

## Цитогенетические и экспрессионные маркеры индивидуальной радиочувствительности человека

Васильев С.А., Лебедев И.Н.

ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»  
Научно-исследовательский институт медицинской генетики, г. Томск, Россия, e-mail genetics@tnimc.ru

Воздействие ионизирующего излучения вызывает значительные функциональные изменения в клетках человека, выражающиеся в активации различных сигнальных путей и транскрипционного ответа множества генов. Величина этих изменений варьируется у разных индивидов, составляя феномен индивидуальной радиочувствительности. В обзоре рассматриваются известные маркеры индивидуальной радиочувствительности человека, начиная от цитогенетических, позволяющих непосредственно оценить эффективность репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК в клетках, до маркеров, выделенных на основании полногеномных и полнотранскриптомных исследований дифференциально экспрессирующихся генов, обуславливающих различные аспекты клеточного и организменного ответа на радиационное воздействие.

**Ключевые слова:** биомаркеры, индивидуальная радиочувствительность, хромосомные aberrации, микроядра, фокусы  $\gamma$ H2AX, экспрессия генов.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Исследование выполнено при поддержке стипендии Президента РФ СП-3647.2015.4.

### Cytogenetic and expression markers of individual human radiosensitivity

Vasilyev S.A., Lebedev I.N.

Research Institute of Medical Genetics,  
Tomsk National Research Institute of Medical Genetics, Tomsk

Exposure to ionizing radiation causes significant functional changes in human cells which lead to activation of various signaling pathways and transcriptional response of many genes. The magnitude of these changes is variable for different individuals, making the phenomenon of individual radiosensitivity. In the review, markers of individual radiosensitivity are described ranging from cytogenetic markers for assessing the efficiency of DNA repair of radiation-induced damage in cells to genome- and transcriptome-wide approaches to identify differentially expressed genes that determine various aspects of response to radiation exposure.

**Keywords:** biomarkers, individual radiosensitivity, chromosome aberrations, micronuclei,  $\gamma$ H2AX foci, gene expression.

#### Введение

Значительные отличия в радиочувствительности между отдельными индивидами диктуют необходимость характеристики механизмов, ответственных за формирование индивидуальных особенностей ответа клеток человека на ионизирующее излучение. Частота повреждений ДНК в соматических клетках человека определяется уровнем мутагенной нагрузки, которой подвергаются клетки человека, а также эффективностью работы систем репарации возникающих нарушений. В основе межиндивидуальных различий лежат генетические причины, такие, как вариации на уровне последовательности ДНК или экспрессии генов репарации ДНК, метаболизма ксенобиотиков, антиоксидантной защиты. Хорошо известны ключевые сигнальные пути, играющие ведущую роль в ответе соматических клеток человека на ионизирующее излучение и, в первую очередь, в восстановлении повреждений ДНК. Однако молекулярные и клеточные механизмы, обуславливающие межиндивидуальные различия в уровне радиационно-индуциро-

ванных повреждений ДНК в клетках человека, остаются ещё во многом не идентифицированными.

Возможные приложения этих исследований обширны и простираются от профессионального отбора кандидатов на дальние космические полеты до разработки персонализированных подходов к проведению лучевой терапии онкологических больных. Кроме того, актуальным является поиск генов-мишеней для радиосенсибилизации опухолевых клеток при лучевой терапии злокачественных новообразований.

В обзоре рассматриваются известные маркеры индивидуальной радиочувствительности человека, начиная от цитогенетических, позволяющих непосредственно оценить эффективность репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК в клетках, до маркеров, выделенных на основании полногеномных и полнотранскриптомных исследований дифференциально экспрессирующихся генов, обуславливающих различные аспекты клеточного и организменного ответа на радиационное воздействие.

