

КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА ДНК И УСКОРЕННЫХ ПРОТОНОВ НА КЛЕТКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

*А. В. Борейко^{а,б}, М. Г. Заднепрянец^{а,б}, В. Н. Чаусов^{а,б,1},
Т. С. Храдко^{а,б}, Р. А. Кожина^{а,б}, Е. А. Кузьмина^{а,б}, С. И. Тиунчик^а,
Е. А. Красавин^{а,б}*

^а Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

^б Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

Изучено модифицирующее влияние 1-β-D-арабинофуранозилцитозина (АраЦ) и гидроксимочевины (ГМ) на частоту образования двунитевых разрывов (ДР) ДНК в клетках глиобластомы человека U87 и меланомы мышей B16 при действии протонов и ускоренных ионов азота (¹⁵N). Методами ДНК-комет и иммуноцитохимии определены зависимости частоты образования ДР ДНК и кинетика их репарации в опухолевых клетках при облучении частицами широкого диапазона линейных передач энергии (ЛПЭ) в обычных условиях и в присутствии модификаторов. Наибольшее модифицирующее влияние на выход ДР оказывает комбинация агентов АраЦ + ГМ. Величина фактора изменения дозы в условиях влияния радиомодификаторов составляет ~2. Репарация ДР при облучении клеток в обычных условиях происходит по экспоненциальной кинетике. В условиях влияния модификаторов после 6 ч пострadiационной инкубации наблюдается некоторое возрастание количества ДР ДНК с последующим их снижением к 24 ч наблюдения. Наибольшее модифицирующее влияние АраЦ на формирование радиационно-индуцированных фокусов (РИФ) в клетках глиобластомы наблюдается при облучении протонами по сравнению с ионами азота. Количество РИФ через 24 ч после облучения протонами в условиях влияния ингибитора АраЦ в 2,3 раза больше, чем в условиях облучения без ингибитора. При действии ионов азота с ЛПЭ = 81 и 180 кэВ/мкм количество РИФ в клетках глиобластомы в присутствии АраЦ через 24 ч после облучения увеличивается в 1,7 и 1,5 раза соответственно по сравнению с контрольными образцами. Обсуждаются возможные механизмы реакции опухолевых клеток на действие излучений с разной ЛПЭ в условиях влияния радиомодификаторов.

The modifying effect of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine (AraC) and hydroxyurea (HU) on the formation frequency of DNA double-strand breaks (DSB) in human U87 glioblastoma and murine B16 melanoma cells after accelerated proton and nitrogen ion (¹⁵N) exposure has been studied. The DNA comet assay and immunocytochemistry methods were used to determine the dependences of the frequency of DNA DSB formation and kinetics of their repair in tumor cells upon irradiation with particles of a wide linear energy transfer (LET) range under normal conditions and in the presence of modifiers. The combination of AraC and HU has the strongest modifying effect on the DSB yield. Under the influence of radiomodifiers, the dose change factor is ~2. Under normal conditions, DSB repair proceeds with exponential kinetics. In the presence of modifiers, a certain increase in the DNA DSB yield is observed after 6 h of post-irradiation incubation, followed by a decrease after 24 h of observation. The strongest modifying effect of AraC on the formation of

¹E-mail: chausov@jinr.ru

radiation-induced foci (RIF) in glioblastoma cells is observed for proton exposure compared with nitrogen ions. In the presence of AraC, 24 h after proton irradiation the RIF yield was 2.3 times higher than after exposure without it. For nitrogen ions with LET=81 and 180 keV/ μ m, the RIF yield in glioblastoma cells in the presence of AraC increases by 1.7 and 1.5 times 24 h after irradiation, respectively, compared with the control samples. Possible mechanisms of tumor cell response to exposure to radiations with different LET in the presence of radiomodifiers are discussed.

PACS: 87.53.—j; 87.14.Gg

В последние годы при лучевой терапии онкологических заболеваний все более широко применяются пучки ускоренных протонов. Важной причиной исключительного интереса специалистов к использованию этого вида излучения в радиационной онкологии являются различия в распределении поглощенных доз в облучаемой опухоли при действии протонов и фотонных излучений. Максимальная энергия при прохождении частиц через вещество ткани передается в конце их пробега в так называемом пике Брэгга, и дозовое распределение характеризуется высокой конформностью по отношению к облучаемой мишени: максимальным повреждением опухолевой области и меньшим повреждением прилегающих здоровых тканей. Возрастание линейной передачи энергии (ЛПЭ) в конце пробега протонов тем не менее не сопровождается существенным увеличением относительной биологической эффективности (ОБЭ) частиц, и по различным оценкам она варьирует, как правило, от 1,1 до 1,3. В связи с этим весьма актуальной задачей является разработка подходов к увеличению чувствительности опухолевых клеток к протонному излучению и, как следствие, повышению эффективности лечения онкологических больных.

