

P19-2018-48

Е. А. Красавин, А. В. Борейко, М. Г. Заднепрянец,
Е. В. Ильина, Р. А. Кожина, Е. А. Кузьмина,
Е. А. Куликова, Е. В. Смирнова, Г. Н. Тимошенко,
С. И. Тиунчик, В. Н. Чаусов *

**ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА ДНК
НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ПУЧКА ПРОТОНОВ В МОДИФИЦИРОВАННОМ
ПИКЕ БРЭГГА**

Направлено в журнал «Письма в ЭЧАЯ»

* E-mail: chausov@jinr.ru

Влияние ингибиторов синтеза ДНК на биологическую эффективность пучка протонов в модифицированном пике Брэгга

Изучено влияние ингибиторов синтеза ДНК 1- β -D-арабинофуранозилцитозина (АраЦ) и гидроксимочевины (ГМ) — официальных препаратов, используемых в онкологической клинике, на формирование двунитевых разрывов (ДР) ДНК в клетках человека при облучении протонами в пике Брэгга. Показано, что в присутствии АраЦ и ГМ биологическая эффективность облучения протонами, оцениваемая по кинетике формирования γ H2AX/53BP1-фокусов, резко возрастает в пострадиационный период. Это связано с образованием энзиматических ДР из длительно нерепарируемых одонитевых разрывов ДНК. Применение предложенного способа, приводящего к повышению биологической эффективности пучков протонов, значительно сближает области использования протонных и углеродных ускорителей для терапевтических целей.

Работа выполнена в Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна, 2018

The Influence of DNA Synthesis Inhibitors on the Biological Efficiency of the Modified Bragg Peak Proton Beam

The effect of inhibitors of DNA synthesis of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine (AraC) and hydroxyurea (HU), the medicaments used in an oncological clinic, on the formation of double-strand breaks (DSB) of DNA in human cells when irradiated with protons in the Bragg peak was studied. It is shown that in the presence of AraC and HU, the biological efficiency of proton irradiation, estimated by the kinetics of γ H2AX/53BP1 foci formation, increases sharply in the post-radiation period. This is due to the formation of enzymatic DSB from long-time unreparable single-strand DNA breaks. Application of the proposed method, leading to an increase in the biological efficiency of proton beams, significantly brings together the areas of use of proton and carbon accelerators for therapeutic purposes.

The investigation has been performed at the Laboratory of Radiation Biology, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, 2018

Использование пучков протонов в клинике лучевой терапии рака по ряду причин является более предпочтительным по сравнению с фотонным облучением (гамма- и рентгеновским излучением, пучками ускоренных электронов). Главной причиной исключительного интереса специалистов к применению адронных пучков в онкологической практике являются различия в распределении поглощенных доз облучения в теле пациентов при использовании излучений электромагнитной и корпускулярной природы. Прежде всего это связано с особенностями распределения поглощенной дозы в зависимости от глубины проникновения заряженных частиц в облучаемую область. Максимальная энергия при прохождении частиц через вещество ткани передается в конце их пробега (в пике Брэгга), и дозовое распределение характеризуется высокой конформностью по отношению к облучаемой мишени. В этом случае при облучении глубокозалегающих опухолей достигается меньший уровень облучения прилегающих к опухоли нормальных тканей, а также критических органов. Поскольку ширина пика Брэгга моноэнергетических протонов невелика, применяются способы увеличения ширины пика путем модификации спектра пучка от моноэнергетического к непрерывному. Результирующее дозовое распределение вследствие этого представляет собой суперпозицию глубинных распределений дозы для протонов разных энергий. Величина линейной передачи энергии (ЛПЭ) на разных участках кривой Брэгга неодинакова. На входе частиц в вещество облучаемой области их ЛПЭ имеет малые значения и резко возрастает к концу пробега частиц в области пика Брэгга. Реализуемые различия в распределении поглощенных доз облучения при прохождении пучка протонов являются одной из важных причин применения протонов в лучевой терапии. Еще большие различия в уровне поглощенных доз на разных участках кривой Брэгга присущи ускоренным ионам углерода. Различия для частиц с энергией 250–300 МэВ/нуклон в этом случае достигают значений, равных 4 и более. С учетом этого в ряде стран (Японии, Германии, КНР) созданы специализированные центры для углеродной терапии на базе ускорительных установок различных типов. Использование ионов углерода в терапии рака является многообещающим, особенно в терапии радиационно устойчивых типов опухолей. Следует отметить, что стоимость таких ускорителей крайне высока по сравнению с протонными машинами, вследствие чего центры углеродной терапии до последнего времени единичны и стоимость курсов лечения пациентов также исключительно высокая.

