

УДК: 519.87:57.043

Кинетическое моделирование репарации радиационно-индуцированных двунитевых разрывов ДНК с учетом ультрамедленной компоненты

С. А. Корнева^{1,2,a}, А. П. Черняев^{1,b}, А. Н. Осипов^{2,3,c}

¹Московский государственный университет, физический факультет,
Россия, 119991, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 2

²Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна ФМБА России,
Россия, 123182, г. Москва, ул. Живописная, д. 46

³Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н. Н. Семёнова
Российской академии наук,
Россия, 119991, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4

E-mail: ^a sophiakorneva@gmail.com, ^b a.p.chernyaev@yandex.ru, ^c andreyan.osipov@gmail.com

Получено 04.03.2026, после доработки — 02.06.2026.

Принято к публикации 06.06.2026.

В работе предложена кинетическая модель репарации радиационно-индуцированных двунитевых разрывов ДНК, включающая ультрамедленную компоненту сложных повреждений. Модель параметризована по экспериментальной динамике γ H2AX и pATM в мезенхимальных стволовых клетках человека после облучения γ -излучением (^{60}Co) и нейтронами 14,1 МэВ в дозе 0,5 Гр. Показано, что стандартная двухкомпонентная схема воспроизводит раннюю фазу ответа (0,5–6 ч), но систематически недооценивает остаточный сигнал маркеров через 24 ч, особенно после нейтронного облучения. Введение ультрамедленной компоненты позволяет одновременно описать раннюю и позднюю фазы динамики без раздельной подгонки кинетических параметров для разных типов излучения. Различия между γ -излучением и нейтронами задаются только через распределение повреждений по фракциям, включая фиксированные доли ультрамедленной компоненты $\pi_g = 0,15$ и $\pi_n = 0,40$. Статистическое сравнение по критериям χ^2 и AIC, а также бутстреп-анализ и оценка локальной чувствительности подтверждают устойчивость заключения о необходимости ультрамедленной фракции для описания поздней пострadiационной сигнализации.

Ключевые слова: двунитевые разрывы ДНК, репарация ДНК, кинетическое моделирование, ультрамедленная фракция повреждений, линейная передача энергии, нейтронное облучение, маркеры повреждений ДНК

Государственное задание Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 1024122500008-3, шифр FFZE-2025-0030).

UDC: 519.87:57.043

Kinetic modeling of radiation-induced DNA double-strand break repair incorporating an ultraslow component

S. A. Korneva^{1,2,a}, A. P. Chernyaev^{1,b}, A. N. Osipov^{2,3,c}

¹Moscow State University, Faculty of Physics,
1/2, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia

²Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency,
46 Zhivopisnaya st., Moscow, 123182, Russia

³N. N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics RAS,
4 Kosygina st., Moscow, 119991, Russia

E-mail: ^a sophiakorneva@gmail.com, ^b a.p.chernyaev@yandex.ru, ^c andreyan.osipov@gmail.com

Received 04.03.2026, after completion — 02.06.2026.

Accepted for publication 06.06.2026.

A kinetic model of radiation-induced DNA double-strand break repair with an ultraslow component of complex damage is proposed. The model was parameterized using experimental time courses of γ H2AX and pATM foci in human mesenchymal stem cells after exposure to γ -rays (^{60}Co) and 14.1 MeV neutrons at a dose of 0.5 Gy. The standard two-component scheme reproduced the early response phase (0.5–6 h) but systematically underestimated the residual marker signal at 24 h, especially after neutron irradiation. Introducing an ultraslow component allowed both the early and late phases of the response to be described without fitting separate kinetic parameters for different radiation types. The differences between γ -irradiation and neutrons were introduced only through the distribution of damage between fractions, including fixed ultraslow fractions $\pi_g = 0.15$ and $\pi_n = 0.40$. Model comparison using χ^2 and AIC, together with bootstrap analysis and local sensitivity assessment, supports the robustness of the conclusion that an ultraslow damage fraction is required to describe late post-radiation signaling.

Keywords: DNA double-strand breaks, DNA repair, kinetic modeling, ultraslow damage fraction, linear energy transfer (LET), neutron irradiation, DNA damage markers

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2026, vol. 18, no. 4, pp. 989–1003 (Russian).

This work was supported by the State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (No. 1024122500008-3, project code FFZE-2025-0030).

Введение

Двунитевые разрывы ДНК являются одним из наиболее тяжелых типов радиационно-индуцированных повреждений [Ward, 1988]. Неполная или некорректная репарация таких повреждений приводит к геномной нестабильности и связана с повышенным риском канцерогенеза и других отсроченных эффектов. Эффективность репарации двунитевых разрывов определяет выживаемость клеток и во многом формирует клеточный ответ на ионизирующее излучение.

Экспериментальное изучение репарации двунитевых разрывов ДНК основано на анализе временной динамики молекулярных маркеров повреждений. К наиболее информативным относятся γ H2AX, отражающий фосфорилирование гистона H2AX в окрестности разрыва, и активированная форма киназы ATM (pATM), участвующая в запуске сигнальных и репарационных каскадов [Rogakou et al., 1998; Bakkenist, Kastan, 2003]. Анализ временной эволюции этих маркеров позволяет количественно оценивать кинетику репарации, однако требует модельной интерпретации.

Для описания кинетики репарации широко применяются двухкомпонентные модели, в которых все повреждения подразделяются на быстро и медленно репарируемые фракции [Sachs et al., 1997; Cucinotta et al., 2007]. Такие модели успешно воспроизводят раннюю фазу пострадиационного ответа и используются для анализа данных, полученных при облучении фотонным излучением. Вместе с тем в ряде экспериментальных работ показано, что при облучении излучением с высокой линейной передачей энергии, в частности нейтронами, наблюдается устойчивый остаточный сигнал γ H2AX и pATM на временах порядка десятков часов после облучения [Asaithamby et al., 2008; Osipov et al., 2015]. Данная особенность указывает на наличие повреждений, репарация которых существенно замедлена по сравнению со стандартной медленной компонентой, и не может быть корректно описана в рамках классических двухкомпонентных схем.

Наряду с феноменологическими двухкомпонентными схемами развиваются более детальные математические модели пострадиационного ответа, в которых явно описываются отдельные этапы репарации ДНК, активация ATM, формирование сигнала γ H2AX и зависимость характера повреждений от трековой структуры излучения. Такие подходы позволяют более подробно связать наблюдаемую кинетику молекулярных маркеров с процессами распознавания и обработки повреждений, однако требуют большего числа параметров и более детальных экспериментальных данных [Nikjoo et al., 2001; Cucinotta et al., 2007; Belov et al., 2015; Озеров, Осипов, 2015; Nikjoo, Taleei, 2016; Barbieri et al., 2019; Li et al., 2020].

