

УДК:577.3

## ПРО РАДІОБІОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПОВІЛЬНИХ ЕЛЕКТРОНІВ

Стецович В. В., Павлючок-Гогерчак О. В., Суховія М. І., Шваб Р. Л., Шафраньош І. І.

*Про радіобіологічне значення повільних електронів. — В. В. Стецович, О. В. Павлючок-Гогерчак, М. І. Суховія, Р. Л. Шваб, І. І. Шафраньош. — За допомогою фізичного моделювання процесів, викликаних в біомолекулах низькоенергетичними вторинними електронами, досліджено особливості утворення позитивних і негативних іонів азотистих основ нуклеїнових кислот. Встановлено, що максимум позитивної іонізації аденіну і гуаніну настає при 85 eV. Утворення негативних іонів має резонансний характер з максимумом при 1,1 eV і супроводжується фрагментацією біомолекул. Проаналізовані радіобіологічні наслідки впливу електронів малих енергій на біоструктуру.*

**Ключові слова:** біомолекули, повільні електрони, аденін, гуанін, радіобіологічні наслідки.

**Адреса:** Ужгородський національний університет, 88000, Ужгород, вул. А. Волошина, 54; e-mail: lshafr@rambler.ru

*About radiobiological importance of slow electrons. — V. Stetsovych, O. Pavlyuchok-Gogerchak, M. Sukhoviya, R. Shvab, I. Shafranyosh. — Production of positive and negative ions of nucleic acid bases molecules has been studied using a crossed electron and molecular beam technique. It has been shown that the total positive ion production cross section reaches its maximal value at 85 eV electron energy. Dissociative ionization cross sections have also been determined. The maximum of negative ion production is at 1,1 eV. The radiobiological consequence has been analyzed.*

**Keywords:** biomolecules, slow electrons, adenine, guanine, radiobiological consequences.

**Address:** Uzhgorod State University, 88000, Uzhgorod, Voloshin st. 54; ; e-mail: lshafr@rambler.ru

### Вступ

В опромінених організмах розпочинаються численні радіобіологічні процеси, опосередковані регуляторними системами клітин, зокрема, порушення метаболічного гомеостазу, поява не властивих клітині речовин, ушкодження молекул або їх заміна тощо. Виділяють кілька груп радіаційних пошкоджень молекул у клітині [3]: втрату здатності молекулярних структур виконувати властиві їм нормальні функції; забезпечувати структурні перебудови хромосом, що супроводжують поділ клітини; зміну кодового, інформаційного та функціонального значення послідовності мономерів у біологічних макромолекулах.

На даний час вважається, що основну руйнівну дію на молекули спричиняє не саме високоенергетичне випромінювання, а вторинні низькоенергетичні електрони. Вторинні електрони у значній кількості виникають як результат дії первинного випромінювання на речовину при наступних процесах [1]: фотоелектричного ефекту та ефекту Комптона, при виникненні електронно – позитронних пар, а також у результаті проходження через середовище високоенергетичних заряджених і нейтральних частинок ( $\beta$  – частинок, протонів, дейтронів, нейтронів,  $\alpha$  – частинок і важких іонів). В більшості вторинні електрони є низькоенергетичними, із енергіями від 0,1 до десятків електрон-вольт [7]. Саме вони зумовлюють основні зміни у живих клітинах, причому головними мішенями і при зовнішньому, і при внутрішньому опроміненні ста-

ють генетичні макромолекули РНК і ДНК. Тому цілком зрозумілим є високий інтерес до вивчення взаємодії біологічно важливих молекул з повільними електронами [6,8].

Для об'єктивної оцінки радіобіологічних наслідків фізичних процесів збудження та іонізації, викликаних в біоструктурах електронним ударом, потрібні точні дані про величини абсолютних перерізів утворення позитивних і негативних іонів нуклеїнових кислот та інформація про найбільш імовірні канали фрагментації біомолекул. Вирішенню цих завдань і присвячене наше експериментальне дослідження.

### Матеріали і методика досліджень

Для з'ясування особливості взаємодії біомолекул з низькоенергетичними електронами було здійснено фізичне моделювання внутріклітинних процесів в умовах лабораторного експерименту.