### Цитогенетические маркеры индивидуальной радиочувствительности

Одним из классических методов, позволяющих оценивать индивидуальную радиочувствительность, является анализ хромосомных aberrаций в культивированных лимфоцитах периферической крови. Данный метод позволяет оценить как aberrации хромосомного типа (делеции, транслокации), так и разрывы и обмены, являющиеся нарушениями хроматидного типа. Анализ препаратов метафазных хромосом после воздействия ионизирующего излучения *in vitro* использовался для оценки индивидуальной радиочувствительности в отношении развития осложнений в ходе лучевой терапии лишь в немногочисленных исследованиях [1–3]. У больных раком молочной железы (РМЖ) в ходе лучевой терапии с использованием малых и больших мощностей доз не было показано связи между вероятностью возникновения и тяжестью побочных реакций с частотой хроматидных разрывов после модельного воздействия  $\gamma$ -излучением в дозе 3,5 Гр *in vitro* [1]. В другом исследовании было обнаружено, что частота хроматидных разрывов в культивированных лимфоцитах периферической крови больных с опухолями головы и шеи после облучения *in vitro* рентгеновским излучением в дозе 6 Гр была статистически значимо выше у пациентов, имеющих тяжелые осложнения в ходе лучевой терапии, по сравнению с менее радиочувствительными пациентами [2]. В более поздней работе той же группой авторов было показано, что частота хроматидных разрывов отражает вероятность возникновения побочных реакций лучевой терапии только при модельном воздействии в дозе 6 Гр, но не 3 Гр [3].

Таким образом, ввиду небольшого числа проведенных исследований и противоречивых результатов нельзя однозначно говорить о возможности предсказания побочных эффектов лучевой терапии на основе анализа частоты хроматидных aberrаций *in vitro* при облучении. Необходимо подчеркнуть, что в проведенных к настоящему моменту исследованиях применялся подход с облучением лимфоцитов периферической крови в фазе G<sub>2</sub> клеточного цикла *in vitro* и использованием анализа только частоты хроматидных разрывов в качестве маркера ошибок системы репарации ДНК [1–3].

Наряду с исследованием препаратов метафазных хромосом в качестве маркера оценки вероятности развития побочных реакций при лучевой терапии возможно и использование частоты микроядер. Микроядра образуются при отстаивании в анафазе митотического деления как ацентрических фрагментов, связанных с прямым воздействием ионизирующего излучения, так и целых хроматид или хромосом [4]. Следовательно, оценка частоты микроядер, содержащих фрагменты хромосом, может рассматриваться как аналог оценки частоты хроматидных разрывов. Большие возможности для автоматизации и низкие трудозатраты при подсчете микроядер определяют интерес исследователей к их анализу в каче-

стве биомаркера индивидуальной радиочувствительности. Однако к настоящему моменту было предпринято лишь несколько попыток оценки возможности применения микроядерного теста для предсказания индивидуальной радиочувствительности онкологических больных в ходе лучевой терапии. Не было обнаружено корреляции между уровнем микроядер при облучении *in vitro* и вероятностью развития побочных реакций у больных РМЖ [1] и пациентов с раком шейки матки [5]. Однако при облучении лимфоцитов периферической крови *in vitro*  $\gamma$ -излучением в дозе 4 Гр частота микроядер в клетках, полученных от больных с тяжелыми реакциями после курса лучевой терапии, была статистически значимо выше по сравнению с клетками больных с отсутствием побочных эффектов [6].

Недавно была предложена новая чувствительная методика определения числа двунитевых разрывов ДНК, основанная на иммунофлуоресцентном анализе белков, участвующих в репарации этих разрывов. В клетке в ответ на действие ионизирующего излучения наблюдается образование так называемых радиационно-индуцированных фокусов белков репарации ДНК [7]. Они являются динамическими структурами, содержащими тысячи копий белков, участвующих в различных этапах репарации двунитевых разрывов ДНК и передаче сигналов, активирующих контрольную точку клеточного цикла. Эти структуры могут оцениваться микроскопически в виде дискретных фокусов, окружающих двунитевые разрывы ДНК. Среди белков, участвующих в образовании радиационно-индуцированных фокусов, особое значение придается фосфорилированному гистону  $\gamma$ H2AX и медиаторному белку 53BP1, играющим важную роль в репарации двунитевых разрывов ДНК [8]. Так как число радиационно-индуцированных фокусов  $\gamma$ H2AX тесно связано с числом двунитевых разрывов, принято считать, что фокусы  $\gamma$ H2AX локализуются в местах двунитевых разрывов ДНК [8, 9]. В связи с этим важным вопросом является взаимосвязь числа фокусов  $\gamma$ H2AX с частотой структурных и числовых нарушений хромосом. Фактически, исходя из механизмов формирования и динамики исчезновения фокусов  $\gamma$ H2AX после возникновения двунитевых разрывов ДНК в клетке, число остаточных фокусов  $\gamma$ H2AX должно отражать количество оставшихся нерепарированными двунитевых разрывов ДНК. Эти нерепарированные двунитевые разрывы ДНК напрямую связаны с формированием одноударных структурных aberrаций хромосомного и хроматидного типа (парных и хроматидных фрагментов) и центромеро-негативных микроядер. Тем не менее, такая связь между остаточными фокусами  $\gamma$ H2AX и частотой хромосомных нарушений далеко не всегда обнаруживается при проведении реальных исследований [10]. Так, при анализе радиационно-индуцированных двунитевых разрывов ДНК в лимфоцитах женщин, больных злокачественными новообразованиями, не было обнаружено

