

## **ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА ДНК НА ИНДУКЦИЮ И РЕПАРАЦИЮ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИЗЛУЧЕНИЙ С РАЗНОЙ ЛПЭ**

*А. В. Борейко, В. Н. Чаусов, Е. А. Красавин, И. Равначка, С. И. Стукова*

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

Изучено влияние ингибиторов репаративного и репликативного синтеза ДНК 1- $\beta$ -D-арабинофуранозилцитозина и гидроксимочевина на формирование и кинетику репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК в лимфоцитах периферической крови человека при действии излучений с разной линейной передачей энергии (ЛПЭ):  $\gamma$ -квантов и ускоренных тяжелых ионов. Показано, что ионы лития и бора с ЛПЭ, равной 20 и 40 кэВ/мкм соответственно, обладают большей биологической эффективностью по критерию индукции ДР ДНК. Величина относительной биологической эффективности ускоренных ионов лития и бора составляет  $1,5 \pm 0,1$  и  $1,6 \pm 0,1$ . Установлено, что при облучении клеток  $\gamma$ -квантами в отсутствие ингибиторов с течением времени инкубации наблюдается эффективная репарация ДР ДНК. В условиях инкубирования клеток в среде с ингибиторами наблюдается не уменьшение количества ДР ДНК, а, наоборот, его некоторое возрастание после 5-часовой инкубации. При действии ускоренных ионов бора в нормальных условиях, так же как и при  $\gamma$ -облучении, происходит эффективная репарация индуцируемых повреждений ДНК. В отличие от действия  $\gamma$ -квантов, при инкубации клеток в условиях влияния радиомодификаторов наблюдается уменьшение количества индуцированных ДР ДНК. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что при действии ионизирующих излучений с разной ЛПЭ на клетки млекопитающих в условиях действия ингибиторов синтеза ДНК Ара-Ц и ГМ происходит репарация двунитевых разрывов ДНК. Сделан вывод о том, что при  $\gamma$ -облучении клеток репарация ДР ДНК не выявляется вследствие значительного вклада инцизионных одностранных разрывов ДНК, образующихся в пострадиационный период в процессе эксцизионной репарации нуклеотидов.

The influence of 1- $\beta$ -D-arabinofuranosylcytosine and hydroxyurea (Ara-C and HU, respectively) — inhibitors of repair and replicative DNA synthesis — on the formation and repair kinetics of DNA double-strand breaks (DSB) in peripheral human blood lymphocytes under radiations of different linear energy transfer (LET): gamma quanta and accelerated heavy ions. It is shown that lithium and boron ions with a LET of 20 and 40 keV/ $\mu$ m, respectively, have greater biological effectiveness against the DNA DSB induction criterion. The relative biological effectiveness of accelerated boron and lithium ions is  $1.5 \pm 0.1$  and  $1.6 \pm 0.1$ , respectively. Under gamma-irradiation in the absence of inhibitors, efficient DNA DSB repair is observed during incubation. After five-hour cell incubation in the presence of inhibitors, some increase rather than decrease in the DNA DSB yield is observed. Under accelerated boron ions in normal conditions, as well as under gamma-irradiation, efficient repair of induced DNA lesions takes place. During cell incubation after gamma-irradiation, the effect of radiomodifiers results in a decrease in the amount of induced DNA DSB. The obtained results may indicate that under the effect of ionizing radiations of different LET on mammalian cells in the presence of DNA synthesis inhibitors Ara-C and HU, DNA DSB repair takes place. It is concluded that under gamma-irradiation of cells, no DNA DSB repair is observed due to a large contribution of DNA single-strand incision breaks, which are formed in the post-irradiation period during the excision repair of nucleotides.