Лучевая гибель клеток в значительной степени обусловлена формированием в их ДНК двунитевых разрывов (ДР). Среди широкого спектра различных лучевых повреждений ДНК такие молекулярные нарушения являются наиболее тяжелыми. Они образуются либо в результате прямого разрыва двух комплементарных участков — прямого ДР (ПДР) вследствие передачи энергии локальному участку ДНК и приводящему к нарушению ее целостности, либо формируются из других повреждений как «издержки репарации» в процессе работы репарационных ферментов. Этот тип повреждений относится к разряду энзиматических ДР (ЭДР). При действии излучений с возрастающими ЛПЭ наблюдаются изменения в спектре индуцируемых повреждений ДНК клеток. При низких значениях ЛПЭ с наибольшей частотой формируются повреждения оснований и однонитевые разрывы (ОР) ДНК. При облучении тяжелыми заряженными частицами с высокими значениями ЛПЭ образуется значительное количество ПДР ДНК, а количество ОР снижается, поскольку выход ДР ДНК энзиматической природы при облучении зависит от ряда факторов биологической природы, на частоту их формирования можно влиять путем модификации процессов репарации ДНК.

Ранее нами было изучено модифицирующее влияние 1- β -D-арабинофуранозилцитозина (АраЦ) на чувствительность нормальных клеток к действию излучений, различающихся по величине ЛПЭ в широком диапазоне [1, 2]. В ряде экспериментов в комбинации с АраЦ была использована гидроксимочевина — агент, влияющий на уровень эндогенного пула нуклеотидов. Было установлено, что при γ -облучении и действии протонов высоких энергий в условиях влияния АраЦ радиочувствительность клеток возрастает и увеличивается выход ДР ДНК. В то же время при действии ускорен-

ных тяжелых ионов модифицирующее действие агентов было значительно меньшим. В основе механизма, усиливающего действия этого агента на радиочувствительность клеток, лежат процессы, модифицирующие репарацию повреждений ДНК. АраЦ является эффективным ингибитором ДНК-полимеразы α , и в меньшей степени β , ведущих репаративный синтез ДНК [3, 4]. При длительной фиксации нерепарируемых прямых ОР ДНК, либо ОР, образующихся в ходе эксцизионной репарации модифицированных оснований, такого рода нарушения структуры ДНК могут являться сайтами при формировании ЭДР ДНК в результате атаки нити, оппозитной поврежденному участку, эндонуклеазами типа S_1 . Это обуславливает высокий суммарный выход ДР ДНК [5–7] при действии излучений с низкими ЛПЭ. Многочисленные результаты были получены в экспериментах на нормальных клетках человека — лимфоцитах периферической крови и фибробластах кожи [8–12]. Представляется важным исследовать закономерности частоты образования ДР ДНК при действии излучений широкого диапазона ЛПЭ в радиорезистентных клетках злокачественных опухолей. В качестве объекта в настоящем исследовании были выбраны культуры клеток глиобластомы человека U87 и меланомы мышей B16.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Исследования закономерностей формирования ДР ДНК в различных условиях при облучении проводили с использованием двух методов: метода ДНК-комет и иммуноцитохимического метода.

Клеточная культура. В экспериментах с использованием этих методов клетки U87 культивировали в среде IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's Medium) с добавлением 10%-й эмбриональной телячьей сыворотки и 1%-го раствора гентамицин-L-глутамин (все реактивы производства Sigma-Alrich, Германия) в пластиковых культуральных флаконах T25 при 37 °С и 5%-м содержании CO_2 в атмосфере. Перед облучением (16–18 ч) клеточную суспензию наносили на покровные стекла, размещенные в пластиковых чашках Петри диаметром 35 мм (производства MatTek Corp., P35G-0.170-14-C, США). За 1 ч до облучения в культуральную среду добавляли раствор ингибитора АраЦ конечной концентрацией в образце 20 мкМ и гидроксимочевину (ГМ) конечной концентрацией 2 мМ, после чего клетки инкубировали при 37 °С. Клеточные образцы облучали при комнатной температуре в условиях 80%-й конфлюентности монослоя клеток. Непосредственно после облучения образцы помещали в CO_2 -термостат с поддерживаемой температурой 37 °С.

