

# INACTIVACION DE BACTERIAS POR IMPACTO DE IONES PESADOS

G.H. OLIVERA\* y R.D. RIVAROLA.

Grupo de Colisiones Atómicas, Instituto de Física Rosario (CONICET-UNR), Av. Pellegrini 250, (2000) Rosario, Argentina.

e-mail: [olivera@unrctu.edu.ar](mailto:olivera@unrctu.edu.ar) / [colision@ifir.edu.ar](mailto:colision@ifir.edu.ar)

P.D. FAINSTEIN

Laboratoire de Chimie -Physique, Matière et Rayonnement, Université Pierre et Marie Curie, 11 Rue Pierre et Marie Curie, 75231 Paris, Francia.

## Introducción

La teoría de inactivación de blancos es un modelo matemático que permite describir los efectos de la interacción de radiaciones con detectores físicos o biológicos. En el caso de sistemas biológicos, esta aproximación es incapaz de describir el efecto de radiaciones ionizantes sobre células, ya que no tiene en cuenta los efectos debidos al daño secundario (formación de radicales libres, etc.), ni los mecanismos de reparación. Sin embargo ha demostrado ser muy adecuada para modelizar la inactivación en sistemas más simples como virus y bacterias [1,2]. En el presente trabajo se calculan secciones eficaces para la inactivación de *Escherichia Coli B*, *B/r* y *B<sub>S-1</sub>* por impacto de iones pesados de diferente Transferencia Lineal de Energía (*LET*). Para ello utilizamos la teoría de estructura de trazas para detectores en la aproximación de blanco extendido. Los perfiles de dosis alrededor de la traza del ion son obtenidos a partir de secciones doble diferenciales de ionización en el modelo Continuum Distorted Wave-Eikinal Initial State. El transporte de electrones se describe en la aproximación Continuum Slowing Down (CSDA) [3]. El tamaño de los blancos se toma igual a 0.5  $\mu\text{m}$ , el cual se aproxima al tamaño de la bacteria. A partir de los resultados obtenidos concluimos que las bacterias *Escherichia Coli B*, *B/r* y *B<sub>S-1</sub>* se comportan como detectores unimpacto, esto significa que la interacción de un solo electrón con uno de los sitios sensitivos abstractos (blancos) puede inactivar la bacteria. Además se puede inferir que los mecanismos de daño secundario no son importantes.

## Teoría de Inactivación de Blancos

La teoría de inactivación de blancos históricamente intentó describir cuantitativamente en términos físicos y matemáticos, la inactivación de entidades biológicas debida a la acción de radiaciones. Luego quedó claro que esta aproximación no es adecuada para sistemas complejos como las células, pero es muy útil en los casos donde los procesos biológicos secundarios, como por ejemplo la reparación, no modifique substancialmente el daño inicial.

La teoría de blancos se basa en dos postulados principales:

1. La naturaleza estocástica de la deposición de energía.
2. Una relación uno a uno entre el número de lesiones y el efecto biológico último.

Llamaremos detector a cualquier sistema físico capaz de sufrir algún cambio detectable luego de ser irradiado. Es decir que están incluidos dentro de esta categoría los sistemas biológicos. En la teoría de blancos, se supone que el detector consiste de sitios sensitivos (blancos), distribuidos aleatoriamente (pero en promedio uniformemente) dentro de una matriz insensitiva. En una distribución aleatoria, la probabilidad de que uno de los miembros de una colección de celdas idénticas sea impactado, puede ser descrito por una distribución de Poisson. Si como ya supusimos el único efecto que prevalece es el directo y considerando que  $N_0$  sea el número total de blancos,  $N$  el número de blancos que no han sido impactados y  $\lambda$  el número de impactos promedio por blanco, la probabilidad para que ocurran  $n$  impactos será:

\*Autor a quien debe enviarse la correspondencia

$$p(n) = e^{-\lambda} \frac{\lambda^n}{n!} \quad (1)$$

donde  $p(n)$  es la fracción de blancos que ha recibido  $n$  impactos si  $N_0$  es suficientemente grande. Suponiendo que exactamente  $m$  impactos llevan a la inactivación del blanco la fracción de supervivencia  $\frac{N}{N_0}$  es:

$$\frac{N}{N_0} = \sum_{n=0}^{m-1} e^{-\lambda} \frac{\lambda^n}{n!} \quad (2)$$

Es propio de esta formulación que un número de impactos menor que  $m$  no tiene ningún efecto. Los detectores para los cuales  $m > 1$  se llaman detectores multi-impacto.