никакой корреляции между результатами G<sub>2</sub>-теста и числом фокусов γH2AX после облучения в условиях *in vitro* [11]. В другом исследовании у больных злокачественными новообразованиями до терапии был установлен повышенный уровень хромосомных aberrаций, по сравнению со здоровыми индивидами, тогда как уровень фокусов γH2AX не был статистически значимо повышен [12].

В нашей работе в лимфоцитах периферической крови 54 здоровых людей после воздействия γ-излучения в дозе 2 Гр *in vitro* были проанализированы спонтанные фокусы γH2AX и радиационно-индуцированные микроядра [13]. Анализ фокусов γH2AX был осуществлен путём иммунофлуоресцентного анализа препаратов, тогда как для оценки частоты микроядер был использован микроядерный тест на цитокинез-блокированных двухъядерных клетках в комбинации с флуоресцентной гибридизацией *in situ* (FISH) с панцентромерными ДНК-зондами. Была обнаружена обратная корреляция между спонтанным уровнем фокусов γH2AX и частотой центромеро-негативных микроядер после облучения, являющихся маркером потерь ацентрических хромосомных фрагментов ( $R = -0,37$ ,  $p = 0,025$ ) [13]. Обратная корреляция была обнаружена также и между спонтанным уровнем фокусов γH2AX до лучевой терапии и частотой aberrаций хромосомного типа после окончания лучевой терапии в группе больных злокачественными новообразованиями ( $R = -0,85$ ,  $p = 0,0008$ ) [14]. Это указывает на возможность использования спонтанного уровня фокусов γH2AX для прогноза индивидуальной радиочувствительности соматических клеток человека как *in vitro*, так и *in vivo*. С другой стороны, обнаруженный эффект, по-видимому, может иметь определенную специфику, определяемую типом клеток, так как, например, в фибробластах экстраэмбриональной мезодермы человека он не обнаруживается [15].

Теоретически, эффективность репарации двунитевых разрывов ДНК может определять не только формирование структурных хромосомных aberrаций в отдельных клетках, но и реакцию тканей на воздействие ионизирующего излучения *in vivo*. В связи с этим интересны попытки установления связи между уровнем фокусов белков репарации ДНК и риском возникновения побочных эффектов в здоровых тканях у больных злокачественными новообразованиями в ходе лучевой терапии. Чаще всего для этих целей используется уровень фокусов γH2AX в лимфоцитах периферической крови онкологических больных или их лимфобластоидных клеточных линиях после облучения в условиях *in vitro*. Однако, опыт использования анализа уровня радиационно-индуцированных фокусов γH2AX в клетках после облучения в условиях *in vitro* для прогноза радиочувствительности больных злокачественными новообразованиями в ходе лучевой терапии пока нельзя назвать успешным [11, 12, 16, 17]. Так, никакого повышения уровня радиа-

ционно-индуцированных фокусов γH2AX после облучения *in vitro* не было зарегистрировано в лимфобластоидных линиях больных злокачественными новообразованиями различных локализаций с побочными эффектами в ходе лучевой терапии относительно группы больных без таких побочных эффектов [16]. Еще в одном аналогичном исследовании в выборке больных с опухолями шейки матки и эндометрия также не было обнаружено значимых отличий между уровнем радиационно-индуцированных фокусов γH2AX в лимфоцитах больных с побочными эффектами относительно больных без таких эффектов после облучения в условиях *in vitro*. Интересно, что использовавшийся параллельно анализ частоты хроматидных разрывов после облучения в фазе G<sub>2</sub> клеточного цикла позволил выявить повышенный уровень хроматидных разрывов у больных с побочными эффектами после прохождения лучевой терапии [11]. Однако в последующем исследовании больных раком простаты различий между больными с побочными эффектами лучевой терапии и без них не было обнаружено ни для фокусов γH2AX, ни для хроматидных разрывов [12]. Наконец, статистически значимых отличий не было выявлено у больных с побочными эффектами лучевой терапии путем оценки цито- и генотоксичности с использованием окраски аннексином, анализа фокусов γH2AX и комет-теста [17].