Таким образом, возникает разрыв между экспериментально наблюдаемой поздней кинетикой маркеров повреждений ДНК и возможностями стандартных моделей репарации. Для его устранения требуется расширение модельного описания, которое, с одной стороны, сохраняло бы простоту и интерпретируемость кинетических схем, а с другой — позволяло бы воспроизвести длительное сохранение сигнала после нейтронного облучения.

Настоящая работа посвящена разработке и анализу минимально расширенной кинетической модели репарации двунитевых разрывов ДНК, включающей явную ультрамедленную фракцию сложных повреждений. В предлагаемой модели различия между γ -облучением и нейтронным облучением учитываются исключительно через распределение повреждений по фракциям, что отражает различия в характере формирования кластеризованных двунитевых разрывов при разной ЛПЭ [Nikjoo et al., 2001; Nikjoo, Taleei, 2016; Barbieri et al., 2019]. Кинетические параметры репарации и сигнализации считаются общими для обоих типов излучения, поскольку базовые молекулярные механизмы репарации ДНК не зависят от радиационного качества [Friedland et al., 2003]. Такой подход позволяет отделить влияние типа излучения от собственно кинетики репарационных процессов и корректно сравнить модели между собой.

В работе выполнено сравнение стандартной двухкомпонентной модели и ее расширения по экспериментальным данным динамики γ H2AX и γ ATM. Статистическая обоснованность введения ультрамедленной фракции оценивается с использованием критериев χ^2 и Акаике, а также методов бутстрепа и профиля правдоподобия. Основное внимание уделяется устойчивости оценок параметров и их физической интерпретируемости.

Математическая модель и методы

Экспериментальные данные

Для параметризации моделей использованы данные по динамике фокусов γ H2AX и γ ATM в мезенхимальных стволовых клетках человека после облучения γ -излучением (^{60}Co) и нейтронами энергии 14,1 МэВ в дозе 0,5 Гр [Корнева и др., 2025]. Анализ выполнялся во временных точках 0,5; 2; 4; 6 и 24 ч после облучения. Для каждой временной точки использовались средние значения числа фокусов и экспериментальные неопределенности (SE), применявшиеся в качестве весов при вычислении χ^2 .

Во всех расчетах момент окончания облучения принимался за $t = 0$. Система уравнений интегрировалась на интервале от $t = 0$ до $t = 24$ ч, а сопоставление с экспериментальными данными выполнялось в точках 0,5; 2; 4; 6 и 24 ч после облучения. Таким образом, $t = 0,5$ ч соответствует первой экспериментальной точке, но не моменту задания начальных условий. Это позволяет учитывать накопление сигналов γ H2AX и γ ATM в первые 30 минут после облучения, которые в данной экспериментальной серии отдельно не регистрировались.

Структура моделей

Рассмотрены две кинетические схемы. *Базовая модель* соответствует двухкомпонентному описанию, в котором двунитевые разрывы разделяются на простые $D_s(t)$ и сложные $D_c(t)$. Простые разрывы репарируются по линейному закону, а репарация сложных повреждений описывается насыщаемой кинетикой. Обе компоненты участвуют в формировании сигнала активации ATM и динамики γ H2AX. *Расширенная модель* включает дополнительную ультрамедленную компоненту $D_u(t)$. Эта компонента описывает не образование новых двунитевых разрывов во времени, а эффективное выделение той части сложных повреждений, которая проявляет существенно более медленную кинетику репарации. В модели такой процесс представлен членом $k_{cu}D_c$, который следует интерпретировать как феноменологическое описание задержанного выявления, хроматин-зависимой обработки или перехода части сложных повреждений в труднорепазируемое состояние, а не как буквальное превращение обычного разрыва в новый кластерный разрыв. В этой компоненте репарация протекает существенно медленнее ($k_u \ll k_{rs}$), а вклад в активацию ATM ослаблен коэффициентом $s_{du} < 1$. Такая эффективная компонента может соответствовать пространственно кластеризованным повреждениям и разрывам в плотном гетерохроматине [Goodarzi et al., 2008; Chiolo et al., 2011; Jakob et al., 2011]. Ключевой особенностью подхода является то, что различия между γ -излучением и нейтронами задаются только через распределение повреждений по фракциям, тогда как кинетические параметры репарации и сигнализации считаются общими для обоих типов излучения.

Уравнения моделей

Динамика повреждений, активации ATM и сигнала γ H2AX в расширенной модели описывается системой

$$\begin{aligned} \frac{dD_s}{dt} &= -k_{rs}D_s, & \frac{dD_c}{dt} &= -\frac{V_{rc}D_c}{K_{rc} + D_c} - k_{cu}D_c, & \frac{dD_u}{dt} &= k_{cu}D_c - k_uD_u, \\ \frac{dA_f}{dt} &= V_{af}\frac{\Phi(t)}{K_m + \Phi(t)} - k_{df}A_f, & \frac{dA_s}{dt} &= k_{as}A_f - k_{ds}A_s, & \frac{dH}{dt} &= k_p(A_f + A_s) - k_gH, \end{aligned} \quad (1)$$

где D_s , D_c и D_u — простая, сложная и ультрамедленная компоненты двунитевых разрывов ДНК; A_f и A_s — быстрая и медленная компоненты активированной АТМ; переменная H соответствует наблюдаемому сигналу γ Н2АХ, пропорциональному общему числу двунитевых разрывов ДНК.

Параметр k_{rs} характеризует скорость репарации простых разрывов. Репарация сложных повреждений описывается насыщаемой кинетикой с максимальной скоростью V_{rc} и константой полунасыщения K_{rc} . Параметр k_{cu} задает эффективную скорость перевода части повреждений из компоненты D_c в ультрамедленную компоненту D_u . Этот член не означает появления новых кластерных разрывов после облучения. Он отражает тот факт, что часть исходно сложных повреждений может проявлять ультрамедленную кинетику не сразу, а после задержанного распознавания, локальной перестройки хроматина или начала ферментативной обработки концов ДНК. Скорость репарации повреждений в ультрамедленной компоненте задается параметром k_u .

Активация АТМ описывается насыщаемой функцией от эффективного стимула $\Phi(t)$ с параметрами V_{af} и K_m . Параметры k_{df} , k_{as} и k_{ds} задают инактивацию быстрой компоненты АТМ, переход между компонентами и деградацию медленной компоненты соответственно. Параметры k_p и k_g определяют скорость накопления и деградации сигнала γ Н2АХ.

Величина $\Phi(t)$ задает суммарный сигнал повреждений, воспринимаемый системой активации АТМ, и представляет собой взвешенную сумму различных фракций двунитевых разрывов:

$$\Phi(t) = D_s + w_{dc}D_c + s_{du}D_u, \quad (2)$$

где коэффициенты w_{dc} и s_{du} учитывают относительный вклад сложных и ультрамедленных повреждений в активацию АТМ.