PACS: 87.53.-j; 87.14.gk

Известно, что ряд ингибиторов синтеза ДНК (арабинозидцитозин, оксимочевина, фтордезоксидурин и некоторые другие) подавляют у клеток млекопитающих не только репликативный, но и репаративный синтез ДНК [1, 2]. В условиях влияния этих агентов в пострadiационный период наблюдается значительное повышение чувствительности клеток к  $\gamma$ -облучению [3]. Молекулярный механизм их сенсбилизирующего влияния связан с препятствием застройки одонитевых брешей в цепи ДНК. В результате этого оппозитная к длительно нерепарируемым брешам нить ДНК может подвергаться атаке эндонуклеаз типа  $S_1$  с формированием энзиматических двунитевых разрывов (ДР) ДНК [4]. Вместе с тем при действии излучений с высокой линейной передачей энергии (ЛПЭ) модифицирующее влияние ингибиторов синтеза ДНК на выживаемость клеток млекопитающих отсутствует [4, 5]. Есть основания полагать, что с увеличением ЛПЭ частиц существенно возрастает количество прямых ДР ДНК, непосредственно индуцируемых тяжелыми заряженными частицами, и выход их определяется лишь физическими свойствами излучений [6]. В связи с этим представляется важным изучить закономерности влияния ингибиторов синтеза ДНК на выход двунитевых разрывов при действии на клетки излучений широкого диапазона ЛПЭ.

Показано, что при  $\gamma$ -облучении клеток в присутствии 1- $\beta$ -D-арабинофуранозилцитозина (Ара-Ц) и гидроксимочевины (ГМ) происходит накопление разрывов в нитях ДНК [2, 7]. Ара-Ц представляет собой эффективный ингибитор ДНК-полимеразы  $\alpha$ , и в меньшей степени  $\beta$ , ведущих репаративный синтез ДНК. Гидроксимочевина, являясь ингибитором рибонуклеотид редуктазы [8], влияет на внутриклеточный пул нуклеотидов и, в частности, цитозина, и снижает его. Вследствие этого в процессе синтеза ДНК клетки используют Ара-Ц, а сайт с включенным в ДНК Ара-Ц является плохим праймером для дальнейшей элонгации цепи ДНК [9]. В результате конкуренции Ара-Ц трифосфата с дезоксицитозин трифосфатом включившийся в ДНК Ара-Ц ингибирует ДНК-полимеразу и топоизомеразу I и изменяет третичную структуру ДНК. Кроме того, Ара-Ц способен блокировать работу ДНК-лигаз [10]. В результате этого происходит длительная фиксация возникающих прямых одонитевых разрывов (ОР) ДНК либо ОР, формирующихся в ходе эксцизионной репарации.

Экспериментальное определение и микродозиметрический анализ частоты образования ОР и ДР ДНК в зависимости от ЛПЭ излучений свидетельствует о том, что выход ОР и поврежденных оснований уменьшается с возрастанием ЛПЭ [6, 11]. В связи с этим можно ожидать уменьшения влияния ингибиторов репаративного синтеза ДНК на выход и кинетику репарации ДР ДНК при действии излучений с возрастающими значениями ЛПЭ. Изучение закономерностей образования и кинетики репарации ДР ДНК в лимфоцитах человека в условиях влияния ингибиторов репарации 1- $\beta$ -D-арабинофуранозилцитозина и гидроксимочевины при действии излучений с разной ЛПЭ и являлось целью настоящего исследования.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Лимфоциты выделяли из свежей цельной гепаринизированной (15 ед/мл) донорской крови. Кровь смешивали с равным объемом питательной среды RPMI 1640 или фосфатного буфера (ФБ) и наносили смесь на поверхность изотонического раствора фиколла (фиколл + вибрографин,  $\rho = 1,077$  г/мл). После центрифугирования при 800 g в течение

ние 20 мин отбирали интерфазный слой, содержащий лимфоциты. Выделенные клетки дважды отмывали в ФБ, центрифугируя 5 мин при 400 g. Супернатант сливали и полученный клеточный осадок разводили необходимым объемом среды RPMI 1640 или ФБ, доводя концентрацию в суспензии до  $2 \cdot 10^6$  кл/мл.

До облучения в суспензию клеток добавляли раствор Ара-Ц и ГМ в конечной концентрации 20 мкмоль и 2 ммоль соответственно, а затем суспензию выдерживали в термостате в течение 1 ч.