Облучение. Облучение суспензии клеток протонами проводили на медицинском пучке ускорителя фазотрона Лаборатории ядерных проблем им. В. П. Дзержепова ОИЯИ в дозе 1,25 Гр. Начальная энергия протонов на входе в кабину составляла (170 ± 10) МэВ, ЛПЭ протонов с энергией — 170 МэВ — 0,49 кэВ/мкм. С помощью гребенчатого фильтра пик Брэгга модифицирован по 90%-му изоуровню мощности дозы и расширен до 2 см. Мощность дозы составляла $\sim 1,5$ Гр/мин. Спектр энергии замедленных протонов в пике Брэгга включал частицы с энергией от 0 до 47,5 МэВ. В спектре ЛПЭ вклад в поглощенную дозу протонов с низкой ЛПЭ (2–25 кэВ/мкм) составил $\sim 67\%$, для частиц с ЛПЭ, равной 25–50 кэВ/мкм, $\sim 23\%$ и с высокой ЛПЭ (50–100 кэВ/мкм) $\sim 10\%$. В эксперименте протонный пучок перед пересечени-

ем монослоя клеток проходил через стеклянное дно чашки Петри толщиной 170 мкм под углом 10° , при этом разброс энергии в пучке сузился до 0–44,7 МэВ, а с учетом воздуха — до 0–44 МэВ [13]. В однородном поле излучения размерами 8×8 см одновременно облучалось восемь чашек Петри.

Облучение клеточных образцов тяжелыми ионами азота проводили на установке «Геном-М» циклотрона У-400М в Лаборатории ядерных реакций им. Г. Н. Флерова ОИЯИ в дозах 0,57 Гр (ЛПЭ=81 кэВ/мкм, $E = 35$ МэВ/нуклон) и 1,25 Гр (ЛПЭ=180 кэВ/мкм, $E = 13$ МэВ/нуклон). Дозы подбирались таким образом, чтобы через ядро клетки проходило в среднем три частицы. Это обеспечивает оптимальные условия для анализа формирования радиационно-индуцированных фокусов в треках заряженных частиц. Мощность дозы для ускоренных ионов составляла ~ 2 Гр/мин. Измерение поглощенной дозы в образце осуществлялось с помощью тонкой проходной ионизационной камеры, и в пределах площади стекла с нанесенными клетками (14 мм^2) неоднородность поля облучения не превышала 5%.

Метод ДНК-комет. В экспериментах использовали культуры клеток глиобластомы человека U87 и меланомы мышей B16. Суспензию облученных клеток смешивали при 37°C с 1%-м раствором LMA (Low Melting temperature Agarose производства Sigma-Aldrich, Германия) — агарозы, имеющей низкую температуру затвердевания, в соотношении 1:5. На заранее подготовленные слайды наносили 60 мкл приготовленной смеси и, накрыв покровным стеклом (24×24 мм), помещали в холодильник на 5 мин, затем покровное стекло осторожно удаляли. Полученные слайды переносили в емкость с лизирующим раствором (2,5 М NaCl; 0,1 М ЭДТА- Na_2 pH 10; 0,02 М трис-HCl pH 10; 1% X-100; 10% ДМСО), установленную в холодильнике. Лизис проводили в течение 12–14 ч.

Для определения выхода ДР ДНК проводили электрофорез в нейтральных условиях при напряжении 0,5 В/см в течение 40 мин в низкосолевым ТАЕ-буфере pH 8,3 (НПП «ПанЭко», Россия).

Далее проводили нейтрализацию 0,4 М раствора трис-HCl pH 7,4 (НПП «ПанЭко», Россия), раскпывая его по 1,0 мл на каждый слайд. Данную процедуру повторяли трижды. После того, как слайды хорошо просыхали на воздухе (до появления сеточки кристаллов на их поверхности), их помещали в емкости с метанолом на 15 мин при комнатной температуре для окончательной дегидратации и фиксации ДНК.

Полученные слайды прокрашивали йодистым пропидием (6 мкг/мл). Для регистрации изображений комет использовали флуоресцентный микроскоп Axiolab A1 (Carl Zeiss, Германия) с объективом EC Plan-Neofluar 40x/0,75 M27 (Carl Zeiss, Германия) и цифровой CCD-камерой AxioCam ICc3 (Carl Zeiss, Германия). С каждого слайда регистрировали ~ 100 –200 комет.

Обработку изображения «кометы» проводили с помощью программы CASP [14].

Иммуноцитохимический метод. Для изучения частоты образования ДР ДНК в ядрах клеток глиобластомы человека при действии протонов и ускоренных ионов в обычных условиях и в присутствии модифицирующего агента АраЦ использовали непрямой иммунофлуоресцентный метод определения фокусов $\gamma\text{H2AX/53BP1}$. Процедура иммуноокрашивания подробно описана ранее [15]. Для визуализации ДР ДНК использовали первичные антитела к белку γH2AX (ab22551 «Abcam», 1:700) и к белку 53BP1 (ab21083, «Abcam», 1:600) и вторичные антитела — FITC (ab97239, «Abcam», 1:200) и Texas Red (ab6719, «Abcam», 1:400).