Высокая биологическая эффективность ускоренных ионов углерода по сравнению с протонами обусловлена большими значениями ЛПЭ тяжелых ионов. При прохождении тяжелых заряженных частиц через чувствительные мишени клеток формируются грубые нарушения генетических структур, приводящие к клеточной гибели, поломкам хромосом, инициации злокачественной трансформации [1]. Среди широкого спектра различных повреждений ДНК при действии ионизирующей радиации наиболее тяжелыми нарушениями, приводящими к клеточной гибели, являются одновременные нарушения целостности двух нитей ДНК — двунитевые разрывы (ДР) [1, 2]. Двунитевые разрывы либо образуются в результате прямого разрыва двух комплементарных участков — прямые ДР (ПДР) — вследствие передачи энергии локальному участку ДНК, что приводит 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) [3, 4]. При действии излучений с возрастающими значениями ЛПЭ наблюдаются изменения в спектре индуцируемых повреждений ДНК клеток. При низких значениях ЛПЭ с наибольшей частотой формируются повреждения оснований и одностранные разрывы (ОР) ДНК. При облучении тяжелыми заряженными частицами с высокими значениями ЛПЭ образуются преимущественно двунитевые разрывы, главным образом, типа ПДР, а количество одностранных разрывов снижается [5].

Ранее нами было показано, что в клетках, облученных γ -квантами и частицами с высокой ЛПЭ, в условиях влияния ингибиторов синтеза ДНК 1- β -D-арабинофуранозилцитозина (АраЦ) и гидроксимочевины (ГМ) в разной степени модифицируется выход ДР ДНК в пострadiaционный период [6]. При γ -облучении в условиях влияния модифицирующих агентов выход ДР ДНК значительно возрастал в ходе пострadiaционной инкубации лимфоцитов и клеток человека в культуре. В то же время при действии ускоренных тяжелых ионов модифицирующее действие агентов было меньшим. Их влияние на формирование ДР ДНК обусловлено тем, что АраЦ представляет собой эффективный ингибитор ДНК-полимеразы α и в меньшей степени β , ведущих репаративный синтез ДНК [7, 8]. Гидроксимочевина, являясь ингибитором рибонуклеотидредуктазы, влияет на внутриклеточный пул нуклеотидов, в частности цитозина, и снижает его [9]. В результате этого происходит длительная фиксация возникающих прямых ОР ДНК, формирующихся в ходе эксцизионной репарации. Такие повреждения могут являться сайтами формирования ЭДР ДНК в результате атаки нити, оппозитной поврежденному участку, эндонуклеазами типа S₁ [10–12].

С учетом того, что АраЦ (цитарабин) и ГМ являются официальными препаратами и используются в клинике при лечении острых и хронических лейкозов, а в составе комбинированного или комплексного лечения ГМ применяется при лечении опухолей головы и шеи, при меланоме кожи, раке

толстой и прямой кишки, раке шейки матки, раке почки и предстательной железы [13, 14], представляется крайне важным изучить влияние этих препаратов на формирование молекулярных нарушений в клетках человека при действии протонов в пике Брэгга. Клиническое применение данных препаратов в настоящее время основано на ингибировании прохождения клеток по циклу в S-фазе. Принимая во внимание ранее полученные нами материалы о модифицирующем влиянии этих агентов на выход двунитевых разрывов ДНК при действии ионизирующих излучений разного качества [6], а также возможные перспективы практического применения ингибиторов синтеза ДНК данного типа и ионизирующих излучений в клинике, мы и предприняли настоящее исследование с протонами медицинского пучка ОИЯИ [15]. Наряду с этим представляется важным провести сравнительное изучение действия этих препаратов при облучении протонами и тяжелыми ионами, обладающих высокими значениями ЛПЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения частоты образования ДР ДНК в клетках при действии протонов в обычных условиях и в присутствии модифицирующих агентов, а также ускоренных ионов бора использован иммуноцитохимический метод определения γ H2AX/53BP1-фокусов [16].