Для сопоставления с экспериментальными данными считали, что наблюдаемый сигнал рАТМ пропорционален суммарному уровню активированной АТМ, а сигнал γ Н2АХ — величине H :

$$\text{pATM}(t) \propto A_f(t) + A_s(t), \quad \gamma\text{H2AX}(t) \propto H(t), \quad (3)$$

с последующей линейной нормировкой к значению в момент $t = 0,5$ ч.

Базовая модель получается из приведенной системы при $k_{cu} = 0$, $D_u \equiv 0$ и $s_{du} = 0$.

ЛПЭ-зависимое распределение повреждений и начальные условия

Доля сложных повреждений f_c считалась функцией ЛПЭ L :

$$f_c(L) = f_{\min} + (f_{\max} - f_{\min}) \frac{L}{L_{50} + L}. \quad (4)$$

Здесь $f_c(L)$ — доля сложных двунитевых разрывов ДНК среди всех повреждений, $f_{\min}$ и $f_{\max}$ — минимальное и максимальное значения этой доли, а параметр L_{50} соответствует значению ЛПЭ, при котором достигается половина диапазона изменения f_c . Для γ -излучения использовали $L \approx 0,2$ кэВ/мкм, для нейтронов 14,1 МэВ — $L \approx 60$ кэВ/мкм [Nair et al., 2019; Barbieri et al., 2019].

Начальные условия задавались в момент окончания облучения, $t_0 = 0$:

$$D_s(t_0) = (1 - f_c)D_0, \quad (5)$$

$$D_c(t_0) = (1 - \pi)f_cD_0, \quad (6)$$

$$D_u(t_0) = \pi f_c D_0, \quad (7)$$

$$A_f(t_0) = A_s(t_0) = H(t_0) = 0, \quad (8)$$

где π — доля ультрамедленной компоненты (отдельно для γ и нейтронов: π_g и π_n). Таким образом, различия между типами излучения вводятся только через $f_c(L)$ и параметры π_g , π_n , тогда как

кинетические параметры считаются общими. Значения модели при $t = 0$ не использовались при вычислении целевой функции. В данной работе использовались фиксированные значения $\pi_g = 0,15$ для γ -излучения и $\pi_n = 0,40$ для нейтронного облучения. Эти значения задавались как гиперпараметры модели и не оптимизировались при подгонке. Выбор $\pi_n > \pi_g$ отражает более высокую долю пространственно сложных и труднорепарируемых повреждений при нейтронном облучении. При этом под «трек-структурной» интерпретацией для нейтронов понимается не трек первичного нейтрона, а локальная структура ионизации, создаваемая вторичными заряженными частицами, прежде всего протонами отдачи и легкими ядрами, возникающими при взаимодействии быстрых нейтронов с веществом. Подгонка выполнялась только по экспериментальным точкам, начиная с $t = 0,5$ ч.

Численные методы и оценка параметров

Системы уравнений решали численно методами интегрирования с адаптивным шагом [Virtanen et al., 2020]. Оценка параметров выполнялась методом взвешенных наименьших квадратов при минимизации критерия

$$\chi^2 = \sum_i \left(\frac{y_i^{\text{mod}} - y_i^{\text{exp}}}{\sigma_i} \right)^2, \quad (9)$$

где y_i^{exp} — экспериментальные значения γH2AX и pATM , σ_i — соответствующие неопределенности, y_i^{mod} — расчет модели в соответствующей временной точке t_i .

Для сравнения моделей использовали информационный критерий Акаике [Akaike, 1974]:

$$\text{AIC} = \chi^2 + 2k, \quad (10)$$

где k — число свободных параметров. Дополнительно устойчивость оценок параметров расширенной модели проверялась с помощью параметрического бутстрепа (500 реализаций псевдоданных). Форма бутстреп-распределений для параметров k_u , s_{du} и w_{dc} показана на рис. 5, а численные характеристики основных параметров приведены в табл. 2.

Результаты

Результаты для двухкомпонентной модели

Сначала была рассмотрена базовая двухкомпонентная модель, в которой все сложные повреждения описываются единой компонентой $D_c(t)$ без выделения ультрамедленной подсистемы. Модель удовлетворительно воспроизводит раннюю динамику маркеров γH2AX и pATM в интервале 0,5–6 ч как для γ -излучения, так и для нейтронного облучения.

На поздних временах наблюдается систематическое расхождение между расчетами и экспериментальными данными. В частности, после нейтронного облучения модель недооценивает уровни γH2AX и pATM через 24 ч. Попытки компенсировать этот недостаток путем изменения параметров базовой схемы приводят к ухудшению описания ранней фазы кинетики. Это указывает на структурную недостаточность двухкомпонентной модели для одновременного описания ранней и поздней фаз пострадиационного ответа при нейтронном облучении.

Сравнение расчетов и экспериментальных данных приведено на рис. 1 и рис. 2.

Далее была рассмотрена расширенная модель, в которой среди сложных повреждений выделяется ультрамедленная компонента $D_u(t)$. В рамках модели член $k_{cu}D_c$ описывает эффективное задержанное проявление труднорепарируемой части повреждений, а не образование новых двунитевых разрывов после облучения. В этой компоненте репарация протекает с существенно меньшей скоростью k_u , а вклад в активацию ATM ослаблен коэффициентом $s_{du} < 1$. Такое

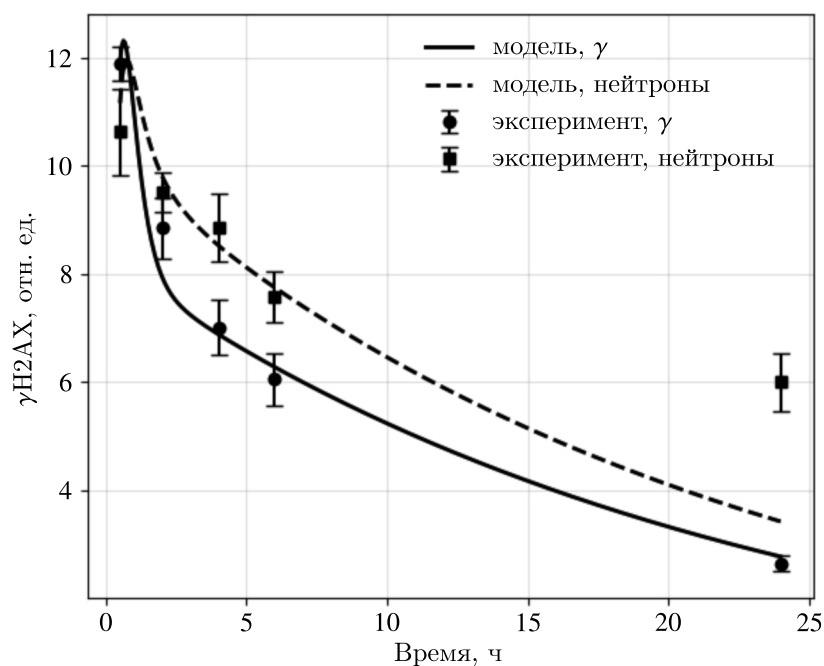


Рис. 1. Динамика маркера γ H2AX после облучения γ -излучением или нейтронами в дозе 0,5 Гр. Точки — эксперимент, линии — модель; сплошные — γ -излучение, штриховые — нейтроны. Модельные кривые рассчитаны от момента окончания облучения ($t = 0$); первая экспериментальная точка соответствует $t = 0,5$ ч