Съемку окрашенных препаратов проводили на микроскопе AxioImager.M2, оснащенном световой системой оптического секционирования ApoTome.2 и монохромной цифровой камерой AxioCam MRm г.3.1 (Carl Zeiss, Германия), при увеличении в 1000 раз. Во время съемки получали изображения минимально с 17 фокальных плоскостей с шагом 0,2–0,4 мкм между плоскостями с последующим слиянием в псевдотрехмерное результирующее изображение. Процедура сканирования по оси Z позволяет детектировать фокусы γ H2AX/53BP1 по всей толщине ядра клетки. Полученные трехмерные изображения анализировали в программе Acquarium [16], которая позволяет дифференцировать индивидуальные фокусы γ H2AX и 53BP1 в изображении среза ядра в плоскостях XY , XZ и YZ . Подсчет колокализованных фокусов γ H2AX/53BP1 осуществлялся вручную пятью операторами минимально в 60 клетках каждого образца. Данные были получены на основе трех независимых экспериментов.

Статистический анализ и обработка данных. Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения OriginPro 2018 (OriginLab Corp., США) и SigmaPlot 12.5 (Systat Software Inc.). Статистическую значимость межгрупповых различий для выборок устанавливали по критерию Манна–Уитни. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$. Для описательной статистики использовали средние значения показателей и стандартную ошибку.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены дозовые зависимости частоты образования ДР ДНК и кинетика их репарации в клетках глиобластомы при облучении протонами в обычных условиях и в присутствии модификаторов. Как можно видеть, наибольшее модифицирующее влияние на выход ДР оказывает комбинация агентов АраЦ + ГМ. Величина фактора изменения дозы (ФИД), определяемая как $ФИД = k_{\text{мод}}/k_{\text{норм}}$, где $k_{\text{мод}}$ и $k_{\text{норм}}$ — параметры наклона зависимостей «доза–эффект», при действии радиомодификаторов и в нормальных условиях инкубации, соответственно, в этом случае составляет $2,01 \pm 0,12$. Репарация ДР при облучении клеток в обычных условиях

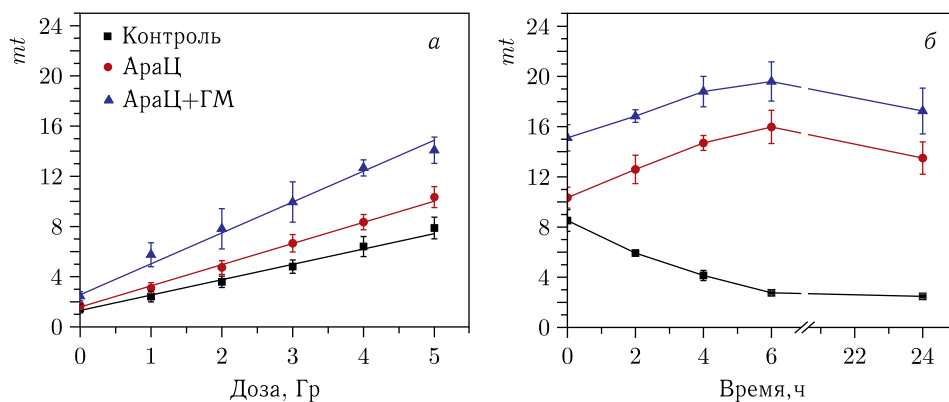


Рис. 1. Дозовые зависимости (а) и кинетика репарации (б) ДР ДНК в клетках глиобластомы человека U87 при облучении протонами в нормальных условиях и под влиянием модифицирующих агентов

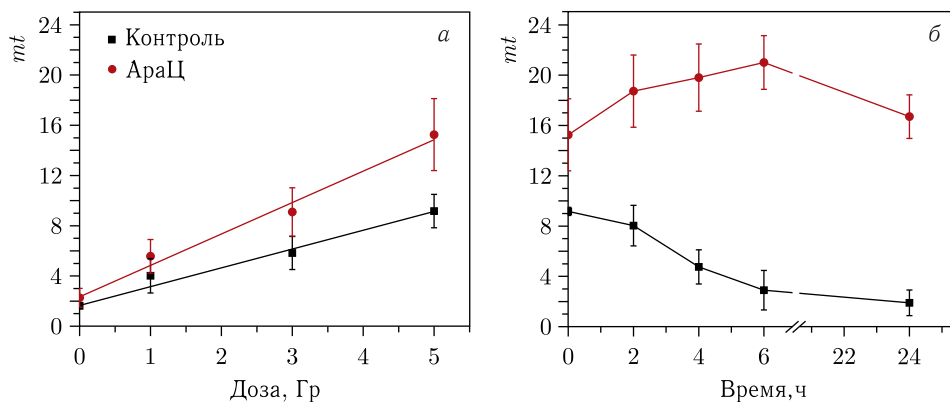


Рис. 2. Дозовые зависимости (а) и кинетика репарации (б) ДР ДНК в клетках мышиной меланомы при облучении протонами в нормальных условиях и под влиянием модифицирующих агентов

происходит по экспоненциальной кинетике в отличие от условий влияния модификаторов. В последнем случае после 6 ч пострadiационной инкубации наблюдается некоторое возрастание количества ДР ДНК с последующим небольшим снижением к 24 ч наблюдения.