Клеточная культура. Нормальные фибробласты кожи человека (NHDF 22873, Lonza, CC2509) культивировали в среде IMDM (Sigma-Aldrich, Германия) с добавлением 10%-й эмбриональной телячьей сыворотки (Sigma-Aldrich, Германия) и 1%-го раствора гентамицин-глутамин (Sigma-Aldrich, Германия) в пластиковых флаконах с площадью поверхности роста 25 см² (Corning, США) при 37 °С и 5%-м содержании CO₂ в атмосфере. Для всех экспериментов использовали клетки на 9–12-м пассаже. За 16–18 ч до облучения наносили 300 мкл клеточной суспензии на покровные стекла диаметром 14 мм и толщиной 0,17 мм, размещенные в пластиковых чашках Петри диаметром 35 мм (MatTek Corporation, P35G0.170-14-C, США). После двухчасовой инкубации к прикрепившимся клеткам добавляли 3,5 мл среды для культивирования. За 1 ч до облучения в культуральную среду фибробластов добавляли АраЦ (Sigma-Aldrich, Германия) и ГМ (Sigma-Aldrich, Германия) в конечной концентрации 20 мкМ и 2 мМ соответственно, после чего клетки инкубировали в термостате при 37 °С в течение 1 ч.

Облучение. Облучение проводили на медицинском пучке ускорителя «Фазотрон» в Лаборатории ядерных проблем им. В. П. Дзелепова ОИЯИ. Начальная энергия протонов на входе в кабину составляла (170 ± 10) МэВ, ЛПЭ протонов с энергией 170 МэВ — 0,49 кэВ/мкм. С помощью специального устройства (гребенчатого фильтра) пик Брэгга протонов модифицирован по 90%-му изоуровню мощности дозы и расширен до 2 см (рис. 1). Мощность дозы состав-

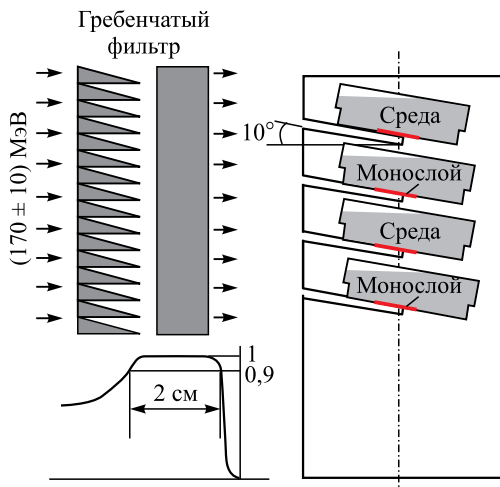


Рис. 1. Схема облучения образцов клеток на пучке протонов с использованием гребенчатого фильтра

вляла около 1,5 Гр/мин. Спектр энергии замедленных протонов в пике Брэгга включал частицы с энергией от 0 до 47,5 МэВ (пробег в воде — 2 см). В спектре ЛПЭ вклад в поглощенную дозу протонов с низкой ЛПЭ (2–25 кэВ/мкм) составляет $\sim 67\%$, для частиц с ЛПЭ, равной 25–50 кэВ/мкм, $\sim 23\%$ и с высокой ЛПЭ (50–100 кэВ/мкм) $\sim 10\%$. В наших экспериментах протонный пучок перед пересечением монослоя клеток проходил через стеклянное дно чашки Петри (MatTekCorporation, P35G0.170-14-C, США) толщиной 170 мкм под углом 10° , т. е. через 980 мкм стекла с $\rho = 2,58 \text{ г/см}^3$. Разброс энергии частиц в пучке при этом сужается до 0–44,7 МэВ, а с учетом воздуха — до 0–44 МэВ. В однородном поле излучения размерами $8 \times 8 \text{ см}$ одновременно облучалось по восемь чашек. Облучение тяжелыми ионами проводилось на установке «Геном-М» на ускорителе У-400М в Лаборатории ядерных реакций им. Г. Н. Флерова ОИЯИ. Фибробласты облучали ускоренными ионами бора (^{11}B) с энергией 8 МэВ/нуклон (ЛПЭ — 139 кэВ/мкм) при мощности дозы $\sim 2 \text{ Гр/мин}$. Чашки Петри (MatTekCorporation, P35G0.170-14-C, США) диаметром 35 мм фиксировали на сменном поворотном барабане таким образом, чтобы ускоренные частицы пересекали предметное стекло и монослой клеток без потерь энергии. Образцы облучали перпендикулярно к плоскости прохождения пучка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для количественной оценки частоты образования ДР ДНК в отдельных ядрах клеток и их визуализации при действии разных типов излучений в обыч-