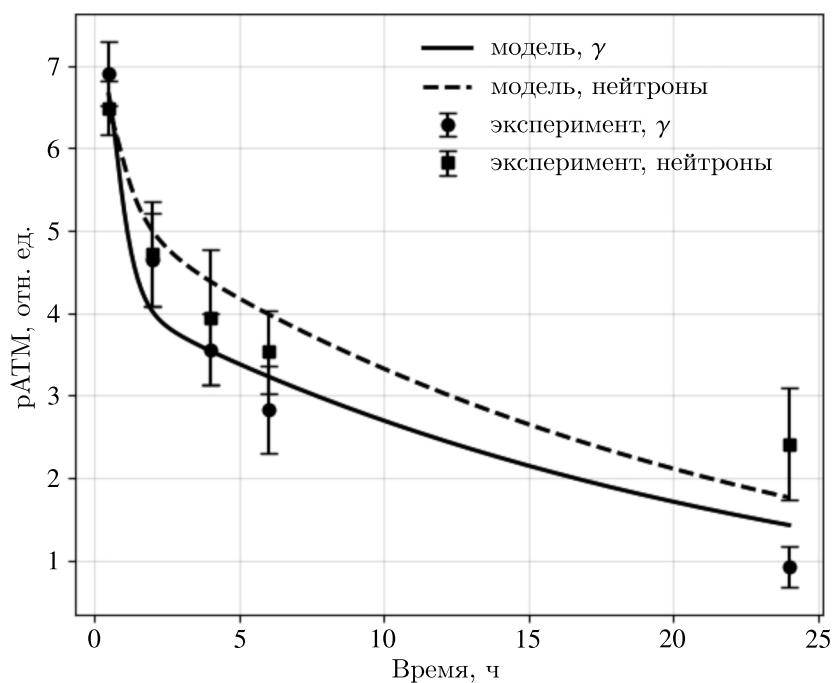


Рис. 2. Экспериментальная динамика маркера pATM после облучения γ -излучением или нейтронами в дозе 0,5 Гр в сравнении с двухкомпонентной моделью. Обозначения аналогичны рис. 1

расширение представляет собой минимальное усложнение структуры модели, направленное на устранение систематического недобора маркеров в поздней фазе пострadiационного ответа.

Расширенная модель воспроизводит раннюю динамику γH2AX и pATM не хуже базовой схемы и одновременно корректно описывает повышенный остаточный сигнал после нейтронного облучения в точке 24 ч. Таким образом, устраняется структурное несоответствие, характерное для двухкомпонентной модели. Сравнение расчетов расширенной модели с экспериментальными данными приведено на рис. 3 и 4.

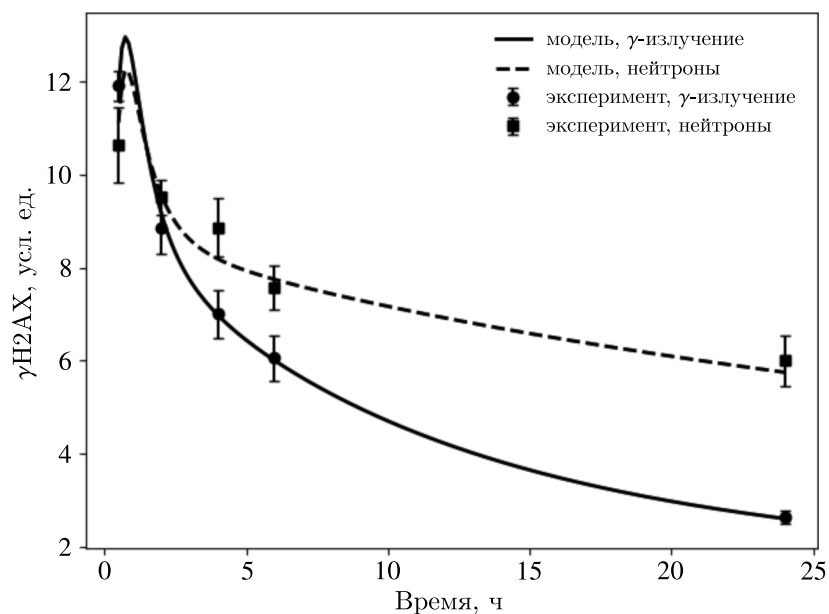


Рис. 3. Динамика γH2AX после облучения γ -излучением или нейтронами в дозе 0,5 Гр и ее описание расширенной моделью. Точки — экспериментальные данные, линии — расчеты по модели. Модельные кривые рассчитаны от момента окончания облучения ($t = 0$); первая экспериментальная точка соответствует $t = 0,5$ ч

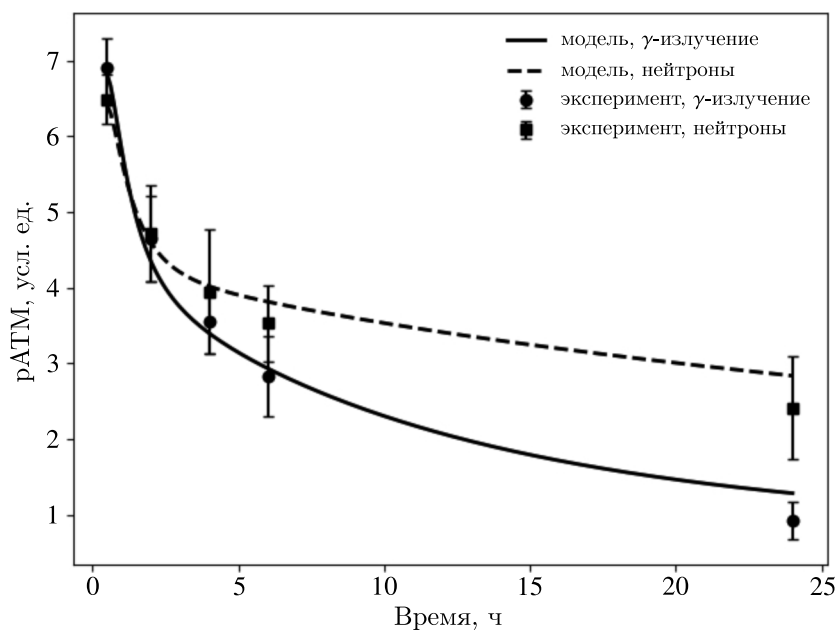


Рис. 4. Динамика pATM после облучения γ -излучением или нейтронами в дозе 0,5 Гр и ее описание расширенной моделью. Обозначения аналогичны рис. 3

Показано, что в двухкомпонентной модели наибольшую чувствительность проявляют параметры, связанные с медленной фазой репарации и сигнализацией АТМ. Именно в этой области модель демонстрирует наибольшие отклонения от экспериментальных данных на поздних временах.