На рис. 2 приведены дозовые зависимости частоты образования ДР ДНК и кинетика их репарации в клетках меланомы мышей В16 при облучении протонами. Выход ДР ДНК при облучении клеток в условиях влияния АраЦ близок к наблюдаемому выходу для клеток глиобластомы, и величина ФИД в этом случае составляет $1,7 \pm 0,2$. Характер кинетики репарации ДР ДНК в меланомы мышей аналогичен клеткам глиобластомы, и АраЦ оказывает существенное модифицирующее влияние на формирование ДР ДНК в клетках В16.

С использованием иммуноцитохимических методов получены изображения окрашенных ядер глиобластомы человека в разное время после облучения протонами и ускоренными ионами азота (^{15}N) в дозе 1,25 Гр без ингибитора и в присутствии АраЦ (рис. 3). Качественный анализ полученных изображений показал, что с течением времени после облучения протонами и ускоренными ионами азота в отсутствие АраЦ наблюдается снижение числа фокусов. В присутствии ингибитора АраЦ с течением времени после облучения протонами снижение количества фокусов не наблюдается, в то время как после воздействия ускоренных ионов ^{15}N происходит снижение фокусов в течение пострadiационного периода.

На рис. 4 представлены кинетика формирования и элиминации фокусов $\gamma\text{H2AX/53BP1}$ в ядрах клеток глиобластомы человека U87, облученных протонами и ускоренными ионами ^{15}N с разными значениями ЛПЭ (ЛПЭ = 81 и 180 кэВ/мкм). Следует отметить, что в условиях облучения без АраЦ для всех исследуемых видов излучений кинетика формирования и элиминации фокусов $\gamma\text{H2AX/53BP1}$ в клетках глиобластомы подобна кинетике, выявленной нами ранее для клеток фибробластов [15]. Максимальное количество радиационно-индуцированных фокусов (РИФ) достигается в течение первого часа после облучения, далее происходит снижение уровня фокусов, и через 24 ч после облучения в ядрах клеток глиобластомы сохраняется приблизительно 30–40 % от максимального уровня фокусов. При сопоставлении

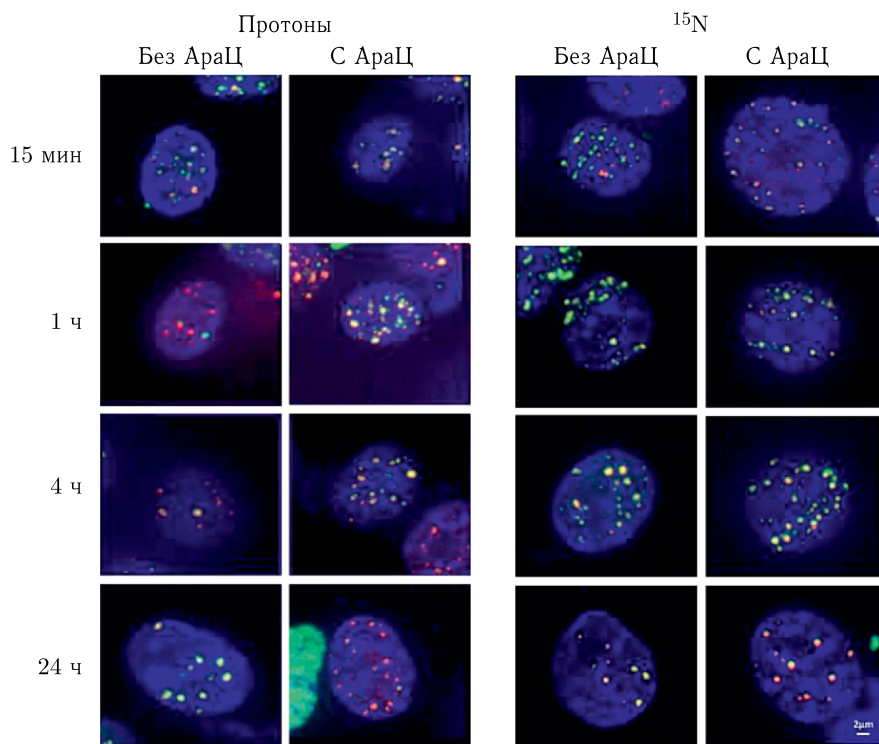


Рис. 3. Индивидуальные фокусы γ H2AX/53BP1 в окрашенных ядрах глиобластомы человека, облученных протонами и ускоренными ионами ^{15}N в дозе 1,25 Гр без ингибитора АраЦ и в его присутствии