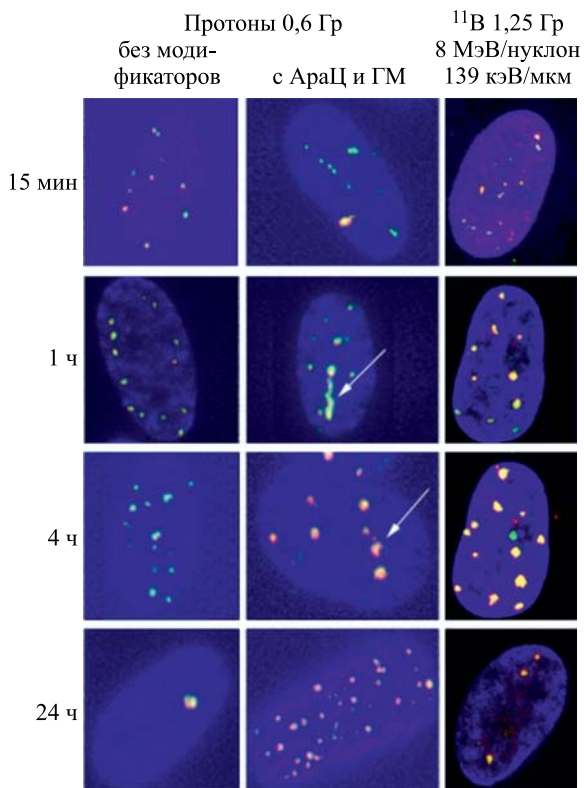


Рис. 2. Индивидуальные $\gamma\text{H2AX/53BP1}$ -фокусы в разное время после облучения протонами и ускоренными ионами бора дозами 0,6 Гр и 1,25 Гр соответственно, без модификаторов и в присутствии АраЦ и ГМ. Стрелками показаны комплексные повреждения, формируемые в виде «треков» по ходу заряженной частицы

ных условиях и в присутствии модифицирующих агентов, как уже указывалось, использован иммуноцитохимический метод определения $\gamma\text{H2AX/53BP1}$ -фокусов. Этот метод является эффективным и показательным при исследовании и количественной оценке формирования и репарации ДР ДНК, индуцированных излучениями с разными физическими характеристиками. Он позволяет не только изучать количественные стороны формирования и элиминации радиационно-индуцированных фокусов (РИФ), но и проводить анализ структуры комплексных повреждений ДНК. На рис. 2 представлены изображения индивидуальных $\gamma\text{H2AX/53BP1}$ -фокусов в разное время после облучения протонами и ускоренными ионами бора дозами 0,6 Гр и 1,25 Гр соответственно, без модификаторов и в присутствии АраЦ и ГМ. Как можно видеть, при облучении клеток протонами в отсутствие модификаторов наблюдается воз-

растание количества РИФ с последующим их снижением в пострадиационный период. Кинетика процесса при действии 0,6 Гр и 1,25 Гр протонов представлена на рис. 3 и 4 соответственно. При этих дозах наибольшее количество фокусов формируется через 1 ч после лучевого воздействия. Через 24 ч их количество минимально.

При облучении образцов дозой 1,25 Гр частота образования РИФ заметно превышает их количество, наблюдаемое при дозе 0,6 Гр, но кинетика элиминации РИФ сходна при обеих использованных дозах облучения.

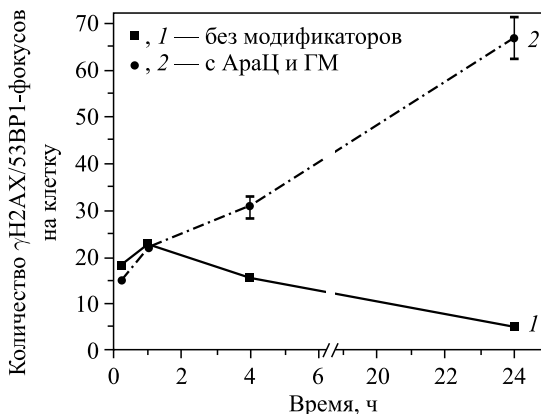


Рис. 3. Кинетика формирования и элиминации γ H2AX/53BP1-фокусов в ядрах клеток человека при действии протонов в пике Брэгга. Облучение дозой 0,6 Гр в обычных условиях (■, 1) и в присутствии АраЦ и ГМ (●, 2)