В расширенной модели чувствительность распределяется между несколькими кинетическими и сигнальными параметрами. При этом параметры ультрамедленной компоненты (k_u , k_{cu} и s_{du}) имеют меньшие локальные показатели чувствительности по сравнению с параметрами сигнального блока, что указывает на отсутствие искусственной настройки модели за счет одного доминирующего параметра. Это поддерживает вывод о том, что улучшение описания данных связано прежде всего с изменением структуры модели, а не с переоптимизацией отдельной константы.

Параметры, полученные при подгонке модели, а также фиксированные значения долей ультрамедленной компоненты π_g и π_n , использованные при задании начальных условий, приведены в табл. 1.

Таблица 1. Оптимальные значения параметров, полученные при подгонке модели, а также фиксированные значения долей ультрамедленной компоненты π_g и π_n , использованные при задании начальных условий (совместная подгонка данных γ Н2АХ и рАТМ для γ -излучения и нейтронного излучения, доза 0,5 Гр)

Параметр	Физический смысл	Численное значение
k_{rs} , ч ⁻¹	репарация простых ДР	1,07
V_{rc} , ч ⁻¹	макс. скорость репарации сложных ДР	0,96
K_{rc} , усл. ед.	полунасыщение репарации сложных ДР	0,41
V_{af} , усл. ед./ч	макс. скорость активации АТМ	154,8
K_m , усл. ед.	полунасыщение активации АТМ	1,02
k_{df} , ч ⁻¹	инактивация быстрой АТМ	6,24
k_{as} , ч ⁻¹	переход в медленную фазу АТМ	0,52
k_{ds} , ч ⁻¹	инактивация медленной АТМ	0,11
k_p , усл. ед./ч	образование γ Н2АХ	11,0
k_g , ч ⁻¹	затухание γ Н2АХ	5,45
w_{dc}	вес сложных ДР в сигнале АТМ	1,16
k_u , ч ⁻¹	репарация ультрамедленных ДР	0,013
k_{cu} , ч ⁻¹	замедленное проявление D_u	0,0045
s_{du}	вклад D_u в активацию АТМ	0,23
L_{50} , кЭВ/мкм	половинное значение ЛПЭ	19,1
$f_{\min}$	минимальная доля сложных ДР	0,44
$f_{\max}$	максимальная доля сложных ДР	0,45
π_g	доля D_u для γ -излучения	0,15 (фикс.)
π_n	доля D_u для нейтронного облучения	0,40 (фикс.)

Скорость репарации простых двунитевых разрывов составляет $k_{rs} \approx 1,07$ ч⁻¹, что соответствует характерному времени полужизни порядка одного часа. Для сложных повреждений получены параметры насыщаемой репарации $V_{rc} \approx 0,96$ ч⁻¹ и $K_{rc} \approx 0,41$ усл. ед.

Скорость эффективного выделения ультрамедленной компоненты невелика ($k_{cu} \approx 4,5 \times 10^{-3}$ ч⁻¹), а скорость репарации ультрамедленных разрывов составляет $k_u \approx 1,3 \cdot 10^{-2}$ ч⁻¹, что

более чем на порядок меньше скорости устранения простых разрывов. Несмотря на малую величину k_{cu} , ультрамедленная компонента задана также начальными условиями через параметры π_g и π_n . Поэтому ее вклад в позднюю кинетику определяется не только медленным эффективным переводом из D_c , но и низкой скоростью репарации D_u , что делает влияние этой фракции заметным уже на временах порядка 5–6 ч. Разброс ключевых параметров расширенной модели по результатам параметрического бутстрепа приведен в табл. 2. Для остальных параметров в табл. 1 указаны оптимальные численные значения.

Таблица 2. Разброс ключевых параметров расширенной модели по результатам параметрического бутстрепа

Параметр	Оптимальное значение	Среднее $\pm$ SD	95 % ДИ
k_{rs}	1,066	$1,086 \pm 0,113$	[0,905; 1,364]
V_{rc}	0,965	$0,981 \pm 0,193$	[0,661; 1,311]
K_{rc}	0,411	$0,421 \pm 0,096$	[0,218; 0,668]
w_{dc}	1,163	$1,201 \pm 0,116$	[1,038; 1,501]
k_u	0,0131	$0,0141 \pm 0,0067$	[0,00135; 0,0315]
k_{cu}	0,00450	$0,0185 \pm 0,0315$	[0,00169; 0,104]
s_{du}	0,234	$0,235 \pm 0,038$	[0,169; 0,321]

Бутстреп-распределения для k_{rs} , V_{rc} , K_{rc} , w_{dc} , k_u и s_{du} имеют конечную ширину и остаются в физически допустимых пределах. Наиболее широкое и асимметричное распределение наблюдалось для k_{cu} , что указывает на более слабую индивидуальную идентифицируемость скорости задержанного проявления ультрамедленной компоненты. При этом бутстреп-распределение k_{cu} остается в положительной области, а вывод о необходимости ультрамедленной компоненты поддерживается совместно снижением AIC, бутстреп-анализом и профилями правдоподобия.

Сравнение моделей и устойчивость оценок

В расширенной модели среди сложных двунитевых разрывов выделяется ультрамедленная компонента $D_u(t)$. В отличие от стандартной медленной фракции эти повреждения репарируются со значительно меньшей скоростью k_u и вносят ослабленный вклад в активацию АТМ, задаваемый коэффициентом $s_{du} < 1$. Параметр k_{cu} описывает эффективное задержанное проявление этой компоненты в ходе обработки сложных повреждений.

Доли ультрамедленных повреждений для γ -облучения и нейтронного облучения (π_g и π_n соответственно) задавались как фиксированные гиперпараметры на основе трек-структурных оценок. Такой подход ограничивает число настраиваемых параметров и предотвращает избыточную подгонку модели. Статистическое сравнение базовой и расширенной моделей выполнено с использованием критериев χ^2 и Акаике. Введение ультрамедленной компоненты приводит к снижению значений χ^2 и AIC, что указывает на статистически обоснованное улучшение качества описания при учете дополнительного числа параметров. Разность ΔAIC однозначно свидетельствует в пользу расширенной модели.

