\alpha$ -részecskék számával ( $n$ ) (26, 27). Ezzel szemben a citoplazmát ért találatok jelentősége sejtpusztulás tekintetében csekély (15, 27). Ennek megfelelően a modellben a következő összefüggést használjuk:

$$p_s = \exp(-b \cdot n), \quad (2)$$

ahol  $b$  értéke  $0,285$  (26) vagy  $0,587$  (27). Most is – az egységnyi dózis által okozott kettős törések számához hasonlóan – két értékkel végzünk szimulációkat, hogy lássuk a végeredmény érzékenységét a sejtpusztulási valószínűsége nézve. Így a kisebb érték az „A”, a nagyobb pedig a „B” paraméterbeállításhoz tartozik.

Miután adott terhelés mellett meghatároztuk az egyes sejtek túlélési valószínűségét, becslést adhatunk az elpusztult sejtek és az osztódásra képes, terhelést túlélő sejtek számára vonatkozóan. Az átlagos sejtciklusidő ( $T$ ) ezek után kiszámítható a napi terhelések függvényében, ha feltételezzük, hogy a hámszövet vizsgált részén az egy nap alatt bekövetkező osztódások átlagos száma megegyezik az adott napon elpusztult sejtek várható számával. Ilyen módon a következő összefüggéshez jutunk:

<sup>3</sup>  $AG_0$  fázisban a sejtek nyugalomban vannak, a  $G_1$  fázisban növekednek, az S fázisban megkétszereződik az örökítőanyag, a  $G_2$  fázisban a sejt felkészül az osztódásra, végül pedig az M fázisban osztódik.

$$T = \frac{N_p^S}{N_{ia}}. \quad (3)$$

Itt  $N_p^S$  jelöli azoknak az osztódásra képes sejteknek a számát, amelyek túléltek az adott napi sugárterhelést. Fontos megjegyezni, hogy a modellben a sejtciklusidőnek van egy minimuma, ami egyenlő az S, a  $G_2$  és az M fázis hosszának összegével.

Ha a DNS-sérülések kijavítását sztochasztikus folyamatnak tekintjük, akkor annak a valószínűsége, hogy egy adott kettős törés nincs kijavítva a keletkezése után  $t$  idővel ( $p_{nr}(t)$ ), az alábbiak szerint írható:

$$p_{nr}(t) = \frac{1}{1 + t/\tau}. \quad (4)$$

Az egy sejtben egy sejtciklus nyomán kialakuló mutációk számát ( $M^*$ ) úgy becsüljük, hogy meghatározzuk a kettős törések várható számát a sejtosztódás időpontjában. Ezt a várható értéket úgy kapjuk meg, hogy a sejtciklus idejére integráljuk a kettős törések keletkezési gyakoriságának ( $P$ ) és ki nem javításuk valószínűségének szorzatát:

$$M^* = \int_0^T P(t') \cdot p_{nr}(T - t') dt'. \quad (5)$$

Az (5) egyenletben a szorzat azt mutatja, hogy figyelmen kívül hagyjuk azt a lehetőséget, hogy a DNS-sérülések következtében a sejt lassabban lép át egyik sejtciklusból a másikba. Az integrálás a paraméterek ismeretében részben analitikusan, részben numerikusan elvégezhető. A részletek megtalálhatóak az eredeti cikkben (16).

Ha egy sejt, amelynek DNS-e sérült, elpusztul, akkor ez a sérülés nem eredményez mutációt. Eddig azonban ezt a lehetőséget nem vettük figyelembe. Annak érdekében, hogy a mutációk számára jobb becslést adjunk, az adott,  $i$ . sejtben kialakuló mutációk számára vonatkozó, a pusztulás lehetőségét figyelmen kívül hagyó várható értéket [ $M^*$  a (5) kifejezésben] megszorozzuk annak a valószínűségével, hogy az  $i$ . sejt túléli az adott napi terhelést ( $p_S$ ). Ezen kívül miután a sejtciklus-rövidülés hatását is vizsgáljuk, az egységnyi idő alatt keletkező mutációk száma érdekesebb számunkra, mint az egy sejtciklus nyomán keletkezett mutációké. Az  $i$ . sejtben keletkező mutációk napi átlagos számát úgy határozzuk meg, hogy az egy sejtciklus nyomán keletkezett mutációk becsült számát ( ${}^iM$ ) elosztjuk a sejtciklus hosszával. Így a mutációk keletkezési gyakoriságát a következő kifejezéssel becsüljük:

$${}^iM = \frac{1}{T} p_S \cdot {}^iM^*. \quad (6)$$

A vizsgált hámszövetdarabon összesen keletkezett mutációk átlagos napi számát ( $M^{szövet}$ ) az egyes osztódó sejtekben keletkezett mutációk átlagos napi számának összegeként kapjuk meg:

$$M^{szövet} = \sum_i \frac{1}{T} p_S \cdot {}^iM^*. \quad (7)$$

Itt  $i$  az egyes osztódásra képes sejteken fut végig. Végül a szövetdarab vizsgált részén naponta keletkező mutációk számát elosztjuk a napi terhelést túlélő, osztódásra képes sejtek számának ( $N_p^S$ ) várható értékével, amelynek eredményeként eljutunk az egy osztódásra képes sejtben naponta keletkező mutációk átlagos számához ( $m$ ):

$$m = \frac{M^{szövet}}{E(N_p^S)} = \frac{\sum_i \frac{1}{T} p_S \cdot {}^iM^*}{\sum_i p_S}. \quad (8)$$

Ennél az utolsó lépésnél azt vettük figyelembe, hogy az elpusztuló sejtek helyét a túlélő sejtek töltik be osztódásukkal. Azaz a túlélő, osztódásra képes sejtekben keletkezett mutációk a sejtek osztódása révén több sejtben is megmutatkoznak.

Annak érdekében, hogy össze lehessen hasonlítani az ionizáló sugárzás által közvetlenül okozott DNS-sérülések és a közvetve okozott sejtciklusidő-rövidülés jelentőségét, azt a tényt használjuk ki, hogy számítógépes modellünkben a két hatást egymástól függetlenül ki és be tudjuk kapcsolni. Így a (7) és (8) kifejezések értékét négy különböző esetben határozzuk meg. Először sem a DNS-sérüléseket, sem pedig a sejtciklusidő-rövidülést nem vesszük figyelembe, amivel a háttér mutációs gyakoriságra adunk becslést, azaz az ionizáló sugárzástól függetlenül keletkező mutációk keletkezési gyakoriságára. A következő két esetben vagy csak a DNS-sérüléseket vagy csak a megnövekedett osztódási gyakoriságot vesszük figyelembe. Az utolsó esetben mindkét mechanizmust figyelembe vesszük.