Облучение  $\gamma$ -квантами проводили на установке «Рокус» (мощность дозы 0,3 Гр/с). Облучение клеток тяжелыми заряженными частицами проводили на ускорителе тяжелых ионов У-400М Лаборатории ядерных реакций им. Г. Н. Флерова ОИЯИ на установке «Геном» с комплексом физико-дозиметрической аппаратуры, обеспечивающей формирование пучка, определение ЛПЭ частиц и дозы облучения в биообъекте, автоматическую смену облучаемых образцов [12]. В экспериментах использовали ионы лития  ${}^7\text{Li}$  (энергия 40 МэВ/нуклон, ЛПЭ  $\approx 20$  кэВ/мкм) и бора  ${}^{11}\text{B}$  (энергия 35 МэВ/нуклон и ЛПЭ  $\approx 40$  кэВ/мкм) с мощностью дозы 1,5 Гр/мин соответственно. Облучение клеток проводили в специально сконструированных чашках глубиной 4 мм и внутренним диаметром 12 мм, выполненных из органического стекла. Чашки закрывали поликарбонатной пленкой толщиной 8 мкм. Размеры чашек определялись диаметром генерируемого ускорителем пучка ионов, равного 15 мм, и пробегом частиц в облучаемой среде. Для устранения влияния краевых эффектов чашки имели меньший диаметр, чем размер пучка ионов. Чашки с пробами лимфоцитов закреплялись в дисконтейнере, с помощью которого по заданной программе пробы вводились в зону облучения.

При облучении образцы помещали в ледяную баню ( $0 - + 4^\circ\text{C}$ ) для ингибирования процессов репарации. Объем облучаемой суспензии на каждую дозу составлял 200 мкл. Из облученной и контрольной клеточной суспензии отбирали необходимые объемы для приготовления слайдов, а оставшуюся суспензию помещали в  $\text{CO}_2$ -термостат на  $37^\circ\text{C}$ , предварительно добавив в RPMI 1640 эмбриональную телячью сыворотку (10%). Если облучение проводили в ФБ, то его также заменяли на смесь RPMI 1640 с эмбриональной телячьей сывороткой, дважды отмыв клетки центрифугированием. Для изучения кинетики репарации из пробирок, выдерживаемых в термостате через определенные промежутки времени в течение 5 ч, периодически отбирали пробы для приготовления слайдов.

Для получения тонких гель-слайдов использовали предметные стекла, на поверхность которых была нанесена «подложка» (200 мкл нормальной 1% агарозы в  $\text{H}_2\text{O}$ ) для адгезии слайда с агарозой и лучшего закрепления гель-слайда на предметном стекле [13]. На подложке готовили «подушку». Для этого на предметное стекло наносили 150 мкл нормальной 1% агарозы в ФБ и накрывали покровным стеклом, которое удаляли через 1–2 мин, и слайд убирал в холодильник до момента использования. Суспензию клеток смешивали при  $37^\circ\text{C}$  с 1%-м раствором агарозы в ФБ, имеющей низкую температуру затвердевания (low melting temperature agarose), в соотношении 1:2. Наносили на «подушку» 50 мкл приготовленной смеси и, накрыв покровным стеклом, помещали слайд на лед. Через 2–5 мин покровное стекло осторожно удаляли. Полученные слайды опускали в емкость с лизирующим раствором (2,5 М NaCl; 0,1 М EDTA  $\text{Na}_2$  — pH 10; 0,02 М Tris — pH 10; 1% X-100, 10% DMSO), установленную в холодильник. Лизис проводили в темноте.

Электрофорез нейтрально лизированных клеток проводили в низкосолевым ТАЕ-буфере (рН 8,3): 10 мМ Tris-HCl, 25 мМ EDTA Na<sub>2</sub>. Для выравнивания солевой среды в геле слайд 2–3 раза ополаскивали в H<sub>2</sub>O и помещали в камеру для электрофореза, заполненную ТАЕ-буфером и установленную в холодильнике. В таких условиях слайды выдерживали 40 мин для денатурации ДНК. Важно отметить, что воспроизводимость результатов в большой мере зависела от однородности электрического поля и качества электрофоретического буфера. Поэтому стекла со слайдами устанавливали плотно друг к другу, полностью заполняя электрофоретическую ванну в поперечнике, и каждый раз готовили свежий буфер. Электрофорез в нейтральных условиях проводили при напряжении 15 В в течение 40 мин. После электрофореза осторожно вынимали слайды из ТАЕ-буфера, укладывали их горизонтально, раскапывали на них щелочь по 400 мкл (0,3 М NaOH, 10 мМ EDTA Na<sub>2</sub>) и выдерживали 15 мин в холодильнике (в темноте). Эта процедура необходима для осуществления деградации РНК, сильно затрудняющей детекцию комет. Нейтрализацию проводили 0,4 М раствором Tris-HCl (рН 7,4), раскапывая его по 0,45–1,0 мл на каждый слайд. Данную процедуру повторяли трижды. Просушенные на воздухе слайды обрабатывали метанолом (15 мин) для окончательной дегидратации и фиксации ДНК.

