

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА СИНТЕЗА ДНК АРАБИНОЗИД ЦИТОЗИНА НА ФОРМИРОВАНИЕ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ДР ДНК В НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

*Т.С. Храдко^{1,2}, М.Е. Крупнова¹, Н.В. Пахомова^{1,2}, Д.Д. Шамина^{1,2},
А.В. Ясинская², А.В. Борейко^{1,2}*

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

²Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

e-mail: bulanova_tatyan@mail.ru

Резюме. Методом иммуноокрашивания проанализирована кинетика репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК в культурах фибробластов кожи человека и глиобластомы (U87) при комбинированном действии ионизирующих излучений и ингибитора репарации арабинозид цитозина (АраЦ). Показано, что сочетанное применение протонов и АраЦ приводит к 6-и и 3-х кратному увеличению количества радиационно-индуцированных \square H2AX/53BP1 фокусов в ядрах фибробластов и U87, соответственно, что также отражается на выживаемости U87.

Ключевые слова: ДР ДНК, репарация двунитевых разрывов ДНК, АраЦ, ингибитор, радиационно-индуцированные фокусы.

INFLUENCE OF THE DNA SYNTHESIS INHIBITOR CYTOSINE ARABINOSIDE ON RADIATION-INDUCED DNA DOUBLE-STRAND BREAKS FORMATION IN NORMAL AND TUMOR CELLS

*T.S. Hramco^{1,2}, M.E. Krupnova¹, N.V. Pahomova^{1,2}, D.D. Shamina^{1,2},
A.V. Yasinskaya², A.V. Boreyko^{1,2}*

¹Joint Institute for Nuclear research, Dubna, Russia

²Dubna State University, Dubna, Russia

e-mail: bulanova_tatyan@mail.ru

Summary. Using the immunostaining procedure, the DNA double-strand breaks kinetics was analyzed in human skin fibroblasts and glioblastoma cell cultures under the combined action of ionizing radiation and the DNA repair inhibitor – cytosine arabinoside (AraC). It was shown that the combined application of proton-irradiation and AraC leads to 6- and 3- fold increase of the radiation-induced \square H2AX/53BP1 foci number in fibroblasts and U87 cells nuclei correspondingly, which also affected the survival of U87 cells.

Key words: DNA DSB, DNA DSB repair, AraC, inhibitor, radiation-induced foci.

Цитозин арабинозид (АраЦ) – одно из радиосенсибилизирующих соединений, известное своим действием на ДНК-полимеразы репликативного и репаративного синтеза, широко применяемое для лечения лейкозов. Механизм действия АраЦ заключается в блокировке инициации и удлинения реплицирующейся цепи ДНК, что препятствует полноценному восстановлению поврежденных ДНК и дальнейшему продвижению клеток по циклу. Использование этого соединения в сочетании с облучением усиливает эффект воздействия за счет образования дополнительных ферментативных двунитевых разрывов ДНК (ДР ДНК), генерируемых в результате блокировки репарации радиационно-индуцированных поврежденных оснований и одноститевых разрывов (ОР) ДНК. Модифицирующий эффект АраЦ проявляется в большей степени при действии излучений с низкими линейными передачами энергии ЛПЭ, при воздействии которых формируется большое количество поврежденных оснований и ОР ДНК. В то время как при облучении заряженными частицами с ростом ЛПЭ излучений преимущественно образуются прямые ДР ДНК, а вклад энзиматических ДР ДНК снижается, т.к. уменьшается количество повреждений, служащих субстратом для модификации в условиях влияния АраЦ. Для

оценки влияния АраЦ на формирование и репарацию двунитевых разрывов ДНК использовался метод иммуноцитохимического окрашивания репарационных белков-маркеров фосфорилированного гистона H2AX (γ -H2AX) и 53BP1.

Методом иммуноцитохимического окрашивания установлено, что при облучении протонами в обычных условиях среднее количество γ -H2AX/53BP1 фокусов на клетку снижается с течением времени после облучения как в нормальных, так и в опухолевых клетках. Однако, при комбинированном действии протонов и АраЦ элиминация фокусов с течением времени не наблюдается и количество фокусов остается на максимальном уровне вплоть до 24ч. Показано, что через 24ч количество фокусов при облучении протонами в присутствии АраЦ выше в 6 раз в ядрах фибробластов и в 3 раза в ядрах клеток U87 по сравнению с облученным контролем. Также облучение протонами в присутствии АраЦ продемонстрировало радиосенсибилизирующий эффект на выживаемость клеток U87 – на уровне 10% выживаемости клеток фактор изменения дозы составил 1,75.

При облучении ускоренными ионами азота ^{15}N ингибитор АраЦ незначительно влияет на кинетику элиминации γ -H2AX/53BP1 фокусов в обоих типах клеточных культур. Элиминация γ -H2AX/53BP1 фокусов успешно осуществляется в пределах исследованного пострадиационного периода. Наблюдаемые различия в кинетике репарации ДР ДНК в присутствии ингибитора свидетельствуют о том, что при действии протонов (150 МэВ, 10 кэВ/мкм) и ионов ^{15}N (14 МэВ/нуклон, 180 кэВ/мкм) индуцируются различные виды повреждений ДНК. При действии ионов ^{15}N за счет большего вклада коровой части трека в передачу энергии веществу наиболее вероятно образование прямых ДР ДНК. При действии протонов большая часть повреждений ДНК представлена более простыми одностранными разрывами ДНК и модифицированными основаниями, подверженными действию ингибитора, что приводит к формированию энзиматических ДР ДНК и суммарно большему количеству ДР ДНК сложных для восстановления.