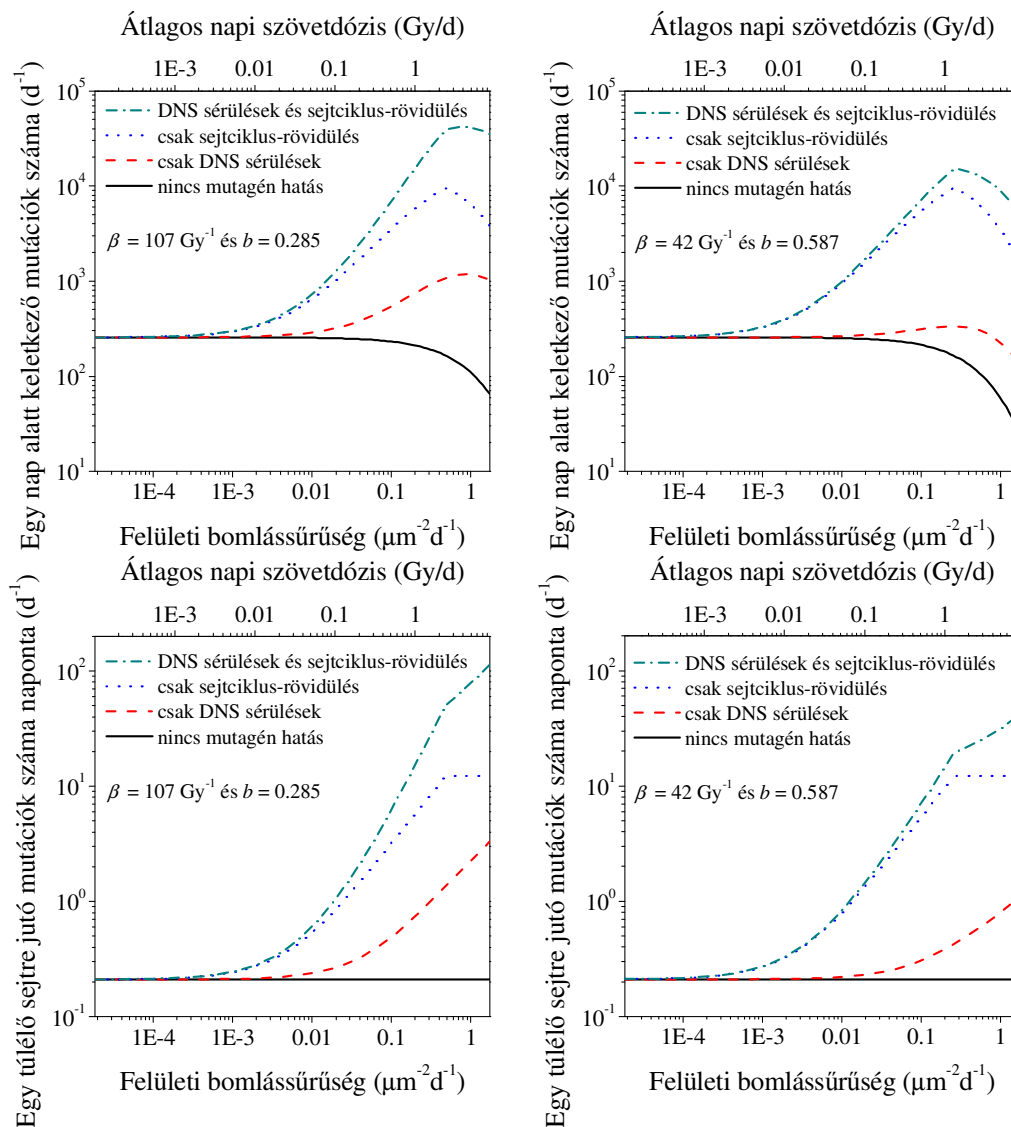
## **EREDMÉNYEK**

### ***Mutációk kialakulása az ionizáló sugárzás hatására***

A mutációk kialakulásának modellezésénél azzal a feltevéssel éltem, hogy a szövetbeli sejszám nem lehet hosszú távon alacsonyabb (vagy legalábbis sokkal alacsonyabb), mint a normál érték. Emiatt a modell nem érvényes abban az esetben, ha a besugárzás csak rövid ideig (néhány napig vagy néhány hétig) tart. Sugárkezelések közben végzett megfigyelések ugyanis azt mutatják, hogy a bőrben a néhány hetes kezelés alatt mindvégig alacsonyabb az osztódási gyakoriság, mint a szövet egészséges állapotában, még a hétvége szünetét követően is (28). Emiatt a következő alfejezet minden eredménye mögött az a feltevés áll, hogy a besugárzás néhány hónapig vagy néhány évig tart. Az eredmények pedig azt mutatják be, hogy ezen a hosszú időszakon belül egy nap terhelése milyen következményekkel jár. Ennek megfelelően a terhelést kifejező mennyiségek helyett azok egységnyi időre (egy napra) vonatkoztatott értékei a független változók, és hasonlóképpen nem a mutációk teljes száma, hanem az egy nap alatt keletkező mutációk száma (azaz a mutációs ráta) a függő változó.

### ***A sejtosztódási gyakoriság és a DNS sérülések jelentősége az ionizáló sugárzás által okozott mutációk kialakulásában***

Az 1. ábra felső paneljei a vizsgált szövetdarab sejtjeiben egy nap alatt keletkező mutációk számát mutatják be, míg az alsó paneleken az egy túlélő sejtre jutó mutációk napi száma látható a napi sugárterhelés függvényében. Az 1. ábra bal paneljei az „A” paraméterbeállítással, míg a jobb paneljei a „B” paraméterbeállítással számított eredményeket mutatják. Az ábra mindegyik paneljén négy görbét láthatunk, ami a négy modellezett esetnek felel meg. A fekete görbék a háttér mutációs rátát illusztrálják, azaz azt az esetet, amikor az ionizáló sugárzás nem okoz mutációkat. A második esetben, amit a piros görbék mutatnak be, azt feltételezzük, hogy az ionizáló sugárzás csak a DNS sérülések révén járul hozzá a mutációk számának növekedéséhez. A harmadik esetben, amelynek a kék görbék felelnek meg, azzal a feltevéssel élünk, hogy a sugárzás mutagén volta teljes egészében a sejtosztódási gyakoriság megnövekedésében rejlik. Végül a zöld görbék mutatják a valós eset modelljét, amikor mindkét mechanizmust figyelembe vesszük.



