

Krzysztof Roszkowski¹,
Anna Mucha-Matecka²

¹ Oddział Radioterapii II, Centrum
Onkologii w Bydgoszczy
Kierownik Oddziału: dr n. med.
Krzysztof Roszkowski

² Klinika Nowotworów Głowy i Szyi
Centrum Onkologii – Instytut
w Krakowie
Kierownik Kliniki: prof dr hab.
B. Gliński

Address for correspondence/
Adres do korespondencji:

¹ Krzysztof Roszkowski
Oddział Radioterapii II
Centrum Onkologii w Bydgoszczy
ul. Romanowskiej 2, 85-790 Bydgoszcz
tel. 052 3743374; fax: 052 37 43 301
e-mail: roszkowskik@co.bydgoszcz.pl

² Anna Mucha-Matecka
Klinika Nowotworów Głowy i Szyi
Centrum Onkologii – Instytut
w Krakowie
ul. Garncarska 11, 31-115 Kraków
tel. 0124229900; fax: 0124269750
e-mail: z5mmalec@cyfronet.pl

Received: 02.07.2009

Accepted: 17.08.2009

Published: 03.09.2009

Tissue and molecular response to the ionizing radiation

Odpowiedź tkankowa i molekularna na działanie promieniowania jonizującego

Review article/Artykuł poglądowy

Summary

Contemporary radiotherapy is based on the considerable part of knowledge about the radiation physics and basic radiobiological mechanisms in the tumor tissues and healthy tissues. Advances in molecular biology and radiobiology of the radiation ionizing, help to the better understanding of the mechanisms early and late effects of treatment. The investigations of new diagnostic and therapeutic methods the same appear the possibility in the treatment of tumours. The work describes molecular and tissue mechanisms, the efficacies of the radiation ionizing on the neoplastic tumor.

Key words: radiotherapy, cytokine, DNA

Streszczenie

Współczesna radioterapia nowotworów opiera się w znacznej mierze na wiedzy o fizyce promieniowania i podstawowych mechanizmach radiobiologicznych w tkankach guza i tkankach zdrowych. Postęp w biologii molekularnej i radiobiologii promieniowania jonizującego, prowadzi do lepszego zrozumienia mechanizmów wczesnych i późnych efektów leczenia. Tym samym pojawiają się możliwości badania nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych w leczeniu nowotworów.

Praca opisuje mechanizmy molekularne i tkankowe, działania promieniowania jonizującego na guz nowotworowy.

Słowa kluczowe: radioterapia, cytokiny, DNA

STATISTIC STATYSTYKA

Word count Liczba słów	1168/966
------------------------	----------

Tables Tabele	0
---------------	---

Figures Ryciny	1
----------------	---

References Piśmiennictwo	34
--------------------------	----

INTRODUCTION

Physiological cells in tissues cooperate with the neighbouring cells by means of proteins of the extracellular matrix (ECM), cytokines, and growth factors.

In normal conditions, extracellular factors interact with cells in tissues, controlling the critical functions such as fast growth, differentiation and death of cells. In a neoplastic tumour, intracellular changes, including the development of lesion from the pre-neoplastic stage to malignancy, exert an influence on the extracellular space.

Recent studies have supplied evidence confirming that changes in the extracellular space, particularly the ECM, may precede intracellular modifications, and therefore contribute to initiating neoplastic transformations [1, 2, 3].

Progress in molecular biology and radiobiology of ionizing radiation leads to a better understanding of the mechanisms of early and late therapeutic results. This provides possibilities of studying new diagnostic and therapeutic methods in the treatment of neoplasms.

The present work describes the molecular mechanisms of the effects of ionizing radiation on the tissues of neoplastic tumours.

INDIRECT EFFECTS OF IONIZING RADIATION ON STRUCTURES UNRELATED TO DNA

In the described mechanisms non-cellular factors were identified that are particularly active in modifying the response of the tumour to the cytotoxic effect of ionizing radiation or chemotherapy [4, 5].