Полученные слайды прокрашивали йодистым пропидием (PI). Для регистрации изображений комет использовали флуоресцентный микроскоп «AxioLab» фирмы Carl Zeiss с цифровой Color chilled CCD камерой фирмы Hamamatsu. С каждого слайда регистрировали 100–200 комет.

Сканирование каждой кометы давало профиль интенсивности ее флуоресценции, на котором легко идентифицируются голова и хвост кометы. Обработку изображения кометы проводили с помощью программы CASP [14]. Каждую комету характеризовали общепринятым параметром — моментом хвоста кометы  $mt$ , являющимся произведением доли ДНК в хвосте ( $Ft$ ) и его медианы ( $Xm$ ) [13]. Параметры вычисляли по формулам

$$mt = Xm \cdot Ft, \quad Xm = \frac{\left[ \sum_t (I_i \cdot X_i) \right]}{\sum_t I_i}, \quad Ft = \frac{\left( \sum_t I_i \right)}{\left( \sum_c I_i \right)}. \quad (1)$$

Здесь  $I_i$  — интенсивность флуоресценции в точке  $i$ ;  $X_i$  — расстояние от медианы головы кометы до точки  $i$ . Индексы под знаком суммы обозначают область суммирования:  $t$  — суммирование проводится только в пределах хвоста кометы,  $c$  — суммирование в пределах всей кометы.

Результаты измерений переводили в Excell-таблицу, на основании которой рассчитывали среднее значение ( $\bar{x}$ ) и стандартное отклонение (STDEV).

$$STDEV = \sqrt{\frac{(\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}, \quad (2)$$

где  $n$  — число измерений.

Построение графиков и анализ результатов проводили с помощью программы OriginPro. Расчеты коэффициентов наклона зависимостей «доза–эффект» ( $k$ ) выполняли с помощью программы Mathematics.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены зависимости момента хвоста кометы от дозы  $\gamma$ -квантов и ускоренных ионов лития и бора. Линейный тип зависимости выявлен для всех использованных видов излучений, что характерно при определении выхода двунитевых разрывов ДНК в зависимости от дозы облучения различными методами у клеток про- и эукариот. Величина относительной биологической эффективности ускоренных ионов лития и бора, определяемая как  $ОБЭ = D_{\gamma}/D_{ионы}$ , где  $D_{\gamma}/D_{ионы}$  есть отношение доз, индуцирующих равные эффекты при  $\gamma$ -облучении и при действии ускоренных тяжелых ионов, составляет  $1,5 \pm 0,1$  и  $1,6 \pm 0,1$  соответственно.

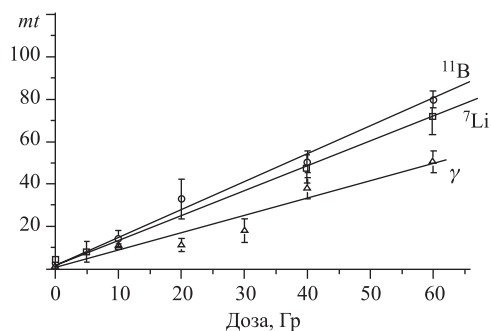


Рис. 1. Зависимость параметра  $mt$  от дозы облучения  $\gamma$ -квантами и ускоренными ионами лития и бора