Результаты анализа связи фокусов γH2AX с радиочувствительностью больных злокачественными новообразованиями в ходе лучевой терапии после воздействия радиации на лимфоциты в условиях *in vivo* пока также противоречивы. Так, анализ уровня фокусов γH2AX в лимфоцитах больных с опухолями головы и шеи через 0,5, 2,5, 5 и 24 ч после первой фракции воздействия не позволил обнаружить значимых различий между больными с побочными эффектами и больными без них [18]. Аналогичные результаты были получены и в нашем исследовании для фокусов белков γH2AX и 53BP1 в лимфоцитах периферической крови больных РМЖ в ходе лучевой терапии [19]. Однако в другой работе в лимфоцитах больных РМЖ с тяжелыми побочными эффектами лучевой терапии был установлен повышенный уровень фокусов γH2AX [20]. Тем не менее, в последующем исследовании тех же авторов в подгруппе больных колоректальным раком с тяжелыми побочными эффектами лучевого воздействия повышенного уровня фокусов γH2AX и 53BP1 в лимфоцитах не наблюдалось [21].

Принципиальным вопросом является оценка радиочувствительности именно опухолевых клеток. В одном из исследований динамика репарации радиационно-индуцированных фокусов γH2AX коррелировала с клональной выживаемостью опухолевых клеточных линий [22]. В нашем исследовании также была обнаружена корреляция динамики возникновения и исчезновения радиационно-индуцированных фокусов белка 53BP1

в 11 опухолевых клеточных линиях с их радиочувствительностью [23]. Однако в других исследованиях такой взаимосвязи не установлено [24, 25].

В целом, цитогенетических маркеров, по-видимому, оказывается недостаточно для оценки индивидуальной радиочувствительности человека, а значит должны учитываться дополнительные маркеры, среди которых могут быть дифференциальная активность генов, уровень апоптоза, иммунный ответ и другие компоненты радиационно-индуцированного ответа организма.

### Радиогеномика и радиотранскриптомика

Долгое время основные усилия в выявлении маркеров индивидуальной радиочувствительности были направлены на определение генетической составляющей такого ответа в части влияния полиморфизма отдельных кандидатных генов, участвующих в репарации ДНК и метаболизме ксенобиотиков, на индивидуальную радиочувствительность человека [26, 27]. Проведенные работы позволили выявить влияние отдельных полиморфных вариантов, которое, однако, не всегда подтверждалось в независимых исследованиях [28]. Учитывая эти проблемы, в 2010 г. была сформулирована концепция радиогеномики [29] и начался период широкогеномных ассоциативных исследований (GWAS), направленных на выявление полиморфных генетических вариантов, ассоциированных с риском развития побочных эффектов при лучевой терапии [30, 31]. Результатом таких исследований стало выявление значимых ассоциаций с отдельными полиморфными вариантами в генах *FSHR*, *IFNK*, *HSD17B2*, *SLC36A4*, *KCND3*, *TANC1*, играющих в большинстве своем сигнальную роль. Таким образом, проведение GWAS дало понимание того, что в формировании радиочувствительности человека на клеточном и организменном уровне ключевую роль могут играть гены, не задействованные напрямую в репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК. Поэтому выявление важных участников этого процесса невозможно в рамках кандидатного подхода и требует проведения именно широкогеномных исследований [34, 35].

Помимо структурной вариабельности генома, ключевую роль в формировании фенотипа играет эпигенетическая компонента, определяющая различную регуляцию экспрессии генов в клетках различных индивидов. Поэтому еще одной возможностью для выявления генов, играющих определяющую роль в формировании индивидуальной радиочувствительности, является полнотранскриптомный анализ профиля экспрессии генов у индивидов с различной радиочувствительностью. Такой подход может позволить не только выявить отдельные компоненты радиационно-индуцированного клеточного ответа, но и значительно углубить понимание механизмов его реализации за счет анализа сетей регуляции транскрипционной активности генов через поиск ключевых генов-регуляторов.