Устойчивость оценок параметров расширенной модели проверялась с помощью параметрического бутстрепа (500 реализаций псевдоданных). Распределения бутстреп-оценок для параметров k_u , s_{du} и w_{dc} показаны на рис. 5. Численные характеристики бутстреп-распределений для основных параметров расширенной модели приведены в табл. 2.

Дополнительно была выполнена оценка локальной чувствительности расширенной модели к вариациям параметров. Каждый из кинетических и сигнальных параметров поочередно изменяли на $\pm 10\%$ относительно оптимального значения при фиксированных остальных параметрах.

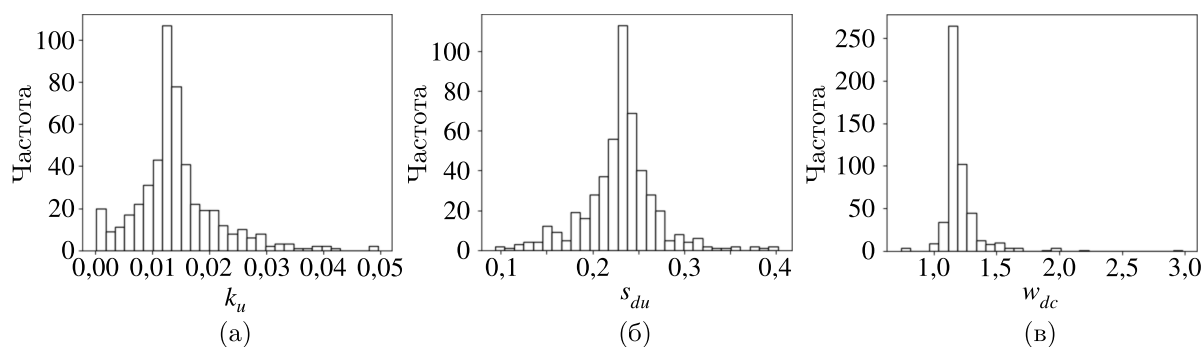


Рис. 5. Распределения бутстреп-оценок параметров расширенной модели: (а) k_u , (б) s_{du} , (в) w_{dc}

Для каждого случая рассчитывали изменение функции несоответствия χ^2 . В качестве показателя чувствительности использовали нормированную величину

$$S_i = \left| \frac{\partial \chi^2}{\partial \theta_i} \frac{\theta_i}{\chi^2} \right|, \quad (11)$$

где θ_i — соответствующий параметр модели. Такой подход широко применяется для проверки идентифицируемости и устойчивости нелинейных кинетических моделей [Sachs et al., 1997; Li et al., 2020].

При анализе локальной чувствительности параметры $f_{\min}$ и $f_{\max}$, задающие ЛПЭ-зависимую долю сложных повреждений, рассматривались отдельно. Поскольку в оптимальном решении их значения близки друг к другу, раздельная локальная вариация этих параметров приводит к высокой численной чувствительности и отражает слабую идентифицируемость самой формы зависимости $f_c(L)$ по двум типам излучения. Поэтому в табл. 3 приведены чувствительности только для кинетических и сигнальных параметров расширенной модели.

Таблица 3. Локальная чувствительность расширенной модели к изменению кинетических и сигнальных параметров на $\pm 10\%$ относительно оптимального значения. Показатель чувствительности рассчитан как нормированное изменение функции несоответствия χ^2

Параметр	Нормированная чувствительность	Интерпретация
k_{df}	$1,22 \cdot 10^1$	высокая
k_g	9,41	высокая
K_m	9,01	высокая
k_{ds}	2,48	умеренная
k_{rs}	2,07	умеренная
V_{af}	$8,85 \cdot 10^{-1}$	умеренная
k_{as}	$4,48 \cdot 10^{-1}$	низкая/умеренная
V_{rc}	$4,08 \cdot 10^{-1}$	низкая/умеренная
k_p	$3,83 \cdot 10^{-1}$	низкая/умеренная
w_{dc}	$3,69 \cdot 10^{-1}$	низкая/умеренная
s_{du}	$8,58 \cdot 10^{-2}$	низкая
k_u	$2,98 \cdot 10^{-2}$	низкая
K_{rc}	$8,98 \cdot 10^{-3}$	низкая
k_{cu}	$6,26 \cdot 10^{-3}$	низкая

Как видно из табл. 3, наибольшую локальную чувствительность демонстрируют параметры, связанные с затуханием сигнальных компонент k_{df} , k_g , а также параметр насыщения активации АТМ K_m . Параметры ультрамедленной компоненты k_u , k_{cu} и s_{du} имеют меньшие локальные показатели чувствительности по сравнению с параметрами сигнального блока. Это означает, что улучшение качества описания в расширенной модели связано не с резкой настройкой одного отдельного параметра, а с изменением структуры кинетической схемы. Такой результат согласуется с бутстреп-анализом: ультрамедленная компонента идентифицируется как необходимый элемент модели, однако ее отдельные параметры могут частично компенсироваться другими кинетическими характеристиками.

Доступность программного кода

Программная реализация расширенной модели с ультрамедленной фракцией повреждений, использованной для численного анализа динамики фокусов γ H2AX и pATM, размещена в открытом репозитории GitHub: <https://github.com/sophiakorneva/UltraSlowComponentModel>. Базовая модель без ультрамедленной фракции представляет собой частный случай приведенной в работе системы и получается при исключении соответствующей компоненты в соответствии с условиями, указанными в разделе «Математическая модель и методы».

Обсуждение

Полученные результаты показывают, что классическая двухкомпонентная схема репарации двунитевых разрывов ДНК оказывается недостаточной для описания поздней фазы пострадиационного ответа после нейтронного облучения. Несмотря на удовлетворительное согласие с экспериментальными данными на ранних временах, базовая модель систематически недооценивает уровни γ H2AX и pATM на временах порядка 24 ч. Аналогичное поведение ранее отмечалось в экспериментальных работах для излучения с высокой линейной передачей энергии и связывалось с наличием трудноустраняемых повреждений ДНК [Rothkamm, Lobrich, 2003; Lobachevsky et al., 2016; Mavragani et al., 2019]. Существенно, что выявленное расхождение имеет одинаковый знак для обоих маркеров и не устраняется вариацией параметров модели, что указывает на структурную недостаточность двухкомпонентной схемы [Sachs et al., 1997; Cucinotta et al., 2007].