На рис. 2 приведены зависимости параметра  $mt$  от дозы  $\gamma$ -квантов и ускоренных ионов бора в различные сроки после облучения в нормальных условиях инкубирования и в присутствии Ара-Ц и ГМ. Как можно видеть, линейный характер кривых «доза–эффект» сохраняется для всех условий облучения. При действии  $\gamma$ -квантов на клетки в отсутствие ингибиторов с течением времени инкубации наблюдается эффективная репарация ДР ДНК. Значения коэффициента  $k$ , характеризующего величину наклона зависимости «доза–эффект», уменьшаются более чем в четыре раза после 5-часовой инкубации клеток, снижаясь с величины, равной  $1,14 \pm 0,22$ , до  $0,26 \pm 0,11$  (табл. 1). В то же время в условиях инкубирования клеток в среде с ингибиторами наблюдается иная картина. Значения  $k$  не только не уменьшаются в процессе инкубирования, а даже несколько возрастают с величины  $1,37 \pm 0,30$ , определяемой непосредственно после облучения, до значений, равных  $1,63 \pm 0,28$  после 5-часовой инкубации. Это отчетливо видно при анализе величины фактора изменения дозы (ФИД), определяемой 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. Значения ФИД изменяются от  $1,20 \pm 0,35$ , определяемых непосредственно после облучения, до величины  $6,30 \pm 2,00$  после 5-часовой инкубации клеток.

При действии на клетки ускоренных ионов бора в нормальных условиях, так же как и при  $\gamma$ -облучении, происходит эффективная репарация индуцируемых поврежденных ДНК. Значения коэффициента  $k$  уменьшаются в четыре раза: от величины, равной

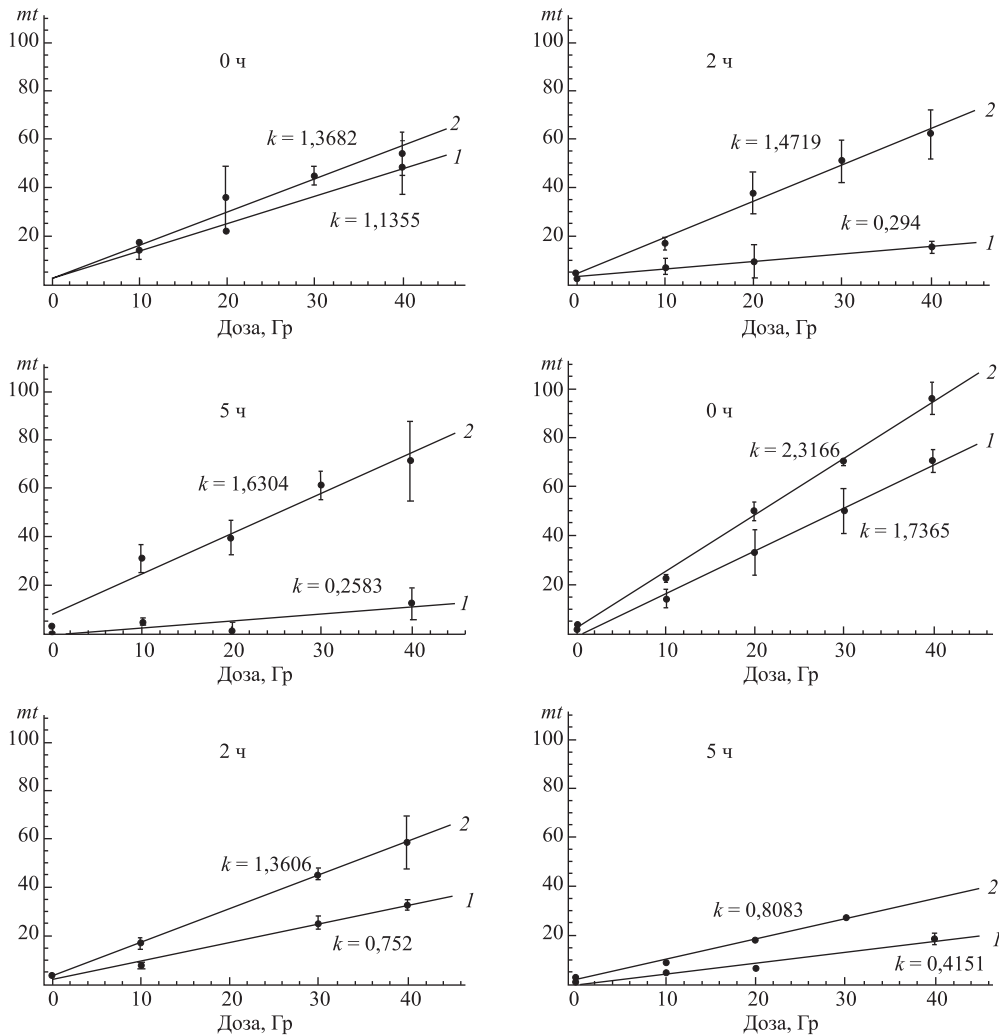


Рис. 2. Зависимость параметра  $mt$  в различные время после облучения  $\gamma$ -квантами и ускоренными ионами бора в обычных условиях (1) и в присутствии Ара-Ц и ГМ (2)