In the first examples, human monoclonal antibody or pharmacological tyrosine kinase inhibitors were used, directed against the epidermal growth factor receptor (EGFR) [6, 7], against the vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR), or against the platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) [8, 9, 10].

Even though the EGFR is manifested in cells of endothelial origin, the anti-VEGFR and anti-PDGFR strategies are mostly regarded as an anti-angiogenic approach.

This therapeutic intervention may cause, on the one hand, a destruction of the tumour cells by reducing the oxygenation and, consequently, nutrition of the tumour; on the other hand, it might result in a remodelling of pathological vascularization, followed by an improved perfusion, leading to an increased probability of controlling the tumour's proliferation by means of ionizing radiation. This model of molecular therapy has not been introduced into clinical use due to critical questions concerning its efficacy and possible adverse effects in normal tissues [11, 12].

WPROWADZENIE

Komórki fizjologiczne w tkankach współdziałają z sąsiadującymi komórkami poprzez białka macierzy pozakomórkowej ECM (extracellular matrix), cytokiny i czynniki wzrostu.

W normalnych warunkach, w tkankach zachodzą określone interakcje pozakomórkowych czynników z komórkami, które kontrolują krytyczne funkcje takie jak szybki wzrost, różnicowanie i śmierć komórki. W guzie nowotworowym, zmiany wewnątrzkomórkowe obejmujące rozwój uszkodzeń od przednowotworowych do złośliwych, wpływają na przestrzeń pozakomórkową.

Niedawne prace dostarczyły dowodów wykazujących, że zmiany w przestrzeni pozakomórkowej, szczególnie ECM, mogą poprzedzać wewnątrzkomórkowe modyfikacje i w ten sposób przyczyniają się do inicjacji transformacji nowotworowej [1,2,3].

Postęp w biologii molekularnej i radiobiologii promieniowania jonizującego, prowadzi do lepszego zrozumienia mechanizmów wczesnych i późnych efektów leczenia. Tym samym pojawiły się możliwości badania nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych w leczeniu nowotworów.

Praca opisuje molekularne mechanizmy działania promieniowania jonizującego na tkanki guza nowotworowego.

POŚREDNIE EFEKTY DZIAŁANIA PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO NA STRUKTURY NIE ZWIĄZANE Z DNA

Opisano mechanizmy, w których zostały zidentyfikowane czynniki niekomórkowe, szczególnie modyfikujące odpowiedź guza na cytotoksyczne działanie promieniowania jonizującego lub chemioterapii [4,5].

W pierwszych przykładach użyto ludzkie monoklonalne przeciwciała lub farmakologiczne inhibitory kinazy tyrozyny, skierowane przeciw receptorowi dla naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) [6,7], przeciw receptorowi czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGFR) lub przeciw receptorowi płytkowego czynnika wzrostu (PDGFR) [8,9,10].

Chociaż EGFR jest wyrażony w komórkach pochodzenia endotelialnego, strategie anty VEGFR i anty PDGFR są uważane głównie jako podejście antyangiogenne.

Ta terapeutyczna interwencja może powodować z jednej strony, zniszczenie komórek guza przez spadek utleniania i w konsekwencji spadek odżywiania guza, z drugiej strony, mogłaby wywołać przemodelowanie patologicznego unaczynienia z konsekwencją ulepszonej perfuzji doprowadzając do wzrostu prawdopodobieństwa kontrolowania proliferacji guza przez promieniowanie jonizujące. Klinicznie ten model terapii molekularnej nie został wprowadzony z powodu krytycznych pytań odnośnie skuteczności i możliwych efektów ubocznych w tkankach normalnych [11,12].

Niewątpliwie tlen jest czynnikiem krytycznym dla efektów uszkadzających DNA wywołanych promie-

Undoubtedly, oxygen is the critical factor for DNA-damaging effects produced by ionizing radiation, therefore massive hypoxia in the majority of solid tumours seems to be an obstacle in achieving therapeutic results.