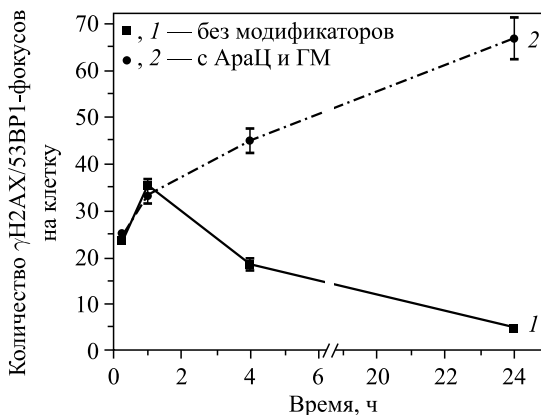


Рис. 4. Кинетика формирования и элиминации γ H2AX/53BP1-фокусов в ядрах клеток человека при действии протонов в пике Брэгга. Облучение дозой 1,25 Гр в обычных условиях (■, 1) и в присутствии АраЦ и ГМ (●, 2)

Совершенно иной тип кинетики формирования γ H2AX/53BP1-фокусов наблюдается при облучении клеток протонами в присутствии модификаторов. Влияние АраЦ и ГМ такое, что в течение пострadiационной инкубации клеток происходит не уменьшение количества РИФ, а их резкое возрастание, которое сохраняется до 24 ч наблюдения. Это отчетливо видно на рис. 2 и отражено на кинетических зависимостях (см. рис. 3, 4). Увеличение количества γ H2AX/53BP1-фокусов в присутствии АраЦ и ГМ объясняется увеличением количества двунитевых разрывов ДНК, и это связано с образованием энзиматических ДР из других радиационных повреждений ДНК. Как уже нами отмечалось, при действии на клетки ионизирующих излучений в присутствии АраЦ и ГМ происходит накопление одонитевых разрывов в нитях ДНК. Вследствие блокирования репаративного синтеза ОР ДНК этими агентами из длительно нерепарированных одонитевых разрывов формируются энзиматические ДР ДНК. Блокирование репарации концевых групп одонитевых разрывов арабинозидцитозином может также происходить из пула ОР, образующихся в процессе инцизии модифицированных нуклеотидов в ходе эксцизионной репарации.

Удаление таких повреждений в процессе эксцизионной репарации у клеток млекопитающих происходит в течение нескольких часов после облучения [17]. В этом случае прямые и энзиматические ОР могут быть сайтами для формирования энзиматических ДР в результате атаки эндонуклеазами оппозитных нитей ДНК с длительно нерепарируемыми ОР [18, 19].

В пострadiационный период при облучении в условиях влияния АраЦ и ГМ в клетках происходят два разнонаправленных процесса: формирование дополнительно возникающих энзиматических ДР ДНК из длительно нерепарируемых ОР различного происхождения и репарация ДР ДНК (прямых и энзиматических ДР). Ранее мы показали [20], что при действии тяжелых заряженных частиц (ЛПЭ ~ 160 кэВ/мкм), когда выход ОР ДНК резко падает, кинетика репарации в условиях влияния радиомодификаторов близка к такой, как и при облучении в обычных условиях. То есть в присутствии модификаторов при облучении клеток ионизирующими излучениями блокирование репарационных процессов не происходит и репарация ДР ДНК в обычных условиях и в условиях влияния АраЦ и ГМ успешно осуществляется по экспоненциальной кинетике с минимальными различиями. Наблюдаемые нами высокие значения РИФ через 24 ч после облучения при действии АраЦ и ГМ обусловлены, главным образом, образованием ДР ДНК энзиматического происхождения. Следует обратить внимание на морфологию РИФ при облучении клеток протонами в условиях влияния модификаторов (см. рис. 2). В этом случае при облучении фибробластов протонами под углом 10° , так же как и при облучении ускоренными ионами с высокой ЛПЭ, в ядрах клеток формируются скопления фокусов по ходу частиц в виде «треков», которые мы описали ранее [21]. Показано, что такие комплексные поврежде-