Para el caso de particular importancia  $m = 1$ , llamado detector mono-impacto la fracción de supervivencia toma la forma:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-\lambda} \quad (3)$$

Por lo tanto la probabilidad de inactivación en este caso será:

$$\frac{N_0 - N}{N_0} = 1 - e^{-\lambda} \quad (4)$$

Se debe ser cuidadoso en no igualar un impacto con un proceso físico o químico concreto ya que esto raramente es así. Los detectores mono-impacto responden de forma binaria a la radiación; es decir el blanco no cambia si no hay impacto y cambia si hay impacto. Esto significa que los detectores mono-impacto no tienen memoria de su irradiación previa; cada evento de inactivación es independiente de los eventos previos. Como veremos luego, el número de sitios inactivados después del pasaje de un ion puede ser descrito por una sección eficaz.

Veamos ahora otra forma muy simplificada de entender los modelos mono-impacto a partir de algunos datos experimentales. Mediante mediciones se obtiene que, en ciertos casos, la supervivencia celular es una función exponencial de la dosis. Entenderemos por inactivación a nivel de una entidad viva el hecho de impedir la capacidad reproductora de la misma. Si  $N_0$  es el número inicial de células y  $N$  el número de células supervivientes después de una dosis  $D$ , un incremento de dosis  $dN$  produce un aumento  $dN$  del número de blancos alcanzados; tal que  $dN$  es proporcional a  $N$  y a  $dD$ . El coeficiente

de proporcionalidad es  $\frac{1}{D_0}$ , donde  $D_0$  es la dosis

que deja el 37 % de supervivencia (a veces llamado  $D_{37}$ ), expresa la probabilidad de alcanzar los blancos, es decir, la radiosensibilidad de las células. Por lo tanto la variación del número  $N$  de células supervivientes es:

$$dN = -\left(\frac{1}{D_0}\right)NdD \quad (5)$$

Integrando obtenemos:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-\frac{D}{D_0}} \quad (6)$$

Por lo tanto la probabilidad de inactivación será:

$$\frac{N_0 - N}{N_0} = 1 - e^{-\frac{D}{D_0}} \quad (7)$$

Volvamos nuevamente al caso de inactivación de blancos en detectores en general. La probabilidad que un elemento sensible del detector sea inactivado luego de una dosis  $D_r$  de una radiación distribuida uniformemente en el volumen del detector en el caso mono-impacto es por lo tanto:

$$\frac{N_0 - N}{N_0} = 1 - e^{-\lambda} = 1 - e^{-\frac{D_r}{E_0}} \quad (8)$$

$E_0$  es la radiosensibilidad característica del detector.

## Respuesta de Detectores a Iones Pesados

A continuación describiremos las probabilidades de inactivación y las secciones eficaces de inactivación de detectores mono-impacto al ser irradiados con iones pesados. Dentro de las posibles formas de obtención de estos parámetros, nosotros utilizaremos las teorías desarrolladas por Katz y colaboradores [1,2]. En lo que sigue consideraremos condiciones de irradiación de segmentos de trazas, es decir que el rango de los iones pesados considerados es mucho mayor que el espesor del detector.

El modelo supone que el efecto producido por los electrones secundarios de rayos  $\gamma$  y el de los rayos delta producido por los iones pesados es el mismo para una misma dosis.

En la primera parte de este capítulo obtuvimos perfiles de dosis en vapor de agua ( $D(r)$ ), que

se suelen llamar distribuciones de dosis de blancos puntuales. En los casos que estudiaremos a continuación realizaremos cálculos dentro del marco de la teoría de blancos extendidos; para lo cual debemos obtener las distribuciones de dosis de blancos extendidos ( $E(r)$ ). Estos perfiles de dosis de blanco extendido envuelven el promedio de la dosis local (dada por los perfiles de dosis de blancos puntuales), sobre el volumen del blanco sensible de radio  $\alpha_0$ , localizado a una distancia  $t$  de la traza del ion. Esta es la información principal que se obtiene a partir de la estructura de trazas calculadas.

