

УДК 577.346

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ МОЛЕКУЛЫ ДНК, ВЫЗВАННЫХ ОБЛУЧЕНИЕМ ПРОТОНАМИ И ГАММА-КВАНТАМИ

© 2021 г. О.М. Котб\*, \*\*, Д.С. Брожик\*\*\*, В.Н. Вербенко\*\*\*, Е.П. Гулевич\*\*\*,  
В.Ф. Ежов\*\*\*, Д.Л. Карлин\*\*\*, Ф.А. Пак\*\*\*, С.В. Пастон\*, А.М. Поляничко\*,  
А.И. Халиков\*\*\*, Е.В. Чихиржина\*\*\*\*

\*Физический факультет Санкт-Петербургского государственного университета,  
198504, Санкт-Петербург, Старый Петергоф, ул. Ульяновская, 1

\*\*Faculty of Science, Zagazig University, Sharkia Gov Zagazig, Egypt

\*\*\*Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра  
«Курчатовский институт», 188300, Гатчина Ленинградской области, мкр. Орлова роща, 1

\*\*\*\*Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., 4

E-mail: s.v.paston@spbu.ru

Поступила в редакцию 30.11.2019 г.

После доработки 30.11.2019 г.

Принята к публикации 24.09.2020 г.

Проведено сравнение радиационного эффекта гамма-излучения и протонов высоких энергий (1000 МэВ) при облучении ДНК дозами 30 и 50 Гр в водно-солевых растворах (5 и 150 мМ NaCl). Использовали спектральные методы (спектроскопия УФ-поглощения, метод Спирина, спектрофотометрическое плавление ДНК, круговой дихроизм), которые позволяют оценить количество разрушенных азотистых оснований и повреждение вторичной структуры ДНК. Обнаружено, что при указанных условиях протонное излучение вызывает более сильные разрушения азотистых оснований и вторичной структуры ДНК, чем такая же доза гамма-излучения. В ДНК, облученной протонами, предположительно образуются сшивки; вероятность их появления увеличивается с ростом ионной силы облучаемого раствора.

*Ключевые слова:* радиационная онкология, протонная терапия, ДНК, гамма-излучение, разрушение оснований, плавление ДНК.

DOI: 10.31857/S0006302921020046

Ионизирующие излучения вызывают повреждения в структуре ДНК, которые запускают каскад биологических процессов в клетке. Результатом может быть мутация и/или гибель клетки. Еще на раннем этапе развития радиобиологии был сформулирован закон радиочувствительности клеток: клетки тем более радиочувствительны, чем менее они дифференцированы и чем интенсивнее они делятся (правило Бергонье и Трибондо) [1]. Именно по этим параметрам и отличаются клетки злокачественной опухоли от окружающих здоровых клеток, и именно повышенная радиочувствительность опухолевых клеток дает возможность применять ионизирующее излучение для лечения рака. В настоящее время разработано множество методик лучевой терапии, направленных на усиление избирательности повреждения раковых клеток и ослабления ради-

ационной нагрузки на здоровые ткани [2–4]. Применяются, например, инкорпорированные источники ионизирующего гамма-излучения, которые внедряются непосредственно в опухоль (брахитерапия) [2]. При внешнем облучении пациента очень важно учитывать зависимость линейной передачи энергии (ЛПЭ) излучения от глубины проникновения в организм. Эта зависимость определяется природой излучения. Для фотонов она имеет максимум в самом начале пробега частицы (для излучения  $^{60}\text{Co}$  с энергией фотонов 1.3 МэВ на глубине около 2 см в воде) [1, 2, 5] и затем медленно спадает. Такое распределение поглощенной энергии неблагоприятно для лечения опухолей, локализованных глубоко внутри организма, так как доза радиации, полученная здоровыми тканями, оказывается выше, чем полученная опухолью. Для преодоления этой проблемы используются разнообразные варианты стереотаксического облучения (3D-, радиохирургия), например, гамма-нож [2, 6–8]. В случае же

Сокращения: ЛПЭ – линейная передача энергии, КД – круговой дихроизм.

тяжелых заряженных частиц (протонов,  $\alpha$ -частиц, ядер углерода) зависимость ЛПЭ от длины пробега в ткани имеет характерный максимум в конце трека (пик Брэгга), положение которого можно подобрать, варьируя начальную энергию частицы, чтобы максимальная плотность ионизаций пришлась на опухоль [1–5]. В этом случае радиационная нагрузка на окружающие здоровые ткани оказывается существенно меньше. На этом эффекте основана адронная терапия – весьма перспективное, интенсивно развивающееся направление радиационной онкологии. Дополнительным преимуществом терапевтического воздействия излучения с высокой ЛПЭ является то, что в этом случае значительная часть повреждений ДНК возникает за счет так называемого прямого действия радиации: инактивация происходит в результате поглощения энергии излучения самой молекулой ДНК [1]. При этом снижается коэффициент кислородного усиления и нивелируется повышенная резистентность опухолевой ткани вследствие ее гипоксии [2–5]. Существенными недостатками метода адронной терапии, которые тормозят его внедрение в широкую лечебную практику, являются большой размер и весьма высокая стоимость установок – ускорителей заряженных частиц [2–4, 8–15]. В ряде случаев оказывается возможным использовать в медицинских целях исследовательские ускорители [4, 10, 11, 13].