Наиболее очевидными кандидатами на роль генов, экспрессия которых может быть связана с изменением эффективности репарации ДНК, являются гены, продукты которых участвуют в ответе на повреждение ДНК. Действительно, клетки, нокаутные по многим генам репарации ДНК, имеют повышенную радиочувствительность. Среди них есть как непосредственные участники репарации ДНК, так и гены, продукты которых обеспечивают проведение сигналов, направленных на привлечение других белков, активацию экспрессии других генов или активацию контрольных точек клеточного цикла. Однако нарушение работы таких генов значительно снижает жизнеспособность организма и приводит к гибели или формированию наследственных синдромов, в частности синдрома Ниймегена, пигментной ксеродермы, атаксии-телеангиэктазии и ряда других [36, 37]. Поэтому, вероятно, индивидуальная радиочувствительность здоровых индивидов должна определяться генами с менее выраженным влиянием на жизнеспособность. Ими могут быть косвенные участники радиационно-индуцированного ответа, преимущественно обеспечивающие отдельные аспекты проведения сигналов, или транскрипционные факторы, регулирующие экспрессию их генов.

Доступность технологий полнотранскриптомного анализа с использованием микрочипов определила проведение большого количества исследований, направленных на выявление радиационно-индуцированных изменений профиля экспрессии генов. Такие работы выполняются как на нормальных соматических клетках человека [38, 44], так и в опухолевых клеточных линиях [45–51]. Кроме того, было обнаружено, что транскрипционный ответ клеток на воздействие радиации в малых и высоких дозах значительно различается между собой [39, 40]. Наконец, такого рода исследования позволили выявить гены, уровень экспрессии которых может быть потенциально использован для целей биодозиметрии [42, 52, 53].

Вместе с тем, несмотря на значительное количество работ, связанных с профилированием радиационно-индуцированной активности генов, сравнительно мало исследований направлено на выявление генов, отличия в экспрессии которых могут обуславливать индивидуальные особенности ответа на радиацию. В основном эти исследования проведены с использованием только опухолевых клеточных линий, часто отличающихся между собой по локализации первичной опухоли и кариотипу. В результате этих работ были сформированы экспрессионные панели, состоящие из различного числа генов и позволяющие определять индивидуальную радиочувствительность опухолевых клеточных линий: 10 генов (на основе 48 опухолевых линий) [54]; 31 ген (на основе 60 опухолевых линий) [48]; 70 генов Mammarray® (на основе опухолей 1053 больных РМЖ) [55]; 7 генов (на основе опухолей 191 больного РМЖ) [56]. Продукты генов из сформированных панелей участвуют в регуляции

клеточного цикла, репликации ДНК, межклеточных контактах, апоптотическом сигналинге и ремоделировании хроматина [48, 54, 55].

К сожалению, отличия профилей экспрессии нормальных соматических клеток различных индивидов в ответ на воздействие ионизирующего излучения остаются практически не исследованными. Проведение такого анализа позволило бы выявить маркеры индивидуальной радиочувствительности здоровых тканей человека. Такие маркеры могли бы найти применение в системах планирования курсов лучевой терапии злокачественных новообразований для персонализированного предсказания риска развития побочных эффектов. Кроме того, такие системы маркеров обладают большим потенциалом для использования при профессионального отбора и биомониторинга на предприятиях, связанных с воздействием ионизирующего излучения на человека в рамках профессиональной деятельности, а также в космической отрасли. Учитывая такой потенциал, актуальным становится проведение полнотранскриптомных исследований, направленных на выявление маркеров индивидуальной радиочувствительности нормальных соматических клеток человека.

Таким образом, в настоящее время наблюдается высокий интерес к выявлению маркеров индивидуальной чувствительности человека к воздействию ионизирующего излучения, связанный, в первую очередь, с необходимостью понимания биологических основ противоопухолевой терапии и разработки новых средств преодоления опухолевой радиорезистентности. Развитие молекулярно-генетических технологий определяет переход от цитогенетических методов определения радиочувствительности к созданию панелей экспрессионных генетических маркеров. Кроме того, сравнительная доступность широкогеномных и полнотранскриптомных подходов предоставляют новые возможности для разведочного поиска маркеров индивидуальной радиочувствительности среди генов, не связанных очевидным образом с радиационно-индуцированным клеточным ответом, что представляет собой, возможно, наиболее перспективный путь к выявлению клинически значимых маркеров чувствительности нормальных соматических клеток человека к воздействию ионизирующего излучения.