De acuerdo a los principios de la teoría, la densidad de probabilidad de inactivación se calcula introduciendo formalmente la distribución de dosis promediada sobre los blancos ( $E(t)$ ) en la ecuación (8):

$$P(t) = 1 - e^{-\frac{E(t)}{E_0}} \quad (9)$$

Esta densidad está uniformemente distribuida sobre una capa cilíndrica de largo  $T$ , radio  $t$  y espesor  $dt$  concéntrico a la traza del ion. El volumen de esta capa es  $T2\pi t dt$  y la distribución de probabilidad de inactivación radial es  $T2\pi P(t) dt$ . El número de blancos sensibles inactivados luego del pasaje del ion,  $N_k$ , se puede calcular como el producto del número de sitios disponibles por unidad de área del detector  $N_0$ , el espesor del detector, y la sección eficaz de inactivación por impacto de una partícula,  $\sigma$ , es decir:

$$N_k = \sigma N_0 T \quad (10)$$

donde

$$\sigma = \int_0^{\infty} 2\pi P(t) dt = \quad (11)$$

La dependencia radial de la dosis promedio en un blanco sensible (un pequeño cilindro de radio  $\alpha_0$  y área  $\pi\alpha_0^2$ , cuyo centro este localizado a una distancia  $t$  del centro de la traza del ion se calcula como:

$$E(t) = \frac{1}{\pi\alpha_0^2} \int_{t-\alpha_0}^{t+\alpha_0} 2\pi D(r) dr = \quad (12)$$

donde  $D(r)$  es la distribución radial de dosis en blancos puntuales.

En esta teoría el tamaño del blanco  $\alpha_0$  es un parámetro que se debe suministrar y que caracteriza al detector.

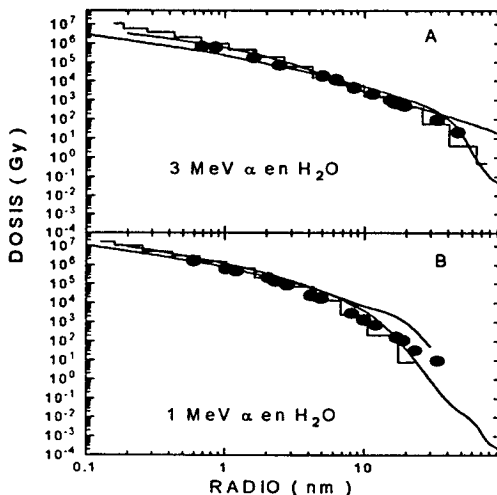


Fig. 1: Perfiles de dosis en vapor de agua alrededor de la traza de un ion en función del radio. Teoría: (—), DW; (---), Katz [5]; (escalón), Monte Carlo [4]. Experimentos: (●), de ref. [6].

## Resultados y Discusiones Para la Inactivación de Bacterias

La figura 1 muestra perfiles de dosis de blanco puntual en función de la distancia a la traza del ion, para el impacto de partículas  $\alpha$  en vapor de agua. Se puede apreciar que los resultados obtenidos por Olivera et al [3] están en buen acuerdo con los resultados experimentales [6], y con los cálculos con el método Monte Carlo [4] y los de Katz et al [2].

En las figuras 2 a 4 presentamos las secciones eficaces de inactivación de Bacterias Escherichia coli (E. coli) mutantes B, B/r y B<sub>S-1</sub> obtenidas a partir de nuestros cálculos y se comparan con los datos de Grigoriev et al [7] y Haynes [8]. En estos experimentos, se irradian colonias de bacterias con iones de diferentes LET, y se estudia la capacidad de estos para impedir su reproducción.

El valor de  $\alpha_0$  es el obtenido por Katz y Zachariah [10] en un cálculo para la mismas

bacterias y es de  $0.5 \mu\text{m}$ , lo cual es interesante ya que es muy próximo al tamaño de la bacteria. El acuerdo entre nuestros cálculos y los datos experimentales es razonablemente bueno. Cálculos para los mismos sistemas fueron realizados por Katz y Zachariah [10], los cuales son prácticamente coincidentes con los nuestros, motivo por el cual no se muestran en las figuras. Esta coincidencia entre nuestros resultados, los de Katz y Zachariah y los datos experimentales, parecería confirmar de que estas bacterias son detectores mono-impacto con un tamaño de blanco de  $0.5 \mu\text{m}$ . Es decir que la interacción de un solo electrón con uno blancos puede inactivar la bacteria. Además se puede inferir que los mecanismos de daño secundario no son importantes. Cabe aclarar que se cree que el cromosomá de estas bacterias es un gran círculo de una doble cadena de ADN.