$1,74 \pm 0,16$  при определении зависимости «доза–эффект» непосредственно после облучения, до  $0,42 \pm 0,12$  спустя 5 ч после облучения (табл. 2). Вместе с тем в отличие от действия  $\gamma$ -квантов при инкубации клеток в условиях влияния радиомодификаторов наблюдается уменьшение угла наклона зависимостей от значений, равных  $2,32 \pm 0,14$ , до величины  $0,81 \pm 0,18$ . При этом значения ФИД изменяются незначительно, в пределах от  $1,33 \pm 0,15$ , выявляемых непосредственно после облучения клеток, до  $1,93 \pm 0,39$  спустя 5 ч после инкубации.

Таким образом, полученные нами данные о влиянии ингибиторов синтеза ДНК — арабинозидцитозина и гидроксимочевина — на индукцию и репарацию повреждений

Таблица 1. Значения коэффициента наклона прямой и ФИД после облучения  $\gamma$ -квантами

Время после облучения, ч	Коэффициент наклона прямой, $k$		ФИД
	Нормальные условия	Ара-Ц + ГМ	
0	$1,14 \pm 0,22$	$1,37 \pm 0,30$	$1,20 \pm 0,35$
2	$0,29 \pm 0,08$	$1,47 \pm 0,21$	$5,07 \pm 1,62$
5	$0,26 \pm 0,11$	$1,63 \pm 0,28$	$6,30 \pm 2,00$

Таблица 2. Значения коэффициента наклона прямой и ФИД после облучения ионами бора

Время после облучения, ч	Коэффициент наклона прямой, $k$		ФИД
	Нормальные условия	Ара-Ц + ГМ	
0	$1,74 \pm 0,16$	$2,32 \pm 0,14$	$1,33 \pm 0,15$
2	$0,75 \pm 0,08$	$1,36 \pm 0,22$	$1,81 \pm 0,36$
5	$0,42 \pm 0,12$	$0,81 \pm 0,18$	$1,93 \pm 0,39$

ДНК свидетельствуют о различном характере их модифицирующего влияния при действии на клетки ионизирующих излучений разного качества. В нормальных условиях при действии тяжелых ионов наблюдается более эффективная индукция ДР ДНК. Величина относительной биологической эффективности (ОБЭ) по этому критерию для ускоренных ионов бора составляет  $1,6 \pm 0,1$ . Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов, использовавших другие методы определения выхода ДР ДНК [15, 16]. Они указывают на увеличение выхода прямых ДР ДНК с ростом ЛПЭ излучений. Данные наших исследований свидетельствуют и об эффективной репарации ДР ДНК при действии использованных видов излучений. Как известно, у различных типов клеток млекопитающих репарация ДР эффективно проходит как в ростовых, так и в не ростовых условиях по экспоненциальной кинетике [16–20]. Несмотря на несколько противоречивый характер данных о скорости репарации ДР ДНК клетками эукариот при действии ионизирующих излучений с высокой ЛПЭ, можно прийти к заключению о том, что при облучении ускоренными тяжелыми ионами репарация ДР ДНК в клетках протекает так же эффективно, как и при действии редкоионизирующих излучений [21, 22], или слегка замедлена [16, 19]. При этом отмечается, что фракция невосстановленных ДР ДНК после воздействия плотноионизирующих излучений существенно выше [23, 24].