Об'єктами дослідження були пуринові азотисті основи нуклеїнових кислот – аденін та гуанін. Використовувались препарати фірми "Calbiochem".

Дослідження проводились на спеціально сконструйованій експериментальній установці, основними блоками якої були джерела молекулярного і електронного пучків, камера зіткнень, система детектування іонів та мас-спектрометр. Детально методика і техніка експерименту описані в наших попередніх публікаціях [10]. Вивчення ізоляованих молекул дозволяє отримати інформацію про прямі процеси, зумовлені поглинанням енергії мо-

лекулами, змоделювати умови контактного опромінення в клітині.

Джерелом повільних електронів служила п'ятиелектродна електронна гармата. Виміри проводилися при силі струму пучка електронів  $1 \cdot 10^{-7} \text{ А} - 1 \cdot 10^{-8} \text{ А}$  і енергетичній неоднорідності електронів на піввисоті їх енергетичного розподілу  $\Delta E_S \sim 0,3 \text{ еВ}$ . Концентрація молекул  $6 \cdot 10^{10} \text{ см}^{-3}$ . Енергія електронного пучка регулювалась в межах  $0-200 \text{ еВ}$ . При цих умовах експерименту поглинута біомолекулами доза становила  $1 \cdot 10^{-3} - 2 \cdot 10^{-3} \text{ Грей}$  [5]. Відносні похибки визначення концентрації молекул були 15%, для енергетичних залежностей перерізів іонізації – 10%.

### Результати досліджень та їх обговорення

Під дією повільних електронів в речовині одночасно протікають кілька типів фізичних процесів. Основні з них – збудження атомів і молекул, іонізація з утворенням іонів обох знаків, дисоціативне збудження та дисоціативна іонізація. Ці всі процеси в біомолекулах дозволяє виявити і встановити їхні кількісні характеристики розроблений нами метод фізичного моделювання.

Енергетична залежність перерізів утворення позитивних іонів (функція іонізації) гуаніну приведена на рис. 1, де по осі абсцис відкладена енергія налітаючих електронів у електрон-вольтах, а по осі ординат – переріз іонізації в  $\text{см}^2$ . Як видно, функція іонізації молекул має вигляд кривої пологої форми із максимумом при енергії 85 еВ. Експериментально визначений поріг іонізації гуаніну рівний 8,8 еВ. На кривій іонізації помітна структура, яку можна приписати процесам дисоціативної іонізації. Максимальна величина повного перерізу іонізації рівна  $3,0 \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$ . Приведений переріз має зміст повного перерізу, який включає в себе перерізи утворення іонів цілої молекули та її фрагментів. Для аденіну енергетична залежність виходу позитивних іонів має аналогічний характер, досягаючи максимального значення також при 85 еВ. Абсолютне значення перерізу при цій енергії електронів становить  $2,8 \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$ .

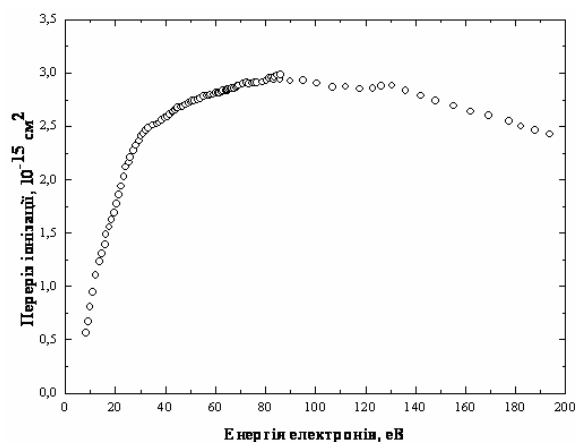


Рис. 1. Залежність абсолютної величини перерізу утворення позитивних іонів гуаніну від енергії електронів.

Перерізи іонізації аденіну і гуаніну за порядком величини ( $10^{-15} \text{ см}^2$ ) співпадають із розрахованою площею пуринового кільця. Це є підтвердженням того, що при цих енергіях основний внесок в переріз іонізації дають  $\pi$  – електрони молекул аденіну та гуаніну.