1. ábra. A naponta keletkező mutációk száma a vizsgált hámszövetdarabon (felső panelek) és a naponta keletkező mutációk számának és a túlélő, osztódásra képes sejtek számának hányadosa (alsó panelek) az egységnyi felületre jutó bomlások napi száma és az átlagos napi szövetdózis függvényében az „A” (bal oldali panelek) és „B” (jobb oldali panelek) paraméterbeállítás esetén. Valamennyi tengely logaritmikus skálájú.

A felső paneleken a három fenti görbe kezdetben együtt növekszik a sugárterheléssel, de nagyon nagy dózisteljesítményeknél már csökkennek. Eközben a fekete görbék monoton csökkennek a szövetdózis-teljesítmény növekedésével. A felső paneleken minden csökkenés magyarázatát a sugárzás által okozott sejtpusztulás adja, ami a sejtek számának csökkenését, és ezáltal a mutációk számának csökkenését jelenti. A szövetben a környező sejtek osztódás révén pótolják az elpusztult sejteket, az új sejtek viszont tartalmazzák az osztódás előtt keletkezett mutációkat is. Erről a folyamatról azonban a felső panelek nem adnak számot, hatása csak az alsó paneleken lévő görbéken mutatkozik meg. Természetesen a sejtek pótlása csak addig a dózisteljesítményig lehetséges, amíg a szövet sejtjei nem érik el a beállított



minimális sejtciklusidőt. A kék és zöld görbéken látható törések ezt a küszöbdózisteljesítményt jelölik. Az ezzel kapcsolatos következtetéseket itt nem közöljük, de az eredeti cikkben megtalálhatóak (16).

Összehasonlítva az 1. ábra felső paneljeit, látható, hogy a két vizsgált mutagén mechanizmus jelentősége függ a paraméterbeállítástól, bár mindkét esetben a sejtpusztulási gyakoriság növekedése miatti sejtosztódás fokozódás a meghatározó mechanizmus. Ettől függetlenül megállapítható az is, hogy körülbelül 50–100 mGy/nap szöveti dózisteljesítmény felett a sugárzás által okozott DNS sérülések is jelentősen hozzájárulnak a mutációk kialakulásához.

Az 1. ábra alsó paneljein a vizsgált szövetdarabon kialakult mutációk napi számának és az osztódásra képes túlélő sejtek számának a hányadosát látjuk a terhelés függvényében. Miután a napi sugárterhelést túlélő és osztódó sejtek osztódásukkal nem csupán a sejtek számát, hanem ezzel párhuzamosan a szövetdarabra összegzett mutációk számát is növelik, az alsó panelek adnak valószínűbb becslést a helyreállt szövetdarabot jellemző átlagos mutációrátára. Éppen emiatt az alsó paneleken látható eredményeket részletesebben tárgyaljuk.

A fekete görbe világosan mutatja azt, amit várunk, hogy ha a számításokban mindkét mutációt okozó mechanizmust kikapcsoljuk, akkor a mutációk kialakulása független a sugárterheléstől. Összehasonlítva az 1. ábra alsó paneljeit jól látható, hogy a pontos értékek érzékenyek a paraméterbeállításra. Természetesen, ha az egyik mechanizmust kikapcsoljuk, akkor a sugárzás hatása gyengébbnek mutatkozik. Ha a két mechanizmus együttes hatását vizsgáljuk, akkor megállapítható, hogy körülbelül 30 mGy felett ez nagyobb, mint a két összetevő hatásának összege, ugyanakkor jelentősen kisebb azok szorzatánál. Feltehetőleg ez igaz 30 mGy alatt is, noha a mutációs ráta alacsony értéke miatt a görbék ezt nem tükrözik.

Ugyanakkor azt világosan mutatják az eredmények, hogy az  $\alpha$ -részecskék által okozott sejtpusztulás miatti sejtciklusidő-rövidülés nagymértékben hozzájárul a mutációk kialakulásához; jelentősége nagyobbak mutatkozik, mint az ionizáló sugárzás által okozott DNS sérüléseké. A jelenség akár a szomszédhatás egy fajtájának is tekinthető. Fontos azonban megjegyezni, hogy míg a klasszikus szomszédhatás a közvetlen hatások mellett csak a kis dózisteljesítmények tartományában játszik szerepet, addig a fent leírt „szomszédhatás” a teljes dózisteljesítmény-tartományban jelentős.