данных для фибробластов и глиобластомы человека в условиях облучения ускоренными ионами азота в отсутствие АраЦ наблюдается примерно одинаковый уровень незэлиминированных фокусов ($\sim 30\text{--}38\%$ от максимального уровня). Однако через 24 ч после облучения различия в уровне долгоживущих фокусов при немодифицированном протонном облучении составляют 13% от максимального уровня РИФ для фибробластов и 40% для глиобластомы. Следует отметить в целом более высокий уровень РИФ в клетках глиобластомы по сравнению с количеством радиационно-индуцированных фокусов в клетках фибробластов человека. Также наблюдается более высокий уровень фокусов γ H2AX/53BP1 в необлученных клетках глиобластомы ($(4,8 \pm 0,8)$ фокусов/клетку) по сравнению с количеством фокусов в необлученных ядрах фибробластов ($(1,8 \pm 0,3)$ фокусов/клетку). Высокий уровень фокусов белков репарации в необлученных ядрах глиобластомы может указывать на конститутивную активность репарационных систем, что в целом отражает генетическую нестабильность опухолевых клеток. В связи с этим можно предположить, что высокий спонтанный уровень фокусов белков репарации отражает и значительную радиорезистентность разных типов опухолевых клеток [17]. Исследования механизмов радиорезистентности опухолевых клеток и в том числе клеток глиобластомы позволяют сделать вывод о том, что радиорезистентность опухолевых клеток обусловлена их

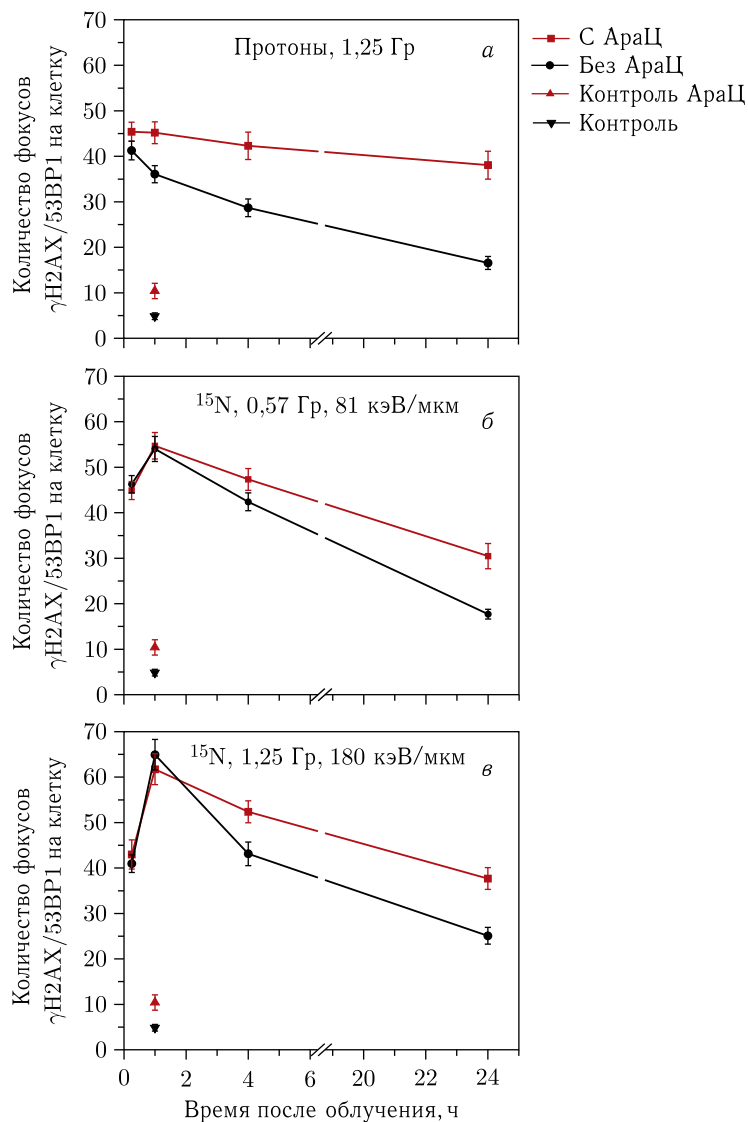


Рис. 4. Кинетика формирования и элиминации $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$ -фокусов в ядрах клеток глиобластомы человека, облученных протонами (а) и ускоренными ионами ^{15}N в дозе 0,57 Гр (б) и 1,25 Гр (в) без ингибитора (●) и в его присутствии (■)

адаптацией к выживанию с не полностью репарированной ДНК. Это может быть результатом выпадения важных функций в ходе репарационного процесса — медленной репарации при сохранении путей, идущих с участием белков Rad51 и ДНК-зависимой протеинкиназы на протяжении клеточного цикла [18]. Замедленная кинетика репарации повреждений в клетках U87 также может отражать это обстоятельство.