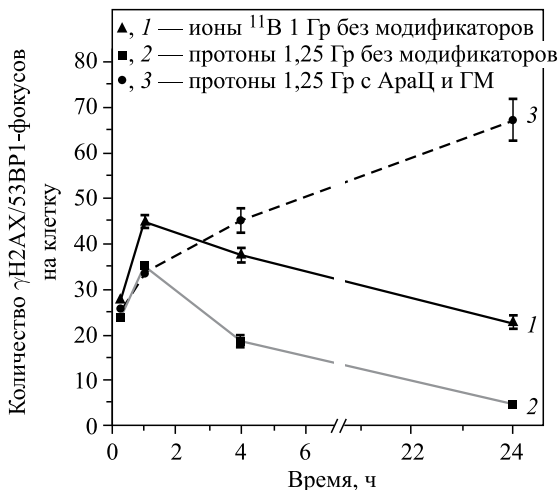


Рис. 5. Кинетика формирования и элиминации $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$ -фокусов в ядрах клеток человека при действии ускоренных ионов бора (\blacktriangle , 1) и протонов в пике Брэгга при облучении в обычных условиях (\blacksquare , 2) и в присутствии АраЦ и ГМ (\bullet , 3)

ния включают несколько ДР ДНК в одном РИФ и трудно поддаются репарации.

С учетом полученных результатов, свидетельствующих о высокой биологической эффективности пучка протонов в пике Брэгга в условиях влияния ингибиторов репаративного синтеза ДНК, представляется важным на основе использованных критериев облучения сравнить биологическую эффективность протонов и ускоренных ионов бора, обладающих близкими физическими характеристиками с ионами углерода. На рис. 2 и 5 можно видеть, что, как и при действии протонов, наибольшее количество $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$ -фокусов при облучении тяжелыми ионами формируется через 1 ч после лучевого воздействия. Количество РИФ при облучении ионами бора примерно в 2 раза больше, чем при облучении протонами в обычных условиях в течение всего пострadiационного периода.

Кинетика репарации РИФ сходна с кинетикой, наблюдаемой для протонов в обычных условиях. Однако при облучении клеток в присутствии АраЦ и ГМ количество РИФ через 4 ч и особенно через 24 ч после облучения резко увеличивается по сравнению с действием ионов бора. Эти различия в количестве фокусов обусловлены, с одной стороны, формированием энзиматических ДР ДНК в условиях влияния модификаторов, а с другой — репарацией ДР в пострadiационный период при действии на клетки тяжелых ионов.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что повреждающее действие генетических структур клеток протонами в расши-

ренном пике Брэга резко возрастает в присутствии арабинозидцитозина и гидроксимочевина — агентов, блокирующих репаративный и репликативный синтез ДНК. Возникающие в результате облучения одностранные разрывы ДНК длительное время остаются нерепарируемыми и трансформируются в энзиматические двунитевые разрывы в процессе обработки эндонуклеазами оппозитных ОР сайтов. В пострadiационный период количество таких двунитевых разрывов возрастает. Увеличение числа ДР ДНК в присутствии АраЦ и ГМ, как мы показали ранее [5], при γ -облучении сопровождается более чем двукратным возрастанием радиочувствительности клеток китайского хомяка в культуре, оцениваемой по их выживаемости. Это обстоятельство дает основание полагать, что комбинированное применение использованных официальных препаратов и пучков протонов может быть перспективным для использования в клинике лучевой терапии.

В заключение необходимо отметить, что применение предложенного подхода, приводящего к повышению биологической эффективности пучков протонов, значительно сближает области использования протонных и углеродных ускорителей для терапевтических целей.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Sachs R. K., Chen A. M., Brenner D. J.* Review: Proximity Effects in the Production of Chromosome Aberrations by Ionizing Radiation // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1997. V. 71, No. 1. P. 1–19.
2. *Jackson S. P., Bartek J.* The DNA-Damage Response in Human Biology and Disease // *Nature*. 2009. V. 461, No. 7267. P. 1071–1078.
3. *Kowalczykowski S. C.* Initiation of Genetic Recombination and Recombination-Dependent Replication // *Trends Biochem. Sci.* 2000. V. 25, No. 4. P. 156–165.
4. *Yokoya A., Cunniffe S. M. T., Watanabe R., Kobayashi K., O'Neill P.* Induction of DNA Strand Breaks, Base Lesions and Clustered Damage Sites in Hydrated Plasmid DNA Films by Ultrasoft X Rays around the Phosphorus K Edge // *Rad. Res.* 2009. V. 172, No. 3. P. 296–305.
5. *Красавин Е. А.* Проблема ОБЭ и репарация ДНК. М.: Энергоатомиздат, 1989. 192 с.
6. *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. 4, № 167. С. 670–678.
7. *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.
8. *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 // *Biochemistry*. 2010. V. 49, No. 23. P. 4833–4840.