Az ionizáló sugárzás effajta nem-célzott hatásának egy fontos következménye, hogy a differenciált sejtek terhelése is hozzájárulhat ahhoz, hogy új mutációk jelenjenek meg a környező, osztódásra (vagy még inkább transzformációra) képes sejtekben. Emiatt a szövetszintű vizsgálatokban és a rákkockázat becslésében sem hagyhatóak figyelmen kívül azok az  $\alpha$ -részecskék, amelyek csak olyan sejteket találnak el, amelyek nem képesek az osztódásra. Meg kell jegyezni azt is, hogy azon dozimetriai modellek többsége, amelyek a radon-leányelemekből származó effektív dózist becsülik, csak az érzékeny (vagy másként fogalmazva osztódásra képes) sejtek által elnyelt dózist veszik figyelembe. A radonterheléshez rendelt rákkockázat becsléséhez ezeket a dozimetriai modelleket is felhasználják, éppen ezért a fent bemutatott eredmények felvetik e modellek újragondolásának és átdolgozásának szükségességét.

## KÖVETKEZTETÉSEK

Az ionizáló sugárzás hatására elpusztult sejtek miatt megnövekedett sejtosztódási gyakoriság nem csupán jelentősen hozzájárul, hanem alapvetően meghatározza a kialakuló mutációk számát, ha a szövet hosszú ideig van kitéve sűrűn ionizáló sugárzásnak. Ez a fajta szomszédhatás nemcsak a kis dózisteljesítmények esetén jelentős, hanem olyan dózisteljesítményeknél is, ahol a klasszikus szomszédhatás már elhanyagolható a közvetlen hatások mellett. A sejtosztódási gyakoriság megnövekedésének jelentősége felhívja a figyelmünket arra, hogy az osztódásra nem képes sejtek sugárterhelése is eredményezheti a

mutációk számának növekedését növelve a rák kialakulásának kockázatát, azaz ezek a sejtek is figyelembe veendők a radon-leányelemek dozimetriájában. A megnövekedett sejtosztódási gyakoriság jelentősége arra is rámutat, hogy krónikus terhelésnek kitett többsejtű élőlényekre vonatkozóan a mesterséges környezetben, szöveten kívüli sejteken végzett kísérletek jelentősen alulbecsülhetik a sűrűn ionizáló sugárzás mutagén voltának mértékét.

## IRODALOM

- [1] Feinendegen L, Hahnfeldt P, Schadt EE, Stumpf M, Voit EO. Systems biology and its potential role in radiobiology. *Radiation and Environmental Biophysics*. 2008;47(1):5-23.
- [2] Müller M, Durante M, Stöcker H, Merz F, Bechmann I. Modeling radiation effects at the tissue level. *European Physical Journal D*. 2010;60(1):171-6.
- [3] Köteles G. Az ionizáló sugárzás hatása az emberi szervezetre. In: Fehér I, Deme S, szerk. *Sugárvédelem*. Budapest: ELTE Eötvös Kiadó; 2010. p. 53-78.
- [4] Mothersill C, Seymour CB. Radiation-induced bystander effects - implications for cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2004;4(2):158-64.
- [5] Barcellos-Hoff MH, Park C, Wright EG. Radiation and the microenvironment - Tumorigenesis and therapy. *Nature Reviews Cancer*. 2005;5(11):867-75.
- [6] Balásházy I, Hofmann W. Quantification of local deposition patterns of inhaled radon decay products in human bronchial airway bifurcations. *Health Physics*. 2000;78(2):147-58.
- [7] Szőke I, Farkas Á, Balásházy I, Hofmann W. Modelling of cell deaths and cell transformations of inhaled radon in homes and mines based on a biophysical and microdosimetric model. *International Journal of Radiation Biology*. 2008;84(2):127-38.
- [8] Balásházy I, Farkas Á, Madas BG, Hofmann W. Non-linear relationship of cell hit and transformation probabilities in a low dose of inhaled radon progenies. *Journal of Radiological Protection*. 2009;29(2):147-62.
- [9] Szőke I, Farkas Á, Balásházy I, Hofmann W. Stochastic aspects of primary cellular consequences of radon inhalation. *Radiation Research*. 2009;171(1):96-106.
- [10] Farkas Á, Hofmann W, Balásházy I, Szőke I, Madas BG, Moustafa M. Effect of site-specific bronchial radon progeny deposition on the spatial and temporal distributions of cellular responses. *Radiation and Environmental Biophysics*. 2011;50(2):281-97.
- [11] Madas BG, Balásházy I, Farkas Á, Szőke I. Cellular burdens and biological effects on tissue level caused by inhaled radon progenies. *Radiation Protection Dosimetry*. 2011;143(2-4):253-7.
- [12] Mercer RR, Russell ML, Crapo JD. Radon dosimetry based on the depth distribution of nuclei in human and rat lungs. *Health Physics*. 1991;61(1):117-30.
- [13] Mercer RR, Russell ML, Roggli VL, Crapo JD. Cell number and distribution in human and rat airways. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 1994;10(6):613-24.
- [14] Hazelton WD. Modeling the effects of radiation on cell cycle regulation and carcinogenesis. In: Tan WY, Hanin L, szerk. *Handbook of Cancer Models with Applications*. Singapore: World Scientific; 2008. p. 91-108.
- [15] Wu LJ, Randers-Pehrson G, Xu A, Waldren CA, Geard CR, Yu ZL, et al. Targeted cytoplasmic irradiation with alpha particles induces mutations in mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96(9):4959-64.
- [16] Madas BG, Balásházy I. Mutation induction by inhaled radon progeny modeled at the tissue level. *Radiation and Environmental Biophysics*. 2011;50(4):553-70.