### Список литературы

1. Barber JB, Burrill W, Spreadborough AR, et al. Relationship between in vitro chromosomal radiosensitivity of peripheral blood lymphocytes and the expression of normal tissue damage following radiotherapy for breast cancer. *Radiother Oncol.* 2000; 55(2): 179-86.
2. Borgmann K, Roper B, El-Awady R, et al. Indicators of late normal tissue response after radiotherapy for head and neck cancer: fibroblasts, lymphocytes, genetics, DNA repair, and chromosome aberrations. *Radiother Oncol.* 2002; 64(2): 141-52.
3. Borgmann K, Haerberle D, Doerk T, et al. Genetic determination of chromosomal radiosensitivities in G0- and G2-phase human lymphocytes. *Radiother Oncol.* 2007; 83(2): 196-202.
4. Fenech M The lymphocyte cytokinesis-block micronucleus cytome assay and its application in radiation biodosimetry. *Health Phys.* 2010; 98(2): 234-43.
5. Slonina D, Biesaga B, Urbanski K, et al. Comparison of chromosomal radiosensitivity of normal cells with and without HRS-like response and normal tissue reactions in patients with cervix cancer. *Int J Radiat Biol.* 2008; 84(5): 421-8.
6. Widel M, Jedrus S, Lukaszczuk B, et al. Radiation-induced micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes is correlated with normal tissue damage in patients with cervical carcinoma undergoing radiotherapy. *Radiat Res.* 2003; 159(6): 713-21.
7. Bekker-Jensen S, Lukas C, Kitagawa R, et al. Spatial organization of the mammalian genome surveillance machinery in response to DNA strand breaks. *J Cell Biol.* 2006; 173(2): 195-206.
8. Sedelnikova OA, Rogakou EP, Panyutin IG, et al. Quantitative detection of (125)IdU-induced DNA double-strand breaks with gamma-H2AX antibody. *Radiat Res.* 2002; 158(4): 486-92.
9. Rothkamm K, Kruger I, Thompson LH, et al. Pathways of DNA double-strand break repair during the mammalian cell cycle. *Mol Cell Biol.* 2003; 23(16): 5706-15.
10. Valdiglesias V, Giunta S, Fenech M, et al. gammaH2AX as a marker of DNA double strand breaks and genomic instability in human population studies. *Mutat Res.* 2013.
11. Werbrout J, De Ruyck K, Beels L, et al. Prediction of late normal tissue complications in RT treated gynaecological cancer patients: potential of the gamma-H2AX foci assay and association with chromosomal radiosensitivity. *Oncol Rep.* 2010; 23(2): 571-8.
12. Brzozowska K, Pinkawa M, Eble MJ, et al. In vivo versus in vitro individual radiosensitivity analysed in healthy donors and in prostate cancer patients with and without severe side effects after radiotherapy. *Int J Radiat Biol.* 2012; 88(5): 405-13.
13. Васильев СА, Величевская АИ, Вишневецкая ТВ, и др. Фоновое количество фокусов  $\gamma$ H2AX в клетках человека как фактор индивидуальной радиочувствительности. Радиационная биология и радиоэкология. 2015; 55(4): 402-410.
14. Melnikov AA, Vasilyev SA, Musabaeva LI, et al. Cytogenetic effects of neutron therapy in patients with parotid gland tumors and relapse of breast cancer. *Experimental oncology.* 2012; 34(4): 354-357.
15. Беленко АА, Васильев СА, Лебедев ИН Маркеры индивидуальной радиочувствительности экстраэмбриональных клеток зародышей человека в условиях in vitro. Экологическая генетика. 2015; 13(4): 33-35.
16. Vasireddy RS, Sprung CN, Cempaka NL, et al. H2AX phosphorylation screen of cells from radiosensitive cancer patients reveals a novel DNA double-strand break repair cellular phenotype. *Br J Cancer.* 2010; 102(10): 1511-8.
17. Greve B, Bolling T, Amler S, et al. Evaluation of different biomarkers to predict individual radiosensitivity in an inter-laboratory comparison—lessons for future studies. *PLoS One.* 2012; 7(10): e47185.
18. Fleckenstein J, Kuhne M, Seegmuller K, et al. The impact of individual in vivo repair of DNA double-strand breaks on oral mucositis in adjuvant radiotherapy of head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011; 81(5): 1465-72.
19. Markova E, Somsedikova A, Vasilyev S, et al. DNA repair foci and late apoptosis/necrosis in peripheral blood lymphocytes of breast cancer patients undergoing radiotherapy. *Int J Radiat Biol.* 2015; 91(12): 934-45.
20. Djuzenova CS, Elsner I, Katzer A, et al. Radiosensitivity in breast cancer assessed by the histone gamma-H2AX and 53BP1 foci. *Radiat Oncol.* 2013; 8(1): 98.
21. Djuzenova CS, Zimmermann M, Katzer A, et al. A prospective study on histone gamma-H2AX and 53BP1 foci expression in