In spite of visible effects of radiotherapy, manifested in the elimination of more oxygenated cells, resulting in a remodelling of the tumour tissue, updated studies of the phenomenon are necessary in order to understand the development and diversity of tumour hypoxia as well as to identify potential genes and/or proteins for targeted therapy.

Numerous studies point to the importance of inflammatory factors, particularly cytokines, in the response to ionizing radiation [13, 14]. Many cytokines released in the irradiated organ, e.g. the tumour-necrosis factor α (TNF α), interleukins IL1 and IL6, the transforming factor TGF β [15] may, in their turn, induce the production of large quantities of reactive oxygen species (ROS) [16, 17], even on the level of the whole organism.

Moreover, recent studies have demonstrated that ionizing radiation causes leucocyte activation [14], which may lead to a respiratory burst [18], producing in consequence considerable quantities of reactive oxygen species, such as hydrogen peroxide, and inducing DNA damages. It should be reminded here that exposure to activated leucocytes causes modifications of DNA bases in target cells that are typical for those produced by hydroxyl radicals [19, 20].

Fig. 1 presents a diagram of cellular response to the effects of ionizing radiation.

THE MOLECULAR RESPONSE TO DNA DAMAGES CAUSED BY IONIZING RADIATION

A DNA damage caused by ionizing radiation induces cellular processes leading to an arrest of the cellular cycle or to apoptosis, which prevents the genome damage from being transmitted to descendant cells. Most probably, many DNA damages are repaired fairly quickly, and the paths of control points are only activated if the damage is difficult to repair or when the damage levels are much higher than normal [21, 22]. DNA double strand breaks are generally regarded as critical since they may lead to a genome reorganization in cells.

The initial sensor of this type of damage is the Ku complex, which binds and activates the DNA-Protein kinase (DNA-PK), initiating the repair processes. Another main sensor is the ataxia telangiectasia mutated kinase (ATM), activated at the site of a DNA break through phosphorylation, most probably as a consequence of local changes in chromatin structure [23].

DNA-PK or ATM activation leads to a quick and extensive phosphorylation of a certain histone protein – H2AX, which seems to perform the function of a marker for the sites of DNA double breaks by providing a structural basis for the consecutive recruitment of DNA repair proteins [24].

niowaniem jonizującym, dlatego masywne niedotlenienie w większości guzów litych wydaje się być przeszkodą w uzyskaniu efektu terapeutycznego.

Wbrew wyraźnym efektom radioterapii wyrażanych przez eliminację bardziej utlenowanych komórek i w ten sposób wywołanie przemodelowania tkanki guza, potrzebne są aktualne badania nad tym zjawiskiem, by zrozumieć rozwój i różnorodność niedotlenienia guza i zidentyfikować potencjalne geny i/lub białka dla terapii celowanej.

Wiele badań wskazuje na znaczenie czynników zapalnych przede wszystkim cytokin w odpowiedzi na działanie promieniowania jonizującego [13,14]. Z kolei wiele cytokin uwalnianych w napromienianym narządzie jak np. tumour-necrosis factor- α TNF α , interleukiny IL1 i IL6, czynnik transformujący TGF β [15] może indukować produkcję znacznych ilości reaktywnych form tlenu [16,17], również na poziomie całego organizmu.

Ponadto niedawne badania wykazały, że promieniowanie jonizujące prowadzi do aktywacji leukocytów [14], które mogą prowadzić do „wybuchu tlenowego” (ang. *respiratory burst*) [18], powodując w konsekwencji produkcję znacznych ilości reaktywnych form tlenu, takich jak nadtlenek wodoru, co jest związane z indukacją uszkodzeń DNA. W tym kontekście należy wspomnieć, że ekspozycja na aktywowane leukocyty powoduje modyfikacje zasad DNA w komórkach docelowych, typowe dla tych, wywołanych przez rodniki hydroksylowe [19,20].

Rycina 1 obrazuje schemat odpowiedzi komórkowej na działanie promieniowania jonizującego.