Введение ультрамедленной компоненты позволяет устранить это несоответствие без ухудшения описания ранней фазы динамики. Расширенная модель воспроизводит как быстрый спад сигналов в первые часы, так и устойчивый остаточный уровень γ H2AX и pATM после нейтронного облучения. При этом различия между γ -излучением и нейтронным излучением задаются исключительно через распределение повреждений по фракциям, тогда как кинетические параметры репарации и сигнализации остаются общими. Такой подход согласуется с современными представлениями о том, что радиационное качество влияет преимущественно на пространственную организацию и кластеризацию повреждений ДНК, а не на базовые молекулярные механизмы репарации [Nikjoo et al., 2001; Friedland et al., 2003]. Следует подчеркнуть, что переход $D_c \rightarrow D_u$ в предлагаемой модели имеет эффективный, а не буквальный механистический смысл. Он не предполагает образования новых двунитевых разрывов или новых кластеров повреждений после завершения облучения. Скорее, этот член описывает задержанное проявление труднорепазируемой части сложных повреждений, которое может быть связано с распознаванием структуры повреждения, локальной перестройкой хроматина и вовлечением дополнительных ферментативных этапов репарации. Малое значение k_{cu} , по сравнению с характерными скоростями ранней репарации, указывает на то, что данный процесс не определяет начальную фазу ответа, но может влиять на позднюю кинетику остаточного сигнала. Предельный случай $k_{cu} = 0$ соответствует

модели с независимой ультрамедленной фракцией, полностью заданной начальными условиями; таким образом, введенная схема включает такую модель как частный случай.

Оцененные значения скорости репарации ультрамедленной компоненты оказываются существенно ниже характерных скоростей устранения простых и обычных сложных двунитевых разрывов. Это указывает на наличие подсистемы повреждений, репарация которых требует дополнительных процессов и протекает на более протяженных временных масштабах. Биологически такая компонента может быть связана с крупными кластерами повреждений или разрывами, локализованными в плотном гетерохроматине, для репарации которых необходимы перераспределение хроматина и рекрутирование репарационных белков [Goodarzi et al., 2008; Chiolo et al., 2011; Jakob et al., 2011]. Ослабленный вклад ультрамедленных повреждений в активацию АТМ, отраженный параметром $s_{du} < 1$, согласуется с экспериментальными данными о сниженной эффективности АТМ-сигнализации для экранированных или пространственно сложных повреждений ДНК [Bakkenist, Kastan, 2003; Shiloh, Ziv, 2013].

С методологической точки зрения важно подчеркнуть, что расширенная модель не является результатом простого увеличения числа подгоняемых параметров. Доли ультрамедленной компоненты для γ -облучения и нейтронного облучения задаются на основе ЛПЭ-зависимого распределения повреждений и не оптимизируются независимо. Такой подход соответствует трек-структурным представлениям о формировании пространственно сложных повреждений ДНК при облучении излучением высокой ЛПЭ [Nikjoo, Taleei, 2016; Barbieri et al., 2019]. Существенное снижение значения критерия Акаике при переходе к расширенной модели указывает на статистическую оправданность введения ультрамедленной компоненты [Akaike, 1974].

Параметрический бутстреп подтверждает устойчивость оценок ключевых параметров ультрамедленной подсистемы. Несмотря на асимметрию распределений отдельных параметров, их доверительные интервалы остаются в физически разумных пределах и согласуются с профилями правдоподобия. Это указывает на то, что наличие ультрамедленной компоненты является устойчивым выводом, а не артефактом конкретной реализации процедуры подгонки [Virtanen et al., 2020]. Следует также отметить, что предлагаемая модель не включает явное описание альтернативных путей репарации двунитевых разрывов, таких как альтернативное соединение концов или одноцепочечный отжиг. Их вклад в настоящей работе включен в эффективные параметры репарации сложных повреждений. В дальнейшем такие механизмы могут быть учтены путем введения дополнительных весовых коэффициентов или отдельных кинетических ветвей, если будут доступны экспериментальные данные, позволяющие разделить вклады NHEJ, HR и альтернативных путей репарации. Отдельным ограничением работы является отсутствие экспериментальных точек в первые 30 минут после облучения. В модели момент окончания облучения принят за $t = 0$, однако сопоставление с экспериментом начинается с $t = 0,5$ ч. Поэтому параметры репарации и сигнализации следует рассматривать как эффективные характеристики пострадиационной динамики, определяемые по данным начиная с первой доступной экспериментальной точки. Быстрые процессы распознавания повреждений, начальной активации АТМ и ранней репарации, протекающие до 0,5 ч, в данной работе не идентифицируются независимо. В дальнейшем устойчивость оценок может быть проверена на данных с более ранними временными точками или при варьировании начального момента сопоставления модели с экспериментом. Дальнейшая валидация модели должна включать проверку на независимых наборах данных: для других доз, других типов излучения и других клеточных линий, включая фибробласты и лимфоциты. Отдельный интерес представляет сопоставление параметров ультрамедленной компоненты с динамикой маркеров репарационных путей, таких как RAD51 и 53BP1. Такие данные позволят проверить, связана ли компонента D_{II} преимущественно с повреждениями, требующими гомологичной рекомбинации, или отражает более общий класс труднорепазируемых сложных разрывов. Для повышения воспроизводимости модели также планируется подготовить

открытый программный код с описанием входных данных, процедуры подгонки и расчета статистических критериев.

В целом полученные результаты поддерживают представление о многошкальной кинетике репарации двунитевых разрывов ДНК при облучении излучением высокой ЛПЭ. Ультрамедленная компонента не играет доминирующей роли в ранней фазе ответа, однако определяет поведение системы на поздних временах и отвечает за сохранение остаточного сигнала γ H2AX и pATM после нейтронного облучения. Несмотря на малый вклад в раннюю фазу, ультрамедленная фракция существенна для описания остаточной сигнализации после нейтронного облучения, что указывает на ее роль в долгосрочных биологических эффектах. Учет ультрамедленной фракции позволяет корректно оценивать остаточные повреждения после высоко-ЛПЭ-облучения, что важно для прогнозирования отдаленных радиобиологических эффектов [Mavragani et al., 2019; Nair et al., 2019].