В условиях влияния ингибиторов наблюдаются значительные различия в характере полученных нами кривых «доза–эффект» при действии на клетки  $\gamma$ -квантов и ускоренных ионов бора. Как можно видеть из материалов, представленных на рис. 2 и в табл. 1, при  $\gamma$ -облучении в присутствии ингибиторов синтеза ДНК наблюдается не только отсутствие репарации ДР ДНК, но отмечается некоторое увеличение количества ДР со временем инкубации клеток. Такое положение может быть объяснено, с одной стороны, возможным ингибированием процессов репарации ДР ДНК, осуществляемой, как известно, двумя механизмами: гомологичной рекомбинацией (ГР) и негомологичным соединением (НГС) концов. С другой стороны, это может быть связано с формированием энзиматических ДР ДНК из односторонних разрывов (ОР) ДНК, образующихся в процессе инцизии модифицированных нуклеотидов в ходе эксцизионной репарации. Пока-

зано [25], что удаление поврежденных нуклеотидов в процессе эксцизионной репарации у клеток млекопитающих происходит в течение 3–4 ч после облучения. В этом случае формирующиеся ОР в условиях влияния ингибиторов синтеза ДНК могут быть сайтами для формирования энзиматических ДР в результате атаки S<sub>1</sub>-эндонуклеазами опозитных инцизионным ОР нитей ДНК. При действии на клетки ускоренных ионов бора в условиях влияния Ара-Ц и ГМ наблюдается репарация ДР ДНК в отличие от  $\gamma$ -квантов (рис. 2). Значения параметра  $k$  в этих условиях снижаются от величины, равной  $2,32 \pm 0,14$ , до  $0,81 \pm 0,18$ . Меньшие значения параметров ФИД при облучении клеток тяжелыми ионами (табл. 2), по-видимому, можно объяснить уменьшением количества индуцируемых ОР ДНК и поврежденных оснований с ростом ЛПЭ излучений [11, 26]. А именно этот тип повреждений ДНК является молекулярным субстратом для реализации сенсibiliзирующего влияния использованных нами ингибиторов синтеза ДНК.

Таким образом, на основании полученных нами результатов можно прийти к заключению о том, что при действии ионизирующих излучений на клетки млекопитающих в условиях действия ингибиторов синтеза ДНК Ара-Ц и ГМ происходит репарация двунитевых разрывов ДНК. Репарация ДР, по-видимому, осуществляется как при  $\gamma$ -облучении, так и, как это было нами показано, при действии ускоренных ионов бора. Большой вклад энзиматических ДР ДНК, формирующихся из заблокированных ингибиторами концевых групп прямых ОР и ОР энзиматической природы, образующихся в процессе эксцизионной репарации, по-видимому, перекрывает картину репарации ДР ДНК при  $\gamma$ -облучении, которая видна при действии на клетки ускоренных ионов бора. В дальнейших исследованиях представляет интерес использовать тяжелые заряженные частицы с еще более высокими значениями ЛПЭ  $\geq 200$  кэВ/мкм, при которых индуцируются, главным образом, «прямые» ДР ДНК, а вклад ДР энзиматической природы минимален.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Dunn W. C., Regan J. D.* Inhibition of DNA Excision Repair in Human Cells by Arabinofuranosyl Cytosine: Effects on Normal and Xeroderma Pigmentosum Cells // *Mol. Pharmacol.* 1979. V. 15. P. 367–374.
2. *Snyder R. D. et al.* Arabinofuranosyl Cytosine and DNA Repair in Human Cells // *Biophys. J.* 1981. V. 35.
3. *Говорун Р. Д. и др.* Летальное действие ускоренных тяжелых ионов на клетки млекопитающих в условиях влияния ингибиторов синтеза ДНК. Результаты экспериментальных исследований // *Радиобиология.* 1987. Т. 27, № 2. С. 177–181.
4. *Филатов М. В. и др.* Механизм усиления радиационного повреждения клеток человека ингибиторами синтеза ДНК // *Проблемы природной и модифицированной радиочувствительности.* М., 1983. С. 213–220.
5. *Bertche U. et al.* Inactivation of Ehrlich Ascites Tumor Cells by Heavy Ions // *Rad. Res.* 1983. V. 95. P. 57–67.
6. *Michalik V.* Model of DNA Damage Induced by Radiations of Various Qualities // *Intern. J. Rad. Biol.* 1991. V. 62, No. 1. P. 9–20.
7. *Beardsley G. P., Mikita T.* Mechanisms of Action of Cytosine Arabinoside (Ara-C). Functional Effects of the Ara-C Structural Lesion in DNA // *Proc. of Am. Assoc. Cancer Res.* 1986. V. 27. P. 305.