rectal carcinoma patients: correlation with radiation therapy-induced outcome. *BMC Cancer*. 2015; 15: 856.

22. Klovov D, MacPhail SM, Banath JP, et al. Phosphorylated histone H2AX in relation to cell survival in tumor cells and xenografts exposed to single and fractionated doses of X-rays. *Radiother Oncol*. 2006; 80(2): 223-9.

23. Belyaev IY Radiation-induced DNA repair foci: spatio-temporal aspects of formation, application for assessment of radiosensitivity and biological dosimetry. *Mutat Res*. 2010; 704(1-3): 132-41.

24. Yoshikawa T, Kashino G, Ono K, et al. Phosphorylated H2AX foci in tumor cells have no correlation with their radiation sensitivities. *J Radiat Res (Tokyo)*. 2009; 50(2): 151-60.

25. Zhao J, Guo Z, Zhang H, et al. The potential value of the neutral comet assay and gammaH2AX foci assay in assessing the radiosensitivity of carbon beam in human tumor cell lines. *Radiol Oncol*. 2013; 47(3): 247-57.

26. Andreassen CN Can risk of radiotherapy-induced normal tissue complications be predicted from genetic profiles? *Acta Oncol*. 2005; 44(8): 801-15.

27. Сальникова ЛЕ, Чумаченко АГ, Веснина ИН, и др. Полморфизм генов репарации и цитогенетические эффекты облучения. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2010; 50(6): 656-662.

28. Andreassen CN, Alsner J Genetic variants and normal tissue toxicity after radiotherapy: a systematic review. *Radiother Oncol*. 2009; 92(3): 299-309.

29. West C, Rosenstein BS, Alsner J, et al. Establishment of a Radiogenomics Consortium. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010; 76(5): 1295-6.

30. Kerns SL, Ostrer H, Stock R, et al. Genome-wide association study to identify single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with the development of erectile dysfunction in African-American men after radiotherapy for prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010; 78(5): 1292-300.

31. Kerns SL, Stock RG, Stone NN, et al. Genome-wide association study identifies a region on chromosome 11q14.3 associated with late rectal bleeding following radiation therapy for prostate cancer. *Radiother Oncol*. 2013; 107(3): 372-6.

32. Fachal L, Gomez-Caamano A, Barnett GC, et al. A three-stage genome-wide association study identifies a susceptibility locus for late radiotherapy toxicity at 2q24.1. *Nat Genet*. 2014; 46(8): 891-4.

33. Barnett GC, Thompson D, Fachal L, et al. A genome wide association study (GWAS) providing evidence of an association between common genetic variants and late radiotherapy toxicity. *Radiother Oncol*. 2014; 111(2): 178-85.

34. Guo Z, Shu Y, Zhou H, et al. Radiogenomics helps to achieve personalized therapy by evaluating patient responses to radiation treatment. *Carcinogenesis*. 2015; 36(3): 307-17.

35. Andreassen CN, Schack LM, Laursen LV, et al. Radiogenomics — current status, challenges and future directions. *Cancer Lett*. 2016; 382(1): 127-136.

36. Surrallés J, Jackson SP, Jasin M, et al. Molecular cross-talk among chromosome fragility syndromes. *Genes Dev*. 2004; 18(12): 1359-70.