ODPOWIEŹ MOLEKULARNA NA USZKODZENIA DNA WYWOŁANE PROMIENIOWANIEM JONIZUJĄCYM

Uszkodzenie DNA wywołane promieniowaniem jonizującym, indukuje procesy komórkowe prowadzące do zatrzymania cyklu komórkowego lub apoptozy, zapewniając, że uszkodzenia genomu nie będą przekazane dla komórek potomnych. Prawdopodobnie wiele uszkodzeń DNA jest naprawianych dość szybko, a ścieżki punktów kontrolnych zostają uruchomione tylko w obecności uszkodzeń, które są trudne do naprawy, lub kiedy poziomy uszkodzeń są dużo większe niż normalnie [21,22]. Podwójne przerwy nici DNA (DSB) (ang. Double Strand Break) ogólnie są przyjmowane jako krytyczne, ponieważ mogą prowadzić do przeorganizowania genomu w komórkach.

Początkowy sensor takiego uszkodzenia to zespół Ku, który łączy i aktywuje kinazę DNA-Białko (ang. DNA-Protein kinase), (DNA-PK) inicjując procesy naprawy. Inny główny sensor to zmutowana kinaza ataxiatelangiectasia (kinaza ATM) (ang. ataxiatelangiectasia mutated kinase), która jest uruchomiona w miejscu przerwy DNA przez fosforylację, prawdopodobnie jako konsekwencja miejscowych zmian w strukturze chromatyny [23].

DNA-PK lub aktywacja ATM prowadzą do szybkiej i obszernej fosforylacji określonego białka histonowego

An immunocytochemical demonstration of sites with g-H2AX plays the role of a defined and sensitive marker of DNA double breaks since each double break is associated with a visible concentration of g-H2AX [25].

ATM kinase is the tumour protein 53 (TP53, also called p53), acting as a tumour suppressor because it is the main regulator of the cellular cycle control points and apoptosis after a DNA damage, and is capable of inducing DNA repair by transcribing and non-transcribing mechanisms as well as direct interactions with the repair proteins [26, 27, 28]. As p53 may cause apoptosis or an arrest of the cellular cycle, a p53-dependent genotype has a strong influence on the consequences of cellular responses and determines the basic effects of an application of radiotherapy [29].