Список литературы (References)

- Корнева С. А., Чигасова А. К., Осипов А. А., Игнатов М. А., Воробьева Н. Ю., Сабуров В. О., Казakov Е. И., Корякин С. Н., Федотов Ю. А., Бушманов А. Ю., Осипов А. Н. Пострадиационные изменения количества фокусов γ H2AX и pATM в мезенхимальных стволовых клетках человека, облученных нейтронами 14,1 МэВ // Медицинская радиология и радиационная безопасность. — 2025. — Т. 70, № 3. — С. 11–15.
- Korneva S. A., Chigasova A. K., Osipov A. A., Ignatov M. A., Vorobyova N. Yu., Saburov V. O., Kazakov E. I., Koryakin S. N., Fedotov Yu. A., Bushmanov A. Yu., Osipov A. N. Postradiatsionnye izmeneniya kolichestva fokusov γ H2AX i pATM v mezenkhimal'nykh stvolovykh kletkakh cheloveka, obluchennykh neitronami 14,1 MeV [Post-radiation changes in the number of γ H2AX and pATM foci in human mesenchymal stem cells exposed to 14.1 MeV neutrons] // Medical Radiology and Radiation Safety. — 2025. — Vol. 70, No. 3. — P. 11–15 (in Russian).
- Озеров И. В., Осипов А. Н. Кинетическая модель репарации двунитевых разрывов ДНК в первичных фибробластах человека при действии редкоионизирующего излучения с различной мощностью дозы // Компьютерные исследования и моделирование. — 2015. — Т. 7, № 1. — С. 159–176.
- Ozerov I. V., Osipov A. N. Kineticheskaya model' reparatsii dvunitevykh razryvov DNK v pervichnykh fibroblastakh cheloveka pri deistvii redkoioniziruyushchego izlucheniya s razlichnoi moshchnost'yu dozy [Kinetic model of DNA double-strand break repair in primary human fibroblasts exposed to low-LET irradiation with various dose rates] // Computer Research and Modeling. — 2015. — Vol. 7, No. 1. — P. 159–176 (in Russian).
- Akaike H. A new look at the statistical model identification // IEEE Transactions on Automatic Control. — 1974. — Vol. 19, No. 6. — P. 716–723.
- Asaithamby A., Uematsu N., Chatterjee A., Story M. D., Burma S. Repair of HZE-particle-induced DNA double-strand breaks in normal human fibroblasts // Radiation Research. — 2008. — Vol. 169, No. 4. — P. 437–446.
- Bakkenist C. J., Kastan M. B. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation // Nature. — 2003. — Vol. 421. — P. 499–506.
- Barbieri S., Babini G., Morini J., Friedland W., Buonanno M., Grilj V., Brenner D. J., Ottolenghi A., Baiocco G. Predicting DNA damage foci and their experimental readout with 2D microscopy: a unified approach applied to photon and neutron exposures // Scientific Reports. — 2019. — Vol. 9. — Art. 14019.
- Belov O. V., Krasavin E. A., Lyashko M. S., Batmunkh M., Sweilam N. H. A quantitative model of the major pathways for radiation-induced DNA double-strand break repair // Journal of Theoretical Biology. — 2015. — Vol. 366. — P. 115–130.
- Chiolo I., Minoda S., Colmenares S. U., Polyzos A., Costes S. V., Karpen G. H. Double-strand breaks in heterochromatin move outside of a dynamic HP1a domain to complete recombinational repair // Cell. — 2011. — Vol. 144, No. 5. — P. 732–744.
- Cucinotta F. A., Pluth J. M., Anderson J. A., Harper J. V., O'Neill P. Biochemical kinetics model of DSB repair and induction of γ H2AX foci by non-homologous end joining. — NASA Technical Publication: NASA TP-2007-214666. — 2007.

- Friedland W., Jacob P., Paretzke H.-G., Stork T.* Simulation of DNA damage after proton irradiation // *Radiation Research*. — 2003. — Vol. 159, No. 3. — P. 401–410.
- Goodarzi A.A., Noon A.T., Deckbar D., Ziv Y., Shiloh Y., Löbrich M., Jeggo P.A.* ATM signaling facilitates repair of DNA double-strand breaks associated with heterochromatin // *Molecular Cell*. — 2008. — Vol. 31, No. 2. — P. 167–177.
- Jakob B., Splinter J., Conrad S., Voss K.-O., Zink D., Durante M., Löbrich M., Taucher-Scholz G.* DNA double-strand breaks in heterochromatin elicit fast repair protein recruitment, H2AX phosphorylation and relocation to euchromatin // *Nucleic Acids Research*. — 2011. — Vol. 39, No. 15. — P. 6489–6499.
- Li Y., Wu H., Hede S.-M., et al.* Mathematical model of ATM activation and chromatin remodeling at the DNA damage site // *iScience*. — 2020. — Vol. 23. — Art. 100836.
- Lobachevsky P.N., Vassilieva E.M., et al.* Repair of DNA double-strand breaks in human cells exposed to fast neutrons // *Radiation and Environmental Biophysics*. — 2016. — Vol. 55, No. 2. — P. 189–198.
- Mavragani I.V., Nikitaki Z., Kalospyros S.A., Georgakilas A.G.* Ionizing radiation and complex DNA damage // *Cancers (Basel)*. — 2019. — Vol. 11. — Art. 1789.
- Nair S., Engelbrecht M., Miles X., Ndimba R., Fisher R., du Plessis P., Bolcaen J., Nieto-Camero J., de Kock E., Vandevoorde C.* The impact of dose rate on DNA double-strand break formation and repair in human lymphocytes exposed to fast neutron irradiation // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2019. — Vol. 20. — Art. 5350.
- Nikjoo H., O'Neill P., Wilson W.E., Goodhead D.T.* Computational approach for determining the spectrum of DNA damage induced by ionizing radiation // *Radiation Research*. — 2001. — Vol. 156, No. 5. — P. 577–583.
- Nikjoo H., Taleei D.* Track structure analysis of radiation-induced DNA damage // *Radiation Measurements*. — 2016. — Vol. 94. — P. 1–13.
- Osipov A.N., Pustovalova M.V., Grekhova A., Eremin P., Vorobyova N., Pulin A., Zhavoronkov A., Roumiantsev S., Klovov D.Y., Eremin I.* Low doses of X-rays induce prolonged and ATM-independent persistence of γ H2AX foci in human gingival mesenchymal stem cells // *Oncotarget*. — 2015. — Vol. 6. — P. 27275–27287.
- Rogakou E.P., Pilch D.R., Orr A.H., Ivanova V.S., Bonner W.M.* DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139 // *Journal of Biological Chemistry*. — 1998. — Vol. 273, No. 10. — P. 5858–5868.
- Rothkamm K., Lobrich M.* Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low X-ray doses // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. — 2003. — Vol. 100, No. 9. — P. 5057–5062.
- Sachs R.K., Hahnfeldt P., Brenner D.J.* The link between low-LET dose-response relations and the underlying kinetics of damage production/repair/misrepair // *International Journal of Radiation Biology*. — 1997. — Vol. 72, No. 4. — P. 351–374.
- Shiloh Y., Ziv Y.* The ATM protein kinase: regulating the cellular response to genotoxic stress, and more // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. — 2013. — Vol. 14, No. 4. — P. 197–210.
- Virtanen P., Gommers R., Oliphant T.E., SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python // *Nature Methods*. — 2020. — Vol. 17, No. 3. — P. 261–272.*
- Ward J.F.* DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability // *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*. — 1988. — Vol. 35. — P. 95–125.