8. *Sinclair W. K.* Hydroxyurea Revisited: A Decade of Clinical Effects Studies // *Intern. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* 1981. V. 7. P. 631–637.
9. *Major P. P. et al.* Effect of Ara-C Incorporation on Deoxyribonucleic Acid Synthesis in Cells // *Biochem. Pharmacol.* 1982. V. 31. P. 2937–2940.
10. *Zittoun J., Marquet J., David J.-C.* Mechanism of Inhibition of DNA Ligase in Ara-C Treated Cells // *Leuk. Res.* 1991. V. 15. P. 157–164.
11. *Brons S. et al.* Heavy Ion Production of Single- and Double-Strand Breaks in Plasmid DNA in Aqueous Solution // *Physica Medica.* 2001. V. XVII. P. 217–218.
12. *Череватенко А. П.* Физико-дозиметрическая установка «Геном» для проведения радиобиологических экспериментов на пучках тяжелых ионов циклотрона У-200 ОИЯИ // Тр. рабочего совещ. по генетическому действию корпускулярных излучений. Дубна, 1989. С. 300–303.
13. *Тронов В. А., Пелевина И. И.* Метод ДПК-комет индивидуальных клеток. Принцип и применение метода // *Цитология.* 1996. Т. 38. С. 427–439.
14. *Konca K. et al.* 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. *Kampf G., Eichhorn K.* DNA Strand Breakage by Different Radiation Qualities and Relations to Cell Killing // *Stud. Biophys.* 1983. V. 93. P. 17–26.
16. *Bryant P. E., Blocher D.* Measurement of the Kinetics of DNA Double-Strand Break Repair in Ehrlich Ascites Tumour Cells Using the Unwinding Method // *Intern. J. Rad. Biol.* 1980. V. 38. P. 335–347.
17. *Radford I. R.* Effect of Cell-Cycle Position and Dose on the Kinetics of DNA Double-Strand Breakage Repair in X-Irradiated Chinese Hamster Cells // *Intern. J. Rad. Biol.* 1987. V. 52. P. 555–563.
18. *Metzger L., Iliakis O.* Kinetics of DNA Double-Strand Break Repair throughout the Cell Cycle as Assayed by Pulsed Field Gel Electrophoresis in CHO Cells // *Intern. J. Rad. Biol.* 1991. V. 59. P. 1325–1341.
19. *Peak M. J. et al.* Comparison of Repair of DNA Double-Strand Breaks Caused by Neutron or Gamma Radiation in Cultured Human Cells // *Intern. J. Rad. Biol.* 1991. V. 60. P. 891–898.
20. *Frankenberg D. et al.* Evidence for DNA Double Strand Breaks as the Critical Lesions in Yeast Cells Irradiated with Sparsely and Densely Ionizing Radiation under Oxidic or Anoxic Conditions // *Rad. Res.* 1981. V. 88. P. 524–532.
21. *Van der Schans G. P., Centen H. B.* Progress in Mutation Research. Amsterdam, 1982. V. 4. P. 285–299.
22. *Maki H. et al.* Cell Inactivation and DNA Single and Double-Strand Breaks in Cultured Mammalian Cells Irradiated by a Thermal Neutron Beam // *Intern. J. Rad. Biol.* 1986. V. 50. P. 795–810.
23. *Coquerelle T. M. et al.* Rejoining of Double Strand Breaks in Normal Human and Ataxia-Telangiectasia Fibroblasts after Exposure to 60-cobalt Gamma-Rays, 241-Am Alpha Particles or Bleomycin // *Intern. J. Rad. Biol.* 1987. V. 51. P. 209–218.
24. *Cole A. et al.* Radiation Biology in Cancer Research. N. Y., 1980. P. 33–58.
25. *Calsou P., Salles B.* Properties of Damage-Dependent DNA Incision by Nucleotide Excision Repair in Human Cell-Free Extracts // *Nucleic Acids Res.* 1994. V. 22, No. 23. P. 4937–4942.
26. *Красавин Е. А., Козубек С.* Мутагенное действие излучений с разной ЛПЭ. М.: Энергоатомиздат, 1991.