Пучок заряженных частиц с точки зрения лечебного применения имеет и другие преимущества по сравнению с потоком фотонов, а именно возможность более точной фокусировки. В радиационной терапии широко применяются линейные ускорители электронов [2–4, 6–8]. Они существенно дешевле и компактнее адронных ускорителей. Для облучения пациента может применяться как непосредственно пучок электронов, так и тормозное рентгеновское излучение [2, 3]. Индивидуальный подбор системы коллиматоров, принцип стереотаксического облучения с прецизионным позиционированием луча под контролем рентгеновской или томографической визуализации опухоли позволяют добиваться весьма удовлетворительной избирательности поражения опухолевой ткани [2, 3, 8, 16]. Однако при прохождении в тканях пучок электронов заметно рассеивается, повреждая здоровые клетки. Пучок адронов высокой энергии (вдали от пика Брэгга) также может быть очень точно сфокусирован и, в отличие от электронов, траектория массивных адронов в биологических тканях не искривляется, а пучок не рассеивается, даже пройдя насквозь через тело пациента [1–4]. Это свойство может быть использовано для поражения неоперабельных (либо труднооперабельных) опухолей небольшого размера. Подобный метод лечения успешно применяли в течение десятков

лет в «Комплексе лучевой терапии «на пролет» на базе ускорителя протонов СЦ-1000» в Петербургском институте ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» (так называемый «Гатчинский метод») [4, 17, 18]. На счету специалистов «Комплекса лучевой терапии» – более 1300 излеченных больных. Протоны высоких энергий имеют низкую ЛПЭ, сравнимую с ЛПЭ гамма-излучения [2]. Однако взаимодействие этих ионизирующих частиц с веществом существенно различается: гамма-кванты вызывают первичную ионизацию атомов в результате фотоэффекта и комптоновского эффекта, возникающие при этом быстрые электроны в свою очередь производят ионизацию и возбуждение окружающих атомов за счет электромагнитного взаимодействия с электронными оболочками. Треки этих электронов в веществе искривлены, длина пробега варьирует от 1 до 1000 мкм в зависимости от энергии фотона, переданной электрону. Протоны высоких энергий непосредственно вызывают множественные ионизации и возбуждение атомов в результате электромагнитного взаимодействия с электронными оболочками [1]. Повреждения ДНК в организме, клетках и модельных системах, вызванные гамма-облучением, исследуются очень давно, и в целом эти эффекты и их биологические последствия очень подробно изучены [1, 19, 20]. Воздействие адронов, в частности, протонов высоких энергий на биологические системы изучено гораздо меньше, однако в последние годы наблюдается рост числа исследований на эту тему, связанный с развитием адронной терапии [21–24]. Кроме того, протоны высоких энергий – основная составляющая космических лучей, действию которых подвергаются космонавты [25], и это также делает проблему повреждения генетического аппарата протонным излучением весьма актуальной.

В настоящей работе проводится сравнение повреждений ДНК в водно-солевых растворах, вызванных воздействием одинаковых доз гамма-излучения и протонного излучения с энергией протонов 1000 МэВ. Исследовали количество разрушенных азотистых оснований, используя метод Спирина [26–28], степень нативности ДНК – по значениям молярного коэффициента экстинкции и гиперхромного эффекта [29], кривые плавления ДНК, а также спектры кругового дихроизма, которые позволяют получить информацию о вторичной структуре макромолекулы [29–31]. Изучение спектральных параметров ДНК позволяет в ряде случаев оценить радиационный эффект и определить влияние радиомодифицирующих агентов в процессе облучения [32–34].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали натриевую соль ДНК из тимуса теленка (Sigma, США) с молекулярной массой  $M = (6.3 \pm 0.5) \cdot 10^6$  Да, химически чистые NaCl, HClO<sub>4</sub>, деионизированную воду. Растворы NaCl необходимой концентрации готовили из насыщенного раствора.

**Условия облучения.** Облучение протонами с энергией 1000 МэВ проводили в аэробных условиях при комнатной температуре в Петербургском институте ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» в «Комплексе лучевой терапии «на пролет» на базе ускорителя протонов СЦ-1000». Интенсивность пучка составляла 4 Гр/мин. Гамма-облучение проводили в аэробных условиях при комнатной температуре на установке «Исследователь» (<sup>60</sup>Co) в Отделении молекулярной и радиационной биофизики Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова. Мощность дозы составляла 85 Гр/мин. Концентрация ДНК в облучаемых растворах составляла  $1.39 \cdot 10^{-4}$  М нуклеотидов.

**Спектрофотометрическое плавление.** Измерения кривых плавления ДНК в исследуемых растворах проводили на приборе Specord 200 plus (Analytik Jena, Германия) с приставкой Пельтье, с шагом 1°, скорость нагрева 1°/мин. Использовали кварцевые кюветы с длиной оптического пути 1 см. В экспериментах измеряли оптическое поглощение раствора в максимуме поглощения ДНК ( $D_{260}$ ) в зависимости от температуры ( $T$ ). Сбор данных и управление экспериментом осуществляли с помощью программы WinASPECT (Analytik Jena, Германия). Обработку данных проводили в пакете OriginPro. Значение температуры плавления ДНК ( $T_{пл}$ ) определяли по положению максимума на дифференциальной кривой плавления  $dD_{260}(T)/dT$  [31]. Прежде чем приступить к плавлению, регистрировали спектр поглощения ДНК в ультрафиолетовой области при температуре 25°C  $D_{\lambda}(25^{\circ})$ . После завершения плавления регистрировали спектр при максимальной температуре  $D_{\lambda}(95^{\circ})$ . Далее проводили охлаждение раствора до 25°C в течение 10 мин и регистрировали спектр ДНК  $D_{\lambda}(25^{\circ*})$ . Используя полученные спектры поглощения, определяли величину гистерезисного эффекта [35]:

$$\delta = \frac{D_{260}(95^{\circ}) - D_{260}(25^{\circ})}{D_{260}(25^{\circ})} 100\%,$$

а также степень спиральности ДНК после плавления и последующего охлаждения (степень ренатурации) [30]:

$$\vartheta_R = \left( 1 - \frac{D_{260}(25^{\circ*}) - D_{260}(25^{\circ})}{D_{260}(95^{\circ}) - D_{260}(25^{\circ})} \right) 100\%.$$

**Концентрацию азотистых оснований ДНК** в необлученных и облученных растворах определяли, пользуясь методом Спирина [26]. Для этого проводили гидролиз ДНК: к 1 мл раствора ДНК добавляли 3 мл 6%-й HClO<sub>4</sub>, затем выдерживали на водяной бане при 100°C в течение 20 мин с последующим быстрым охлаждением при 0°C. Спектр гидролизованного раствора регистрировали при комнатной температуре. Концентрацию азотистых оснований ( $C$ ) определяли по формуле [26]:

$$C = \frac{10.1(D_{270} - D_{290})V_2}{0.19 V_1},$$

где  $D_{270}$  и  $D_{290}$  – оптические плотности гидролизата при  $\lambda_1 = 270$  нм и  $\lambda_2 = 290$  нм,  $V_1$  – объем исходного раствора ДНК,  $V_2$  – объем гидролизата. Используя полученное значение  $C$  и интенсивность в максимуме спектра поглощения исходного раствора ДНК  $D_{260}(25^{\circ})$ , измеренную перед началом эксперимента по плавлению, определяли молярный коэффициент экстинкции ДНК [29]:

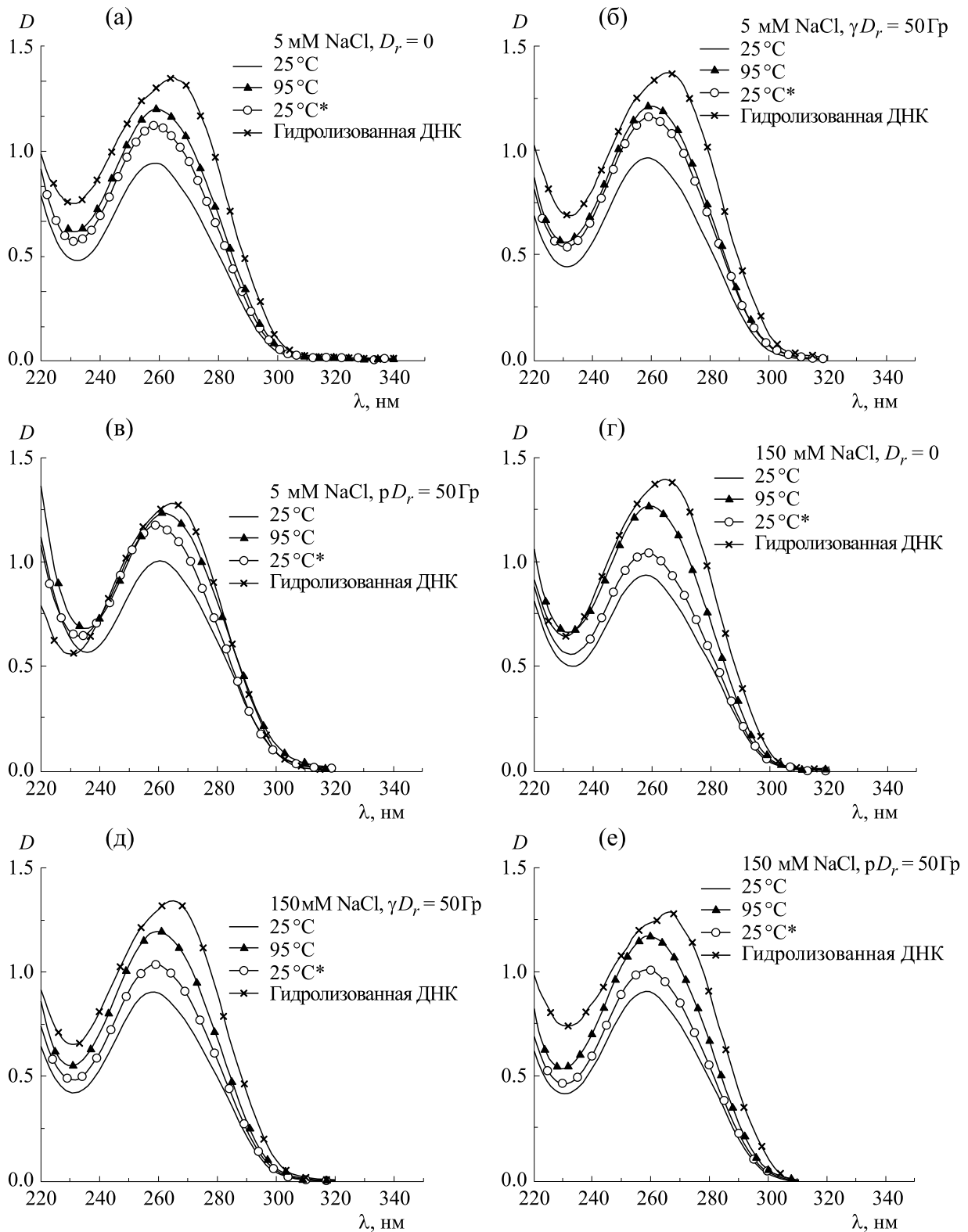
$$\varepsilon_{260}(P) = \frac{31D_{260}(25^{\circ})}{0.099Cl},$$

где  $l$  – длина оптического пути (1 см), 0.099 – содержание фосфора в ДНК (9.9%), 31 г/моль – молярная масса фосфора.

**Круговой дихроизм (КД) ДНК** регистрировали на дихрографе Mark V (Jobin Ivon, Франция) при комнатной температуре в кварцевых кюветках с длиной оптического пути 0.5 см. Спектры снимали в диапазоне от 220 до 320 нм с шагом в 1 нм. На каждой длине волны проводили усреднение сигнала КД по 1000 измерений. Для устранения влияния низкочастотных случайных процессов спектры образца записывали три раза с последующим усреднением. Сглаживание спектров проводили методом Савитского–Голея с рамкой сглаживания в пять точек. Спектры КД представлены в работе в виде разницы поглощений лево- и правополяризованного света,  $\Delta A = A_L - A_R$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе изучали спектральные параметры высокомолекулярной ДНК, облученной гамма-излучением и протонами с энергией 1000 МэВ в растворах с двумя ионными силами –  $\mu_1 = 5$  мМ NaCl и  $\mu_2 = 150$  мМ NaCl. На рис. 1 приведены примеры спектров поглощения ДНК в ультрафиолетовой области в контрольных (необлученных) растворах и в растворах, облученных в дозе 50 Гр. Спектры были зафиксированы при разных температурах в процессе плавления ДНК и после



**Рис. 1.** Спектры УФ-поглощения ДНК в растворах с разной ионной силой ( $\mu_1 = 0.005$ ,  $\mu_2 = 0.150$ ), необлученной и облученной в дозе 50 Гр протонным и гамма-излучением. Ионная сила раствора, вид излучения и температура, при которой измерялись спектры, указаны на графиках. 25°C\* – спектры, измеренные после плавления и быстрого охлаждения раствора ДНК.

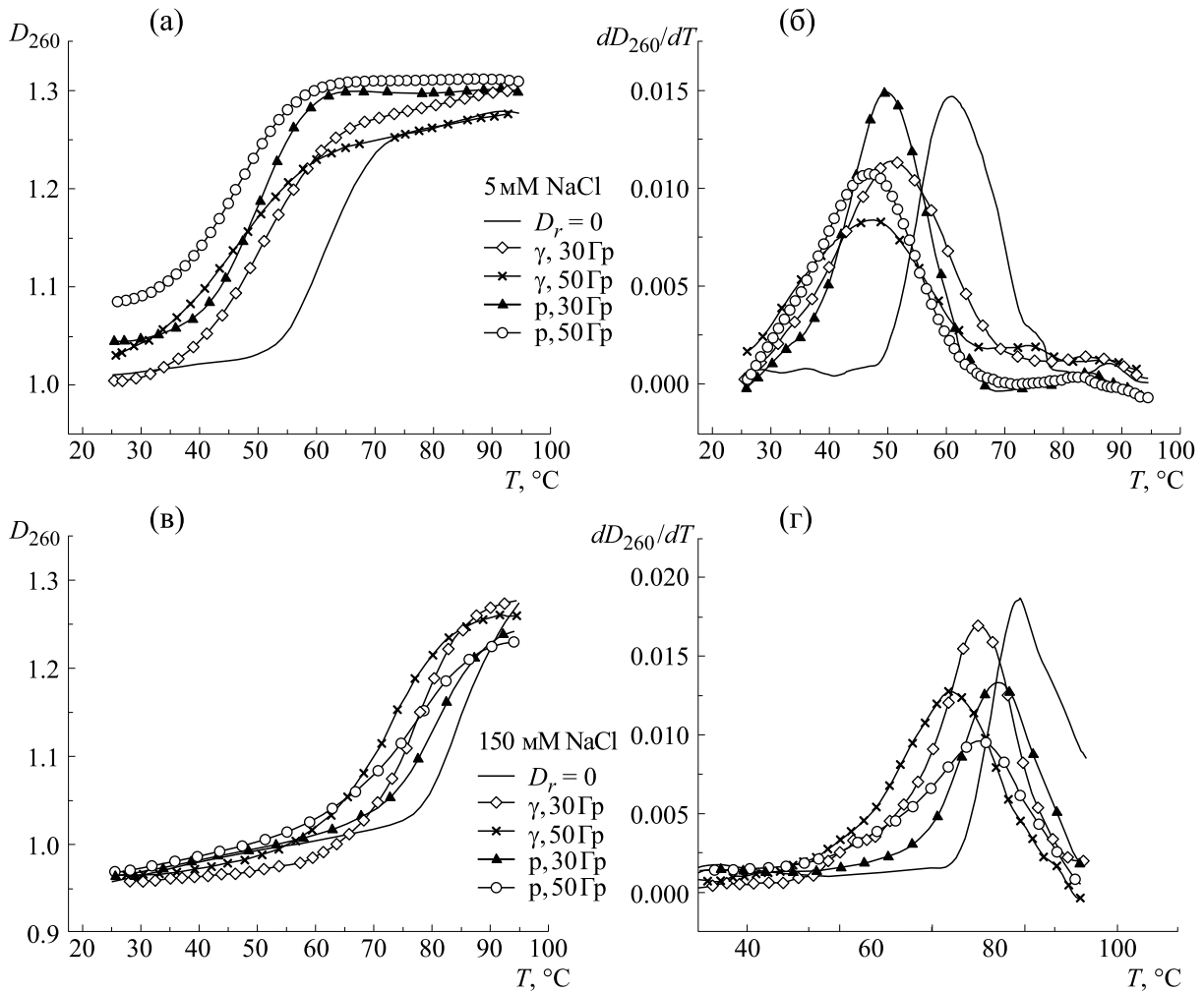


Рис. 2. Кривые плавления ДНК (а, в) и их первые производные (б, г), в растворах, облученных протонным и гамма-излучением в дозах 30 Гр и 50 Гр. Ионная сила раствора и условия облучения указаны на графиках.

охлаждения раствора, а также после гидролиза. При нагревании раствора ДНК от 25°C до 95°C возникает хорошо известный гиперхромный эффект вследствие денатурации двойной спирали. При последующем охлаждении раствора ДНК наблюдается неполное восстановление поглощения, которое объясняется частичной ренатурацией комплементарных участков ДНК, принадлежащих как разным одноцепочечным молекулам, так и одной нити (в последнем случае образуются «шпильки») [29–31]. Для высокомолекулярной ДНК полная ренатурация не происходит даже при очень медленном отжиге из-за трудности взаимного проникновения двух одноцепочечных клубков и сближения комплементарных последовательностей [29]. В результате частичной ренатурации ДНК в растворе образуются двухспиральные участки, перемежающиеся одноцепочечными, причем они могут принадлежать нескольким разным нитям. При гидролизе про-

исходит не только полное разделение цепей ДНК, но и их частичная фрагментация [26], поэтому спектры поглощения гидролизованной ДНК демонстрируют более сильный гиперхромный эффект, чем спектры ДНК при 95°C (рис. 1). Кроме того, в спектрах гидролизованной ДНК наблюдается батохромный сдвиг вследствие протонирования азотистых оснований в кислой среде [36].

Кривые плавления нативной и облученной ДНК приведены на рис. 2. Основные структурные параметры ДНК, определенные из спектров, представленных на рис. 1, и кривых плавления (рис. 2) приведены в таблице. С ростом ионной силы раствора вторичная структура нативной ДНК стабилизируется, что отражается в росте гиперхромного эффекта, увеличении температуры плавления ДНК и сужении интервала перехода «спираль–клубок» [29, 30]. Степень ренатурации ДНК ( $\vartheta_R$ ), которая выражает степень спиральности ДНК, восстановленную при отжиге, также

Параметры ДНК, облученной разными видами излучения (гамма- и протонного) в растворах с разной ионной силой

Вид и доза излучения	$(\Delta C \pm 0.02) \cdot 10^{-5}, \text{ M}$	$(T_m \pm 1), ^\circ\text{C}$	$(\vartheta_R \pm 0.5), \%$	$(\delta \pm 0.5), \%$	$(\epsilon_{260} \pm 50), \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
$\mu = 5 \text{ mM NaCl}$					
0	0	61	31.1	28.2	6340
$\gamma, 30 \text{ Гр}$	0.30	51	22.4	30.0	6980
$\gamma, 50 \text{ Гр}$	0.91	47	20.7	26.2	6990
$p, 30 \text{ Гр}$	1.21	50	40.5	24.3	7790
$p, 50 \text{ Гр}$	1.52	47	23.0	22.5	7660
$\mu = 150 \text{ mM NaCl}$					
0	0	84	67.8	36.7	6300
$\gamma, 30 \text{ Гр}$	0.61	78	56.6	35.6	6360
$\gamma, 50 \text{ Гр}$	0.61	73	54.3	33.1	6390
$p, 30 \text{ Гр}$	0.91	81	63.0	29.4	7010
$p, 50 \text{ Гр}$	2.12	78	90.9	30.2	7190

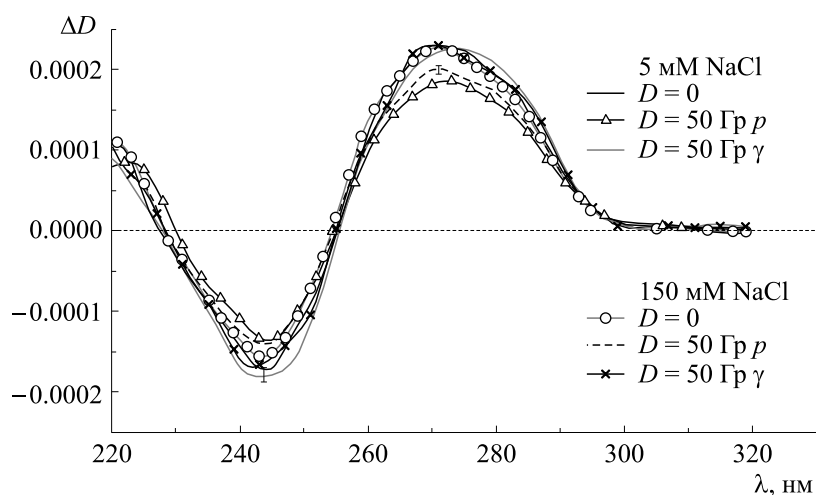
увеличивается с ростом ионной силы вследствие более эффективной экранировки отрицательно заряженных фосфатных групп противоионами.

Облучение протонами и гамма-квантами вызывает разрушение хромофоров (азотистых оснований) и снижение температуры плавления (см. таблицу). По спектру поглощения ДНК при  $25^\circ\text{C}$  и скорректированной концентрации хромофоров был определен молярный коэффициент экстинкции ДНК ( $\epsilon_{260}$ ), по величине которого можно судить о степени нативности макромолекулы. Сравнение величин  $\Delta C$ ,  $\epsilon_{260}$  и гиперхромного эффекта для необлученных и облученных систем (см. таблицу) показывает, что протонное облучение более эффективно разрушает основания и вторичную структуру ДНК при  $\mu_1 = 5 \text{ mM NaCl}$  и  $\mu_2 = 150 \text{ mM NaCl}$ .

КД-спектры ДНК в изучаемых системах показаны на рис. 3. Видно, что облученная ДНК сохраняет В-форму. Гамма-облучение в дозе 50 Гр практически не влияет на вид КД-спектра ДНК, тогда как протонное облучение в той же дозе вызывает снижение интенсивности положительной и отрицательной полос. Подобный эффект может быть следствием разрушения хромофоров, а также дестабилизации вторичной структуры ДНК [37]. Аналогичные изменения в спектре КД наблюдаются и при облучении ДНК гамма-радиацией, но в дозах, в несколько раз больших, чем использованные в настоящей работе [28, 34]. Данные, полученные методом КД, также указывают, что при равных поглощенных дозах высокоэнергетичные протоны производят более сильные повреждения в структуре ДНК, чем гамма-излучение.

Для выяснения характера и степени повреждения структуры ДНК ее температура плавления является неоднозначным параметром [28]. Разные виды радиационных повреждений могут оказывать на  $T_{пл}$  противоположное влияние. Одно- и двухнитевые разрывы, разрушение, модификация и отрыв азотистых оснований приводят к дестабилизации вторичной структуры и понижают температуру плавления ДНК [1, 19, 28–30], тогда как межнитевые сшивки повышают  $T_{пл}$  [38]. Сравнивая  $T_{пл}$  ДНК, облученной протонами и гамма-квантами (см. таблицу), можно заметить, что при  $\mu_1 = 5 \text{ mM NaCl}$  эти значения при равных поглощенных дозах совпадают в пределах погрешности эксперимента, а при  $\mu_2 = 150 \text{ mM NaCl}$   $T_{пл}$  ДНК, облученной протонами, выше, чем  $T_{пл}$  ДНК, облученной гамма-квантами в той же дозе. При этом в ДНК, подвергнутой протонному облучению, количество разрушенных азотистых оснований больше и степень спиральности ниже, чем в ДНК, облученной гамма-радиацией в той же дозе. Можно предположить, что повышенные значения  $T_{пл}$  ДНК, облученной протонами, объясняются появлением сшивок. Отметим, что вероятность межнитевых сшивок удаленных по цепи участков ДНК повышается с ростом ионной силы (при  $\mu_2 = 150 \text{ mM NaCl}$ ), так как вследствие более эффективной экранировки фосфатных групп противоионами объем клубка ДНК в этих условиях существенно меньше, чем при  $\mu_1 = 5 \text{ mM NaCl}$  [39].

Степень ренатурации  $\vartheta_R$  ДНК после гамма-облучения понижается монотонно с ростом дозы при  $\mu_1$  и  $\mu_2$  (см. таблицу). Действительно, разрушение азотистых оснований должно препятство-



**Рис. 3.** Спектры кругового дихроизма ДНК, облученной в дозе 50 Гр протонным и гамма-излучением в растворах с разной ионной силой ( $\mu_1 = 5$  мМ,  $\mu_2 = 150$  мМ).

вать восстановлению вторичной структуры при отжиге. Однако в растворах, облученных протонами, значения  $\vartheta_R$  ДНК выше, чем в растворах, получивших такую же дозу гамма-облучения. Более того, в большинстве случаев степень ренатурации ДНК после протонного облучения оказывается выше, чем для необлученной ДНК (см. таблицу). Этот эффект, который, как и повышенные значения  $T_{пл}$  ДНК, более ярко выражен в растворах большой ионной силы, также можно объяснить, предположив, что протонное облучение вызывает сшивки в молекуле ДНК.

## ВЫВОДЫ

Гамма-кванты и протоны высоких энергий относятся к излучениям с низкими значениями ЛПЭ, однако первичные процессы передачи энергии веществу-поглотителю у них различны. Сравнение радиационного эффекта этих двух видов излучения на ДНК в водно-солевых растворах показало, что при дозах до 50 Гр протоны вызывают более сильные разрушения азотистых оснований и вторичной структуры ДНК. Кроме того, в ДНК, облученной протонами, наблюдаются признаки межнитевых сшивок, вероятность которых повышается с ростом ионной силы раствора.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Часть исследований проведена с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ «Оптические и лазерные методы исследования вещества» и «Нанофотоника».

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-08-01500).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ю. Б. Кудряшов, Радиационная биофизика (ионизирующие излучения) (Физматлит, М., 2004).
2. H. Murshed, Fundamentals of radiation oncology, physical, biological and clinical aspects (Elsevier Inc., London, 2019).
3. M. Beyzadeoglu, G. Ozyigit, and C. Ebruli, Basic Radiation Oncology (Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg, 2010).
4. Г. Е. Труфанов, М. А. Асатурян и Г. М. Жаринов, Лучевая терапия (ГЭОТАР-Медиа, М., 2010), т. 2.
5. O. Desouky and G. Zhou, J. Taibah University for Science **10**, 187 (2016).
6. C. Cao, D. Wang, C. Chung, et al., J. Thoracic Cardiovasc. Surg. **157** (1), 362 (2019).
7. R. W. Gao, K. R. Olivier, S. S. Park, et al., Adv. Radiat. Oncol. **4**, 314 (2019).
8. S. Falk, Surgery **27**, 4 (2009).
9. А. П. Черняев, Г. И. Клёнов, А. Ю. Бушманов и др., Мед. радиология и радиац. безопасность **64** (2), 11 (2019).

10. А. С. Самойлов, Ж. Ж. Смирнова, В. А. Климанов и др., Мед. радиология и радиац. безопасность **64** (2), 41 (2019).
11. В. С. Хорошков, Мед. радиология и радиац. безопасность **64** (2), 52 (2019).
12. И. А. Гулидов, Радиационная онкология и ядерная медицина **1**, 34 (2013).
13. V. E. Balakin, A. E. Shemyakov, S. I. Zaichkina, et al., Biophysics **62** (1), 138 (2017).
14. L. L. Gol'din, V. P. Dzheleпов, M. F. Lomanov, et al., Soviet Physics Uspekhi **16** (3), 402 (1973).
15. M. Durante and N. Paganetti, Rep. Prog. Phys. **79**, 096702 (2016).
16. L. Brewster, R. Mohan, G. Mageras, et al., Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. **33**, 1081 (1995).
17. Н. К. Абросимов, А. А. Воробьев, В. А. Елисеев и др., Мед. радиология **32** (8), 10 (1987).
18. N. K. Abrosimov, Yu. A. Gavrikov, E. M. Ivanov, et al., J. Phys.: Conf. Ser. **41**, 424 (2006).
19. Н. И. Рябченко, Радиация и ДНК (Атомиздат, М., 1979).
20. J. E. Coggle, Biological Effects of Radiation (Taylor & Francis Ltd., London, 1983).
21. C. Allen, T. B. Borak, H. Tsujii, and J. A. Nickoloff, Mutat. Res. **711**, 150 (2011).
22. E. Surdutovich, E. Scifoni, and A. V. Solov'yov, Mutat. Res. **704**, 206 (2010).
23. R. A. Mitteer Jr, Y. Wang, J. Shah, and S. Gordon, Sci. Rep. **5**, 13961 (2015).
24. J. Kobiarski and E. Lipiec, J. Mol. Struct. **1178**, 162 (2019).
25. T. K. Gaisser, Astroparticle Phys. **35**, 801 (2012).
26. А. С. Спиринов, Биохимия **23**, 656 (1958).
27. S. A. Tankovskaia, O. M. Kotb, O. A. Dommes, and S. V. Paston, J. Physics: Conf. Series **1038**, 012027 (2018).
28. S. A. Tankovskaia, O. M. Kotb, O. A. Dommes, and S. V. Paston, Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectroscopy **200**, 85 (2018).
29. C. R. Cantor and P. R. Schimmel, Biophysical Chemistry (W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1980), Part 2 and 3.
30. А. А. Веденов, А. М. Дыхне и М. Д. Франк-Каменецкий, Успехи физ. наук **107** (3), 479 (1971).
31. D. Y. Lando, A. S. Fridman, C.-L. Chang, et al., Anal. Biochem. **479**, 28 (2015).
32. D. S. Ershov, S. V. Paston, L. A. Kartsova, et al., Struct. Chem. **22** (2), 475 (2011).
33. S. V. Paston and V. V. Zamotin, J. Struct. Chem. **50** (5), 970 (2009).
34. S. V. Paston, O. A. Dommes, and A. E. Tarasov, in Circular Dichroism: Theory and Spectroscopy, Ed. by D. S. Rodgers (Nova Science Publishers, Inc., New York, 2011), pp. 301–319.
35. E. V. Chikhirzhina, T. Yu. Starkova, E. I. Kostyleva, et al., Cell Tissue Biol. **5**, 536 (2011).
36. Н. А. Касьяненко, С. Ф. Бартошевич и Э. В. Фришман, Молекуляр. биология **19** (5), 13, (1985).
37. E. I. Ramm, V. I. Vorob'ev, T. M. Birshtein, et al., Eur. J. Biochem. **25**, 245 (1972).
38. D. Y. Lando, A. S. Fridman, A. G. Kabak, and A. A. Akhrem, J. Biomol. Structure and Dynamics **15**, 141 (1997).
39. N. A. Kas'yanenko, J. Struct. Chem. **47**, 163 (2006).

## Investigation of DNA Damage Induced by Proton and Gamma Radiation

O.M. Kotb\*, \*\*, D.S. Brozhik\*\*\*, V.N. Verbenko\*\*\*, E.P. Gulevich\*\*\*, V.F. Ezhov\*\*\*, D.L. Karlin\*\*\*, F.A. Pak\*\*\*, S.V. Paston\*, A.M. Polyanichko\*, A.I. Khalikov\*\*\*, and E.V. Chikhirzhina\*\*\*\*

\*Faculty of Physics, St. Petersburg State University, Ulyanovskaya ul. 1, Stary Peterhof, St. Petersburg, 198504 Russia

\*\*Faculty of Science, Zagazig University, Sharkia Gov Zagazig, Egypt

\*\*\*Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Center «Kurchatov Institute», mkr. Orlova roshcha 1, Gatchina, Leningrad Region, 188300 Russia

\*\*\*\*Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, Tikhoretsky prosp. 4, St. Petersburg, 194064 Russia

In this study, we compared the effects of gamma and high-energy proton (1000 MeV) radiation on DNA in aqueous saline solutions (5 mM and 150 mM NaCl) at doses of 30 Gy and 50 Gy. We used spectral methods (ultraviolet absorption method, spectrophotometric methods for nucleic acid quantification, spectrophotometric DNA melting, circular dichroism) for the estimation of the number of damaged nitrogenous bases and damage of a secondary DNA structure. It was found that under these conditions, proton radiation causes more severe destruction of nitrogenous bases and the secondary DNA structure than an exposure to gamma rays at the same dose. In DNA irradiated with protons, the formation of crosslinks is possible, the probability for crosslinking increases with the rise of the ionic strength of the irradiated solution.

*Keywords: radiation oncology, proton therapy, DNA, gamma radiation, destruction of nucleobases, DNA melting*