Таблиця 1. Молекулярні маси (m/z) та відносні величини перерізів (I) утворення позитивних іонів молекул гуаніну і їх фрагментів при енергії електронів 95 еВ

m/z	I, в.о.	Іони.
26	0,02	CN
27	0,06	CNH
28	0,18	CNH <sub>2</sub> ; CO
29	0,35	CHO
38	0,02	C <sub>2</sub> N
39	0,02	C <sub>2</sub> HN
40	0,14	C <sub>2</sub> O
41	0,14	CHN <sub>2</sub>
42	0,24	CH <sub>2</sub> N <sub>2</sub>
43	0,54	CHNO
52	0,12	C <sub>2</sub> N <sub>2</sub>
53	0,21	C <sub>2</sub> HN <sub>2</sub>
54	0,45	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> N <sub>2</sub>
55	0,10	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> ; C <sub>2</sub> HNO
56	0,04	CH <sub>3</sub> N <sub>3</sub>
57	0,02	CH <sub>3</sub> N <sub>3</sub>
65	0,01	C <sub>3</sub> HN <sub>2</sub>
66	0,02	C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> N <sub>2</sub>
67	0,08	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>
68	0,09	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> N <sub>3</sub>
69	0,11	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N <sub>3</sub>
78	0,02	C <sub>3</sub> N <sub>3</sub>
79	0,04	C <sub>3</sub> HN <sub>3</sub>
80	0,02	C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> N <sub>3</sub>
81	0,19	C <sub>3</sub> HN <sub>2</sub> O
82	0,03	C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O
83	0,01	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O
105	0,02	C <sub>4</sub> HN <sub>4</sub>
106	0,04	C <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O
107	0,06	C <sub>4</sub> HN <sub>3</sub> O
108	0,10	C <sub>4</sub> H <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O
109	0,24	C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O
110	0,02	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O
133	0,13	C <sub>5</sub> H <sub>3</sub> N <sub>5</sub>
134	0,19	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>5</sub>
135	0,08	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> ; C <sub>5</sub> H <sub>3</sub> N <sub>4</sub> O
136	0,01	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O
148	0,01	C <sub>5</sub> H <sub>2</sub> N <sub>5</sub> O
149	0,02	C <sub>5</sub> H <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O
150	0,04	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>5</sub> O
151	1,00	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O

Отримані дані з повного перерізу іонізації молекул аденіну та гуаніну та їх мас-спектри дозволили знайти парціальні перерізи утворення найбільш імовірних фрагментів (табл. 1 і рис. 2). Встановлено, що утворення позитивних молекулярних іонів аденіну і гуаніну є домінуючим процесом. Іони фрагментів молекули (дисоціативна іонізація) мають значно менші перерізи іонізації. Серед фрагментів, відносно великі перерізи іонізації характерні для груп: CHO, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>HN<sub>2</sub>O, C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O, C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>5</sub>. В той же час у мас-спектрі не було виявлено ліній, які відносяться до двозарядних іонів.

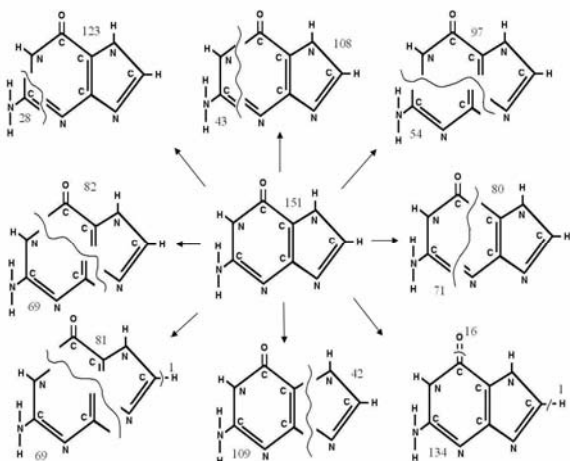


Рис. 2. Фрагменти дисоціації молекули гуаніну

На відміну від позитивних іонів, утворення негативних іонів помітним чином проявляється лише у дуже вузькій області енергій електронів (рис. 3), що вказує на резонансний характер цього процесу. Максимальної величини переріз іонізації для аніонів аденіну досягає при енергії 1,1 еВ і рівний  $6 \cdot 10^{-18} \text{ см}^2$ . Визначений переріз має зміст повного перерізу, який включає в себе утворення від'ємних іонів як цілої молекули, так і її фрагментів.