- [17] Farkas Á, Balásházy I. Quantification of particle deposition in asymmetrical tracheobronchial model geometry. *Computers in Biology and Medicine*. 2008;38(4):508-18.
- [18] Ziegler JF, Biersack JP, Ziegler MD. SRIM - The Stopping and Range of Ions in Matter: Ion Technology Press; 2008. A szerző a SRIM-2008.3-at használta, amely a <http://www.srim.org/> oldalon érhető el.
- [19] Frankenberg D, Brede HJ, Schrewe UJ, Steinmetz C, Frankenberg-Schwager M, Kasten G, et al. Induction of DNA double-strand breaks by  $^1\text{H}$  and  $^4\text{He}$  ions in primary human skin fibroblasts in the LET range of 8 to 124 keV/ $\mu\text{m}$ . *Radiation Research*. 1999;151(5):540-9.
- [20] The International Human Genome Mapping Consortium. A physical map of the human genome. *Nature*. 2001;409(6822):934-41.
- [21] Claesson AK, Stenerlow B, Jacobsson L, Elmroth K. Relative biological effectiveness of the alpha-particle emitter At-211 for double-strand break induction in human fibroblasts. *Radiation Research*. 2007;167(3):312-8.
- [22] Vilenchik MM, Knudson AG. Endogenous DNA double-strand breaks: Production, fidelity of repair, and induction of cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100(22):12871-6.
- [23] Foray N, Charvet AM, Duchemin D, Favaudon V, Lavalette D. The repair rate of radiation-induced DNA damage: A stochastic interpretation based on the Gamma function. *Journal of Theoretical Biology*. 2005;236(4):448-58.
- [24] Fowler JF. Repair between dose fractions: A simpler method of analyzing and reporting apparently biexponential repair. *Radiation Research*. 2002;158(2):141-51.
- [25] Adamson IYR. Cellular kinetics of the lung. In: Witschi H, Brain JB, szerk. Berlin: Springer; 1985. p. 289-317.
- [26] Hei TK, Wu LJ, Liu SX, Vannais D, Waldren CA, Randers-Pehrson G. Mutagenic effects of a single and an exact number of alpha particles in mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997;94(8):3765-70.
- [27] Soyland C, Hassfjell SP. Survival of human lung epithelial cells following in vitro alpha-particle irradiation with absolute determination of the number of alpha-particle traversals of individual cells. *International Journal of Radiation Biology*. 2000;76(10):1315-22.
- [28] Turesson I, Nyman J, Qvarnstrom F, Simonsson M, Book M, Hermansson I, et al. A low-dose hypersensitive keratinocyte loss in response to fractionated radiotherapy is associated with growth arrest and apoptosis. *Radiotherapy and Oncology*. 2010;94(1):90-101.