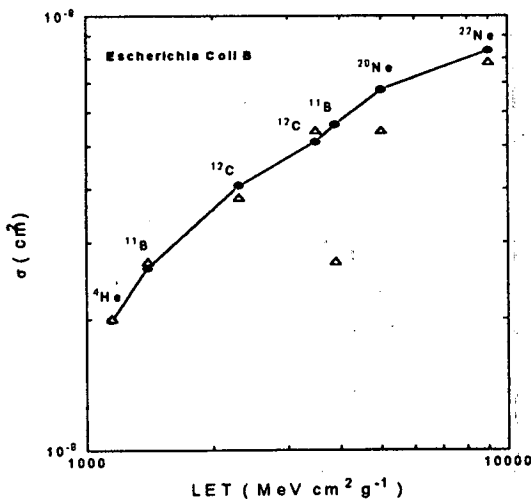


Fig. 2: Sección eficaz de inactivación de *Escherichia Coli B* en función del LET del proyectil. Teoría: (●), obtenidas a partir de perfiles de dosis DW. Experimentos: (Δ), Grigoriev et al [7]

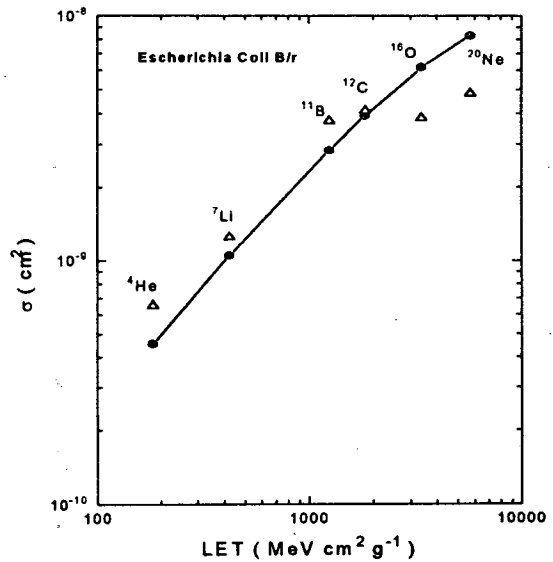


Fig. 3: Sección eficaz de inactivación de *Escherichia Coli B/r* en función del LET del proyectil. Teoría: (●), obtenidas a partir de perfiles de dosis DW. Experimentos: (Δ), Haynes [8]

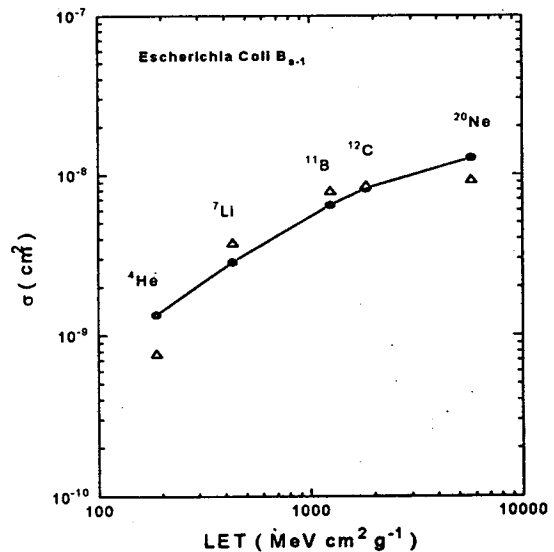


Fig. 4: Sección eficaz de inactivación de *Escherichia Coli B<sub>S-1</sub>* en función del LET del proyectil. Teoría: (●), obtenidas a partir de perfiles de dosis DW. Experimentos: (Δ), Haynes [8]

Los valores de  $E_0$  son 46 Gy para *E. coli B* [7], 36.5 Gy para *E. coli B/r* [9] y 12.6 Gy para *E. coli B<sub>S-1</sub>* [9].

## Referencias

- 1.- Butts y R. Katz; Radiation Research 30 (1967), 855.
- 2.- Walogorski, R.N. Hamm y R. Katz; Radiat. Phys. Chem. 30 (1987), 201.
- 3.- Olivera, P.D. Fainstein and R.D. Rivarola; Phys. in Med. and Biology (en prensa).
- 4.- P.Olko, J. Booz, H.G. Paretzke y W.E Wilson; Atomic and Molecular data for Radiotherapy, IAEA-TECDOC-506 (1989), 105.
- 5.- Waligorski; A model of heavy ion detection in physical and biological physics, Raport 1396/PL Krakow (1988).
- 6.- Wingate y J.W. Baum; Radiation Research 95 (1976), 231.
- 7.- Grigoriev, Y.E. Krasavin, N.I. Ryzhov, V.I. Popov, Y.I. Kudryashov, A.M. Marennyy y O.M. Meshcheryakova; Radiobiology (USSR) 5 (1971), 245.
- 8.- Haynes; Rad. Res. Suppl. 6 (1966), 1.
- 9.- T.Takahashi, F. Yatagai, S. Konno, T. Katayama y I. Kaneko; Adv. Space Res. 6 (1986), 117.
- 10.- R.Katz y R. Zachariah; Rad. Res. 134 (1993), 261.