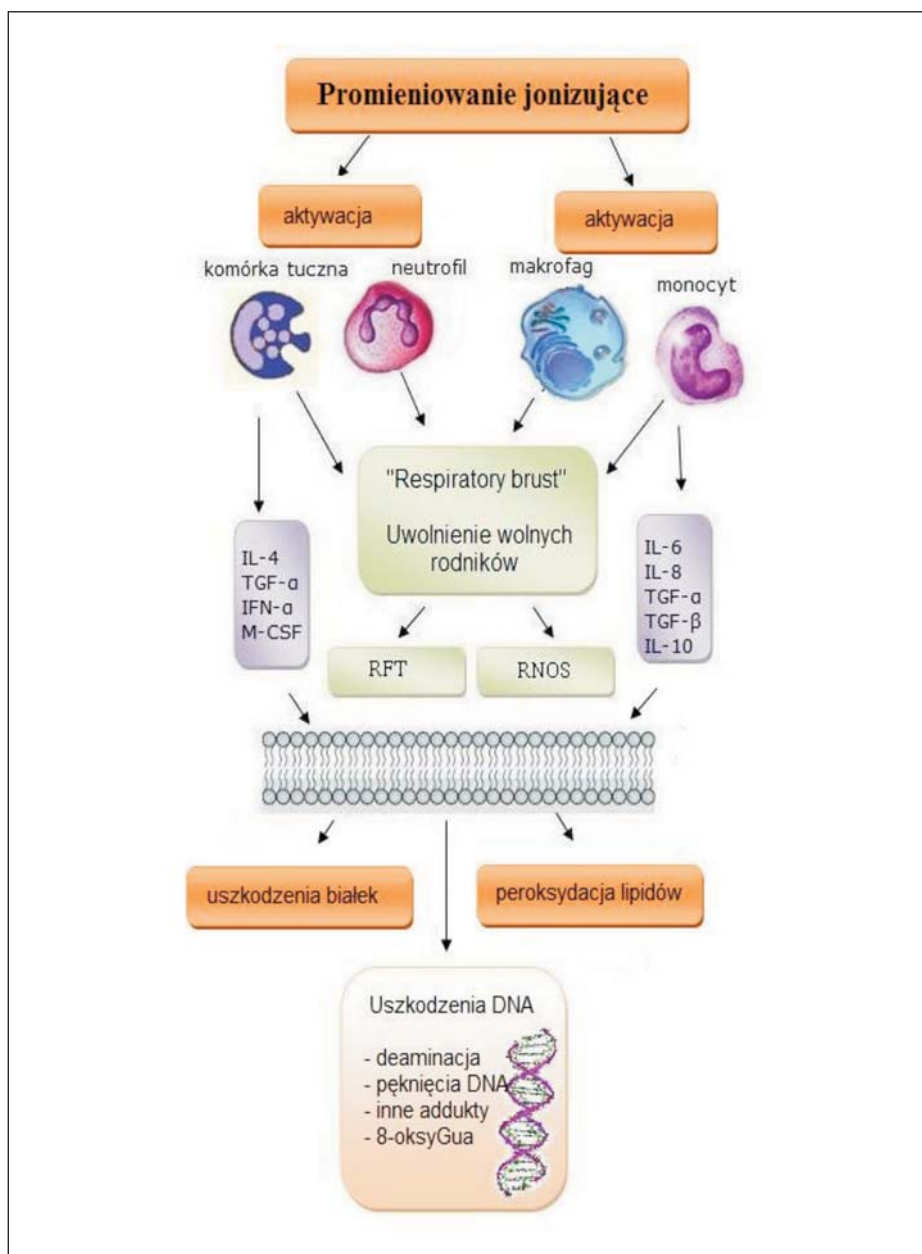
- H2AX, które wydaje się spełniać rolę markera dla miejsc podwójnych przerw DNA przez dostarczenie strukturalnej podstawy dla kolejnej rekrutacji białek naprawy DNA [24].

Immunocytochemiczna demonstracja miejsc z g-H2AX, spełnia rolę określonego i wrażliwego markera podwójnej przerwy nici DNA, ponieważ każda podwójna przerwa jest związana z widocznym skupieniem g-H2AX [25].

ATM kinaza jest nowotworowym białkiem 53 (Tumor Protein 53; TP53, również zwany p53), który działa jako supresor guza z powodu bycia głównym regulatorem punktów kontrolnych cyklu komórkowego i apoptozy po uszkodzeniu DNA, i zdolny jest do indukcji naprawy DNA przez mechanizmy transkrypcyjne i nietranskrypcyjne, jak również bezpośrednie interakcje z białkami naprawy [26,27,28]. Ponieważ p53 może wywołać apop-

Fig. 1. A diagram of cellular response to ionizing radiation. IR stimulates an activation of many cellular inflammatory processes. As a result, numerous cytokines are excreted into the intercellular space and Reactive Oxygen Species (ROS) and/or Reactive Nitrogen Species (RNS) are induced. The released free oxygen radicals cause a number of damages of DNA, proteins and lipids

Ryc. 1. Schemat obrazujący odpowiedź komórkową na działanie promieniowania jonizującego. IR stymuluje aktywację wielu komórek procesów zapalnych. W efekcie następuje wydzielanie licznych cytokin do przestrzeni międzykomórkowej i indukcja Reaktywnych Form Tlenu i/lub Azotu (RFT) i (RNOS). Uwolnione wolne rodniki tlenowe powodują szereg uszkodzeń DNA, białek i lipidów



Every cell contains a certain number of oxydating modifications of nitrogen bases. This is a manifestation of the balance between the creation of DNA-attacking ROS in the course of numerous metabolic processes and the elimination of the biomolecular damage by specific DNA-repairing enzymes. So far it has not been determined how high the endogenic level of the potentially mutagenic damages might be. At present, authors using various analytical techniques quote values ranging from 0.2 to several modifications in 10^6 of base pairs for normal cells [30, 31]. It seems, however, that the level displays strong interindividual variations [32, 33].