37. Chrzanoska KH, Gregorek H, Dembowska-Baginska B, et al. Nijmegen breakage syndrome (NBS). *Orphanet J Rare Dis*. 2012; 7: 13.

38. Amundson SA, Do KT, Shahab S, et al. Identification of potential mRNA biomarkers in peripheral blood lymphocytes for human exposure to ionizing radiation. *Radiat Res*. 2000; 154(3): 342-6.

39. Ding LH, Shingyoji M, Chen F, et al. Gene expression profiles of normal human fibroblasts after exposure to ionizing radiation: a comparative study of low and high doses. *Radiat Res*. 2005; 164(1): 17-26.

40. El-Saghire H, Thierens H, Monsieurs P, et al. Gene set enrichment analysis highlights different gene expression profiles in whole blood samples X-irradiated with low and high doses. *Int J Radiat Biol*. 2013; 89(8): 628-38.

41. Franco N, Lamartine J, Frouin V, et al. Low-dose exposure to gamma rays induces specific gene regulations in normal human keratinocytes. *Radiat Res*. 2005; 163(6): 623-35.

42. Kabacik S, Mackay A, Tamber N, et al. Gene expression following ionising radiation: identification of biomarkers for dose estimation and prediction of individual response. *Int J Radiat Biol*. 2011; 87(2): 115-29.

43. Kang CM, Park KP, Song JE, et al. Possible biomarkers for ionizing radiation exposure in human peripheral blood lymphocytes. *Radiat Res*. 2003; 159(3): 312-9.

44. Warters RL, Packard AT, Kramer GF, et al. Differential gene expression in primary human skin keratinocytes and fibroblasts in response to ionizing radiation. *Radiat Res*. 2009; 172(1): 82-95.

45. Amundson SA, Do KT, Vinikoor LC, et al. Integrating global gene expression and radiation survival parameters across the 60 cell lines of the National Cancer Institute Anticancer Drug Screen. *Cancer Res*. 2008; 68(2): 415-24.

46. Eschrich SA, Fulp WJ, Pawitan Y, et al. Validation of a radiosensitivity molecular signature in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2012; 18(18): 5134-43.

47. Hall JS, Iype R, Senra J, et al. Investigation of radiosensitivity gene signatures in cancer cell lines. *PLoS One*. 2014; 9(1): e86329.

48. Kim HS, Kim SC, Kim SJ, et al. Identification of a radiosensitivity signature using integrative metaanalysis of published microarray data for NCI-60 cancer cells. *BMC Genomics*. 2012; 13: 348.

49. Otomo T, Hishii M, Arai H, et al. Microarray analysis of temporal gene responses to ionizing radiation in two glioblastoma cell lines: up-regulation of DNA repair genes. *J Radiat Res*. 2004; 45(1): 53-60.

50. Tewari D, Monk BJ, Al-Ghazi MS, et al. Gene expression profiling of in vitro radiation resistance in cervical carcinoma: a feasibility study. *Gynecol Oncol*. 2005; 99(1): 84-91.

51. Torres-Roca JF, Eschrich S, Zhao H, et al. Prediction of radiation sensitivity using a gene expression classifier. *Cancer Res*. 2005; 65(16): 7169-76.

52. Marchetti F, Coleman MA, Jones IM, et al. Candidate protein biosimeters of human exposure to ionizing radiation. *Int J Radiat Biol*. 2006; 82(9): 605-39.

53. Paul S, Amundson SA Development of gene expression signatures for practical radiation biodosimetry. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2008; 71(4): 1236-1244.

54. Eschrich SA, Pramana J, Zhang H, et al. A gene expression model of intrinsic tumor radiosensitivity: prediction of response and prognosis after chemoradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2009; 75(2): 489-96.

55. Drukker CA, Elias SG, Nijenhuis MV, et al. Gene expression profiling to predict the risk of locoregional recurrence in breast cancer: a pooled analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2014; 148(3): 599-613.

56. Tramm T, Mohammed H, Myhre S, et al. Development and validation of a gene profile predicting benefit of postmastectomy radiotherapy in patients with high-risk breast cancer: a study of gene expression in the DBCG82bc cohort. *Clin Cancer Res*. 2014; 20(20): 5272-80.