В клетках глиобластомы, как и в клетках фибробластов, наиболее яркий модифицирующий эффект воздействия АраЦ наблюдается после облучения протона-

ми (рис. 4, а). На графике видно, что количество РИФ через 24 ч после облучения протонами в условиях влияния ингибитора АраЦ в 2,3 раза больше, чем в условиях облучения без ингибитора. В присутствии АраЦ более высокий уровень фокусов γ H2AX/53BP1 наблюдается и после воздействия ускоренными ионами ^{15}N . Однако различия в количестве фокусов γ H2AX/53BP1 при действии ускоренных ионов ^{15}N (рис. 4, б, в) в условиях влияния ингибитора АраЦ и в обычных условиях не столь значительны, как при действии протонного излучения. Так, через 24 ч после облучения ускоренными ионами азота с ЛПЭ = 81 и 180 кэВ/мкм количество фокусов в клетках глиобластомы в присутствии ингибитора АраЦ увеличивается в 1,7 и 1,5 раза соответственно по сравнению с количеством фокусов в отсутствие ингибитора.

Полученные результаты свидетельствуют об увеличении количества фокусов γ H2AX/53BP1, что отражает увеличение количества ДР ДНК, в присутствии АраЦ в исследуемых типах клеточных культур при действии протонов и ускоренных ионов азота. Наиболее ярко радиосенсибилизирующий эффект действия АраЦ проявляется после облучения протонами. Наблюдаемый эффект влияния АраЦ на увеличение выхода ДР ДНК может быть связан с образованием энзиматических ДР ДНК из других радиационных повреждений [13]. Полученные данные указывают на снижение радиосенсибилизирующего эффекта АраЦ на выход ДР ДНК с увеличением ЛПЭ излучений. Это наиболее вероятно связано с изменением спектра генерируемых повреждений ДНК. Микродозиметрический анализ частоты образования ПДР и ОР ДНК в зависимости от ЛПЭ излучений свидетельствует о том, что с увеличением ЛПЭ излучений выход ПДР ДНК увеличивается, а ОР ДНК и поврежденных оснований, которые необходимы для формирования ЭДР ДНК в условиях влияния АраЦ, уменьшается [19–21].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при действии редкоионизирующих излучений использованные в экспериментах радиомодификаторы позволяют существенно увеличить выход наиболее тяжелых повреждений ДНК — ДР не только в нормальных клетках, но и в клетках злокачественных опухолей. Это позволяет надеяться, что и радиочувствительность опухолевых клеток к действию редкоионизирующих излучений и, в частности, протонов в этих условиях также будет возрастать.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борейко А. В., Чаусов В. Н., Красавин Е. А., Равначка И., Стукова С. И. Влияние ингибиторов синтеза ДНК на индукцию и репарацию двунитевых разрывов ДНК в лимфоцитах человека при действии излучений с разной ЛПЭ // Письма в ЭЧАЯ. 2011. Т. 8, № 4(167). С. 670–678.
2. Чаусов В. Н., Борейко А. В., Буланова Т. С., Заднепрянец М. Г., Ильина Е. В., Йежкова Л., Красавин Е. А., Кожина Р. А., Кузьмина Е. А., Куликова Е. А., Смирнова Е. В., Тиунчик С. И. Формирование прямых и энзиматических двунитевых разрывов ДНК в условиях влияния ингибиторов репарации при действии излучений разного качества // Письма в ЭЧАЯ. 2018. Т. 15, № 6(218). С. 573–588.
3. Miller M. R., Chinault D. N. Evidence That DNA Polymerases Alpha and Beta Participate Differentially in DNA Repair Synthesis Induced by Different Agents // J. Biol. Chem. 1982. V. 257, No. 1. P. 46–49.