In a cell, there is a balance between the production of ROS, causing oxydative damages of DNA, and the repair of the damages (so called background level) [35].

An analysis of the content of oxydative DNA damages in urine may help assess the scale of repair on the level of the whole organism. High levels of oxydative DNA damages eliminated with the urine indicate an intensified level of oxydative stress; they may also reveal high efficiency of damage repair systems (the oxydative stress may be high and the repair mechanisms eliminate its effects). A combination of the background level data, specific for each patient, with an analysis of 8-oxyGua and 8-oxydG may supply clear information on the DNA repair mechanisms.

A study of the mechanisms of cellular and molecular response to ionizing radiation applied in the radiotherapy of neoplasms presents an opportunity to open new fields for targeted therapy and effective therapeutic approach to neoplastic tumours and healthy tissue in the irradiated area.

tożę lub zatrzymanie cyklu komórek, genotyp p53-zależny, ma ważny wpływ na konsekwencje odpowiedzi komórkowych i jest determinantem zasadniczych efektów prowadzonej radioterapii [29].

W każdej komórce obecna jest pewna ilość oksydacyjnych modyfikacji zasad azotowych. Jest to wyraz równowagi istniejącej między powstawaniem RFT atakujących DNA w przebiegu wielu procesów metabolicznych i usuwaniem uszkodzeń tych biomolekuł przez swoiste enzymy reperujące DNA. Nie wiadomo aktualnie jak wysoki jest endogeny poziom tych potencjalnie mutagennych uszkodzeń. Autorzy stosujący różne techniki analityczne podają obecnie wartości w zakresie od 0,2 – do kilku modyfikacji/ 10^6 par zasad dla komórek prawidłowych [30,31]. Wydaje się jednak, że poziom ten wykazuje znaczne zróżnicowanie międzyosobnicze [32,33].

W komórce występuje równowaga pomiędzy produkcją RFT, powodujących powstawanie oksydacyjnych uszkodzeń DNA, a usuwaniem tych uszkodzeń (tzw. „poziom podstawowy”, ang. *background level*) [35].

Analizując zawartości oksydacyjnych uszkodzeń DNA w moczu można ocenić skalę naprawy na poziomie całego organizmu. Wysokie poziomy wydalanych z moczem oksydacyjnych uszkodzeń DNA są wskaźnikiem nasilonego poziomu stresu oksydacyjnego, ale mogą również odzwierciedlać wysoką sprawność systemów naprawy tychże uszkodzeń (stres oksydacyjny może być wysoki, a mechanizmy naprawy usuwają jego skutki). Natomiast połączenie danych o poziomie podstawowym właściwym dla każdego pacjenta, z analizą wydalanych w moczu 8-oxyGua i 8-oksydG, może wyraźnie obrazować informacje o mechanizmach naprawy DNA.

Poznanie mechanizmów odpowiedzi komórkowej i molekularnej na promieniowanie jonizujące stosowane w radioterapii nowotworów, daje możliwości opracowania nowych obszarów dla terapii celowanej i skutecznego podejścia terapeutycznego w odniesieniu do guza nowotworowego.