9. Koç A., Wheeler L. J., Mathews C. K., Merrill G. F. Hydroxyurea Arrests DNA Replication by a Mechanism That Preserves Basal dNTP Pools // *J. Biol. Chem. Am. Soc. for Biochemistry and Molecular Biology*. 2004. V. 279, No. 1. P. 223–230.
10. Weinfeld M., Rasouli-Nia A., Chaudhry M.A., Britten R.A. Response of Base Excision Repair Enzymes to Complex DNA Lesions // *Rad. Res.* 2001. V. 156, No. 5, Part 2. P. 584–589.
11. 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.
12. Rydberg B. Radiation-Induced Heat-Labile Sites That Convert into DNA Double-Strand Breaks // *Rad. Res.* 2009. V. 153, No. 6. P. 805–812.
13. Клиническая гематология: Руководство для врачей / Под ред. А. Н. Богданова, В. И. Мазурова. СПб.: Фолиант, 2008. 483 с.
14. Momparler R. L. Optimization of Cytarabine (ARA-C) Therapy for Acute Myeloid Leukemia // *Exp. Hematol. Oncol.* 2013. V. 2, No. 1. P. 20.
15. Джелепов В. П. и др. Формирование пучка протонов с энергией 100–200 МэВ. Препринт ОИЯИ 16-3491. Дубна, 1967.
16. 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 γ H2AX/53BP1-фокусов при действии γ -квантов и ускоренных тяжелых ионов // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2018. Т. 58, № 2. С. 146–156.
17. Calsou P., Salles B. Properties of Damage-Dependent DNA Incision by Nucleotide Excision Repair in Human Cell-Free Extracts // *Nucleic Acids Res. Oxford Univ. Press*, 1994. V. 22, No. 23. P. 4937–4942.
18. Bresler S. E., Noskin L. A., Suslov A. V. Induction by Gamma Irradiation of Double-Strand Breaks of *Escherichia coli* Chromosomes and Their Role in Cell Lethality // *Biophys. J.* 1984. V. 45, No. 4. P. 749–754.
19. Puerto S., Surrallés J., Ramírez M. J., Carbonell E., Creus A., Marcos R. Analysis of Bleomycin- and Cytosine Arabinoside-Induced Chromosome Aberrations Involving Chromosomes 1 and 4 by Painting FISH // *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 1999. V. 439, No. 1. P. 3–11.
20. Chausov V. N., Boreyko A. V., Bulanova T. S., Zadneprianetc M. G., Ilyina E. V., Ježková L., Krasavin E. A., Kozhina R. A., Kuzmina E. A., Kulikova E. A., Smirnova E. V., Tiouchik S. I. Formation of Direct and Enzymatic DNA Double-Strand Breaks in the Presence of Repair Inhibitors after Exposure to Radiations of Different Quality // *Phys. Part. Nucl. Lett.* 2018. V. 15, No. 6. P. 700–710.
21. Jezkova L., Zadneprianetc M., Kulikova E., Smirnova E., Bulanova T., Depes D., Falkova I., Boreyko A., Krasavin E., Davidkova M., Kozubek S., Valentova O., Falk M. Particles with Similar LET Values Generate DNA Breaks of Different Complexity and Reparability: A High-Resolution Microscopy Analysis of γ H2AX/53BP1 Foci // *Nanoscale*. 2018. V. 10, No. 3. P. 1162–1179.

Получено 30 августа 2018 г.

Редактор *Е. В. Григорьева*

Подписано в печать 19.09.2018.

Формат 60 × 90/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 0,75. Уч.-изд. л. 0,93. Тираж 185 экз. Заказ № 59299.

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований

141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.

E-mail: publish@jinr.ru

www.jinr.ru/publish/