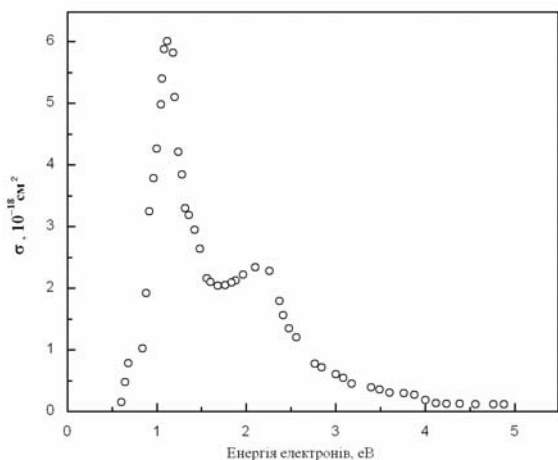


Рис. 3. Залежність абсолютної величини перерізу утворення негативних іонів аденіну від енергії електронів

За допомогою програмного пакету HyperChem 6.0 нами розраховані основні параметри структури молекул. Для прикладу на рис.4 приведено розподіл густини електричного заряду і довжин зв'язків у молекулі аденіну. Із аналізу отриманих даних можна зробити припущення, що місцем "атаки" електронів у молекулі аденіну буде область, де зосереджений найбільший позитивний заряд (рис. 4). До цієї області і буде притягуватися негативно заряджений електрон. Найбільш імовірно – це будуть атоми водню, які зв'язані з атомом азоту N9 і вуглецю C2. Захопивши зайвий електрон, молекула аденіну перетворюється у негативний іон у збу-

дженому стані. Такий молекулярний іон є нестабільним і прагне позбутися зайвої енергії. Згідно із законами збереження енергії, це можливо шляхом розпаду молекулярного іону [9]. Одним із фрагментів буде негативно заряджений іон, а іншим – атомарний водень.

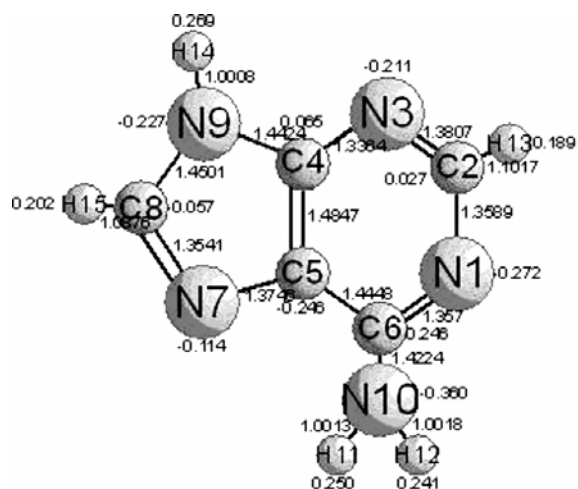
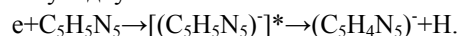


Рис. 4. Розподіл густини електричного заряду і довжини зв'язків у молекулі аденіну.

Таким чином, процес утворення від'ємних іонів аденіну відбувається за схемою:



Проаналізуємо радіобіологічні наслідки досліджених фізичних процесів, викликаних в молекулах азотистих основ нуклеїнових кислот електронним ударом.

Іонізація азотистих основ може спричинити розриви водневих зв'язків між комплементарними парами і, відповідно, зміни первинної і вищих структур нуклеїнових кислот. Нестабільний негативно заряджений іон біомолекули і радикал Н можуть вносити зміни в енергетичні системи клітини.