References/Piśmiennictwo:

- Bissell MJ, Kenny PA, Radisky DC. Microenvironmental regulators of tissue structure and function also regulate tumor induction and progression: the role of extracellular matrix and its degrading enzymes. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 2005, 70: 343 – 356.
- Paszek MJ, Zahir N, Johnson KR, Lakins JN, Rozenberg GI, Gefen A, Reinhart-King CA, Margulies SS, Dembo M, Boettiger D, Hammer DA, Weaver VM.. Tensional homeostasis and the malignant phenotype. *Cancer Cell* 2005, 8: 241–254.
- Nelson CM, Bissell MJ. Of extracellular matrix, scaffolds, and signaling: tissue architecture regulates development, homeostasis, and cancer. *Annual Reviews of Cell and Developmental Biology* 2006, 22: 287–309.
- Damiano JS, Reed JC. CARD proteins as therapeutic targets in cancer. *Current Drug Targets* 2004, 5: 367–374.
- Milas L, Raju U, Liao Z, Ajani J. Targeting molecular determinants of tumor chemo-radioresistance. *Seminars in Oncology* 2005, 32: 78 – 81.
- Baumann M, Krause M, Zips D, Petersen C, Dittmann K, Dorr W, Rodemann HP. Molecular targeting in radiotherapy of lung cancer. *Lung Cancer* 2004, 45(Suppl 2): 187 – 197.
- Rodemann HP, Dittmann K, Toulany M. Radiation-induced EGFR-signaling and control of DNA-damage repair. *Int J Radiat Biol*, to be accepted (TRAB-2007-IJRB-0163).
- Andratschke NH, Nieder C, Price RE, Rivera B, Ang KK. Potential role of growth factors in diminishing radiation therapy neural tissue injury. *Seminars in Oncology* 2005, 32: 67 – 70.
- Lu B, Shinohara ET, Edwards E, Geng L, Hallahan DE. The use of tyrosine kinase inhibitors in modifying the response of tumor microvasculature to radiotherapy. *Technology in Cancer Research & Treatment* 2005, 4: 691 – 698.
- Gille J. Antiangiogenic cancer therapies get their act together: Current developments and future prospects of growth factor – and growth factor receptor-targeted approaches. *Experimental Dermatology* 2006, 15: 175 – 186.
- Bonner JA, Harari PM, Giralt J et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *New England Journal of Medicine* 2006, 354: 567 – 578.
- Bentzen SM, Harari PM, Bernier J. Exploitable mechanisms for combining drugs with radiation: Concepts, achievements and future directions. *Nature Clinical Practice. Oncology* 2007, 4: 172 – 180.
- Bentzen SM. Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: radiobiology meets molecular pathology. *Nature Rev Cancer* 2006, 6: 702-713.
- Okunieff P, Chen Y, Maguire DJ, Huser AK. Molecular markers of radiation-related normal tissue toxicity. *Cancer Metastasis Rev* 2008, 27(3): 363-374.
- Yingling JM, Blanchard KL, Sawyer JS. Development of TGF- α signalling inhibitors for cancer therapy. *Nature Rev Drug Discov* 2004, 3: 1011–1022.
- Rubin P, Johnston CJ, Williams JP, et al. A perpetual cascade of cytokines postirradiation leads to pulmonary fibrosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995, 33: 99-109.
- Hussain P, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. *Nature Rev Cancer* 2003, 3(4): 276-285.
- Lorimore SA, Coates PJ, Scobie GE, Milne G, Wright EG. Inflammatory-type responses after exposure to ionizing radiation in vivo: a mechanism for radiation-induced bystander effects? *Oncogene* 2001, 20(48): 7085-7095.
- Cooke MS, Olinski R, Evans MD. Does measurement of oxidative damage to DNA have clinical significance? *Clin Chim Acta* 2006, 365: 30–49.
- Kong FM, Ao X, Wang L, Lawrence TS The use of blood biomarkers to predict radiation lung toxicity: a potential strategy to individualize thoracic radiation therapy. *Cancer Control* 2008, 15(2):140-150.
- Coates PJ, Lorimore SA, Wright EG. Cell and tissue responses to genotoxic stress. *Journal of Pathology* 2005, 205: 221 –235.
- Jeggio PA, Lobrich M. Contribution of DNA repair and cell cycle checkpoint arrest to the maintenance of genomic stability. *DNA Repair (Amsterdam)* 2005