4. *Prakasha Gowda A. S., Polizzi J. M., Eckert K. A., Spratt T. E.* Incorporation of Gemcitabine and Cytarabine into DNA by DNA Polymerase β and Ligase III/XRCC1 // *Biochem.* 2010. V. 49, No. 23. P. 4833–4840.
5. *Weinfeld M., Rasouli-Nia A., Chaudhry M. A., Britten R. A.* Response of Base Excision Repair Enzymes to Complex DNA Lesions // *Radiat. Res.* 2001. V. 156, No. 5. P. 584–589.
6. *Harrison L., Malyarchuk S.* Can DNA Repair Cause Enhanced Cell Killing Following Treatment with Ionizing Radiation? // *Pathophysiol. Off. J. Intern. Soc. Pathophysiol.* 2002. V. 8, No. 3. P. 149–159.
7. *Rydberg B.* Radiation-Induced Heat-Labile Sites That Convert into DNA Double-Strand Breaks // *Radiat. Res.* 2009. V. 153, No. 6. P. 805–812.
8. *Rübe C. E., Fricke A., Wendorf J., Stützel A., Kühne M., Ong M. F., Lipp P., Rübe C.* Accumulation of DNA Double-Strand Breaks in Normal Tissues after Fractionated Irradiation // *Intern. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2010. V. 76, No. 4. P. 1206–1213.
9. *Rübe C. E., Grudzenski S., Kühne M., Dong X., Rief N., Löbrich M., Rübe C.* DNA Double-Strand Break Repair of Blood Lymphocytes and Normal Tissues Analysed in a Preclinical Mouse Model: Implications for Radiosensitivity Testing // *Clin. Cancer Res.* 2008. V. 14, No. 20. P. 6546–6555.
10. *Jakl L., Marková E., Koláriková L., Belyaev I.* Biodosimetry of Low Dose Ionizing Radiation Using DNA Repair Foci in Human Lymphocytes // *Genes.* 2020. V. 11, No. 1. P. 58.
11. *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 // *Intern. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20, No. 21.
12. *Hanton F., Chaudhary P., Doria D., Gwynne D., Maiorino C., Scullion C., Ahmed H., Marshall T., Naughton K., Romagnani L., Kar S., Schettino G., McKenna P., Botchway S., Symes D. R., Rajeev P. P., Prise K. M., Borghesi M.* DNA DSB Repair Dynamics Following Irradiation with Laser-Driven Protons at Ultra-High Dose Rates // *Sci. Rep.* 2019. V. 9, No. 1. P. 1–10.
13. *Красавин Е. А., Борейко А. В., Заднепрянец М. Г., Ильина Е. В., Кожина Р. А., Кузьмина Е. А., Куликова Е. А., Смирнова Е. В., Тимошенко Г. Н., Тиунчик С. И., Чаусов В. Н.* Влияние ингибиторов синтеза ДНК на биологическую эффективность пучка протонов в модифицированном пике Брэгга // *Письма в ЭЧАЯ.* 2019. Т. 16, № 2(221). С. 181–190.
14. *Kořica K., Lankoff A., Banasik A., Lisowska H., Kuszewski T., Gózdź S., Koza Z., Wojcik A.* A Cross-Platform Public Domain PC Image-Analysis Program for the Comet Assay // *Mutat. Res.* 2003. V. 534, No. 1–2. P. 15–20.
15. *Заднепрянец М. Г., Борейко А. В., Буланова Т. С., Йежкова Л., Красавин Е. А., Куликова Е. А., Смирнова Е. В., Фальк М., Фалькова И.* Закономерности формирования и элиминации фокусов γ H2AX/53BP1 при действии γ -квантов и ускоренных тяжелых ионов // *Рад. биология. Радиоэкология.* 2018. Т. 58, № 2. С. 146–156.
16. *Matula P., Maška M., Daněk O., Matula P., Kozubek M.* Acquiarium: Free Software for the Acquisition and Analysis of 3D Images of Cells in Fluorescence Microscopy // *Proc. of 2009 IEEE Intern. Symp. Biomed. Imaging from Nano to Macro (ISBI'2009).* 2009. P. 1138–1141.
17. *Bobkova E., Depes D., Lee J. H., Jezkova L., Falkova I., Pagacova E., Kopečna O., Zadnepryanec M., Bacikova A., Kulikova E., Smirnova E., Bulanova T., Boreyko A., Krasavin E., Wenz F., Bestvater F., Hildenbrand G., Hausmann M., Falk M.* Recruitment of 53BP1 Proteins for DNA Repair and Persistence of Repair Clusters Differ for Cell Types as Detected by Single Molecule Localization Microscopy // *Intern. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19, No. 12. P. 3713.

18. *Short S. C., Martindale C., Bourne S., Brand G., Woodcock M., Johnston P.* DNA Repair after Irradiation in Glioma Cells and Normal Human Astrocytes // *Neuro Oncol.* 2007. V. 9, No. 4. P. 404–411.
19. *Michalik V.* Model of DNA Damage Induced by Radiations of Various Qualities // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1992. V. 62, No. 1. P. 9–20.
20. *Nikjoo H., O'Neill P., Wilson W. E., Goodhead D. T.* Computational Approach for Determining the Spectrum of DNA Damage Induced by Ionizing Radiation // *Radiat. Res.* 2001. V. 156, No. 5. P. 577–583.
21. *Urushibara A., Shikazono N., O'Neill P., Fujii K., Wada S., Yokoya A.* LET Dependence of the Yield of Single-, Double-Strand Breaks and Base Lesions in Fully Hydrated Plasmid DNA Films by 4He^{2+} Ion Irradiation // *Intern. J. Radiat. Biol.* 2008. V. 84, No. 1. P. 23–33.

Получено 28 ноября 2022 г.