Фрагментація молекул з відривом бокових груп кілець азотистих основ призведе до порушення водневих зв'язків, до руйнування вторинної структури макромолекули. Внаслідок опромінювання навіть при таких невеликих енергіях електронів (від одиниць до 100 еВ) можуть виникнути різні мутації. Серед них імовірна поява делецій (випадання основ), трансверсій (заміна пуринових основ на піримідинові); можливі транзиції та заміни кодонів (наприклад, замість ЦАА буде ТУУ) [2]. Це, в свою чергу, може стимулювати синтез треоніну та ініціювати дискримінацію деяких амінокислот, наприклад: фенілаланіну, лейцину, валіну, цистеїну, а також синтез атипичних білків. Наслідком цього можуть бути генетичні і соматичні зміни організму.

Збудження азотистих основ електронним ударом може призвести до дестабілізації водневих зв'язків у комплементарних парах, до міграції енергії вздовж ДНК, до утворення ексимерів та димерів основ, що загальмовує редуплікацію ДНК. З іншого боку, підвищена реакційна здатність збу-

джених молекул може стимулювати нерегульований поділ клітин. Такий механізм узгоджується із стимулюючою дією радіації, яка описана в роботах відомого радіобіолога О.М. Кузіна [4], про те, що внаслідок збудження біополімерних молекул виникають довгоіснуючі екситони, названі поляритонами. Вони можуть виконувати регуляторну функцію, впливаючи на інтенсивність поділу клітин та міжклітинні взаємодії.

## Висновки

1. Експериментально здійснено фізичне моделювання взаємодії вторинних електронів малих енергій з біомолекулами азотистих основ нуклеїнових кислот.

2. Виявлено утворення позитивних і негативних іонів нуклеотидних основ, а також фрагментацію молекул під дією повільних електронів ( $10^{-1} - 10^2$  eV). Досліджені енергетичні залежності перерізів іонізації біомолекул, визначені потенціали іонізації.

3. Показано, що утворення негативних іонів біомолекул має резонансний характер з максимумом при 1,1 eV і супроводжується дисоціацією молекули.

4. Проаналізовані радіобіологічні наслідки процесів збудження та іонізації молекул азотистих основ електронами малих енергій.

1. Бяков В. М., Степанов С. В. К механизму первичного биологического действия ионизирующих излучений // Успехи физических наук. – 2006. – т. 176, № 5. – С. 487 – 506.
2. Говорун Р. Д. Цитогенетические нарушения и мутагенез в клетках млекопитающих и человека, индуцированные ионизирующими излучениями с различной ЛПЭ // Радиация биология. Радиоэкология. – 1997. – Т.37, Вып. 4. – С. 539 – 548.
3. Гродзинський Д. М. Радіобіологія. – Київ: Либідь, 2001. – 448 с.
4. Кузин А. М. Электромагнитная информация в явлении жизни // Биофизика. – 2000. Т.45, Вып.1. – С.144 – 147.
5. Суховія М. І., Шафраньош І. І., Шимон Л. Л. Дослідження збудження та іонізації основ нуклеїнових кислот електронним ударом // Біофізичний вісник. – 1999. – Вип.1 (3). – С. 39 – 41.
6. Abouaf R. and Dunet H. Structures in dissociative electron attachment cross-sections in thymine, uracil and halouracils // Eur. Phys. J. – 2005. – V.35, N.2. – P.405 – 410.
7. Cobut V., Frongillo Y., Patau J. P., Goulet T., Fraser M. J., and J. P. Jay-Gerin. Monte Carlo simulation of fast electron and proton tracks in liquid water. I. Physical and physicochemical aspects // Radiat. Phys. Chem. – 1998. – V. 51. – P. 229 – 243.
8. Coupier B., Farizon B., Scheier P., Maerk T. D. Inelastic interactions of protons and electrons with biologically relevant molecules // Eur. Phys. J. – 2002. – V.20, N.3. – P.459 – 468.
9. Hotop H., Rul M-W., Allan M., Fabrikant I. I. Resonance and threshold phenomena in low-energy electron collisions with molecules and cluster // Advances in atom., molec. and opt. phys. – 2003. – V.49. – P.85 – 216.
10. Shafranyosh I. I., Sukhoviya M. I., Shafranyosh M. I. Absolute cross sections of positive and negative ion production in electron collision with cytosine molecules // J.Phys.B. – 2006. – V.39. – P.4155 – 4162.

Отримано: 17 жовтня 2009 р.

Прийнято до друку: 4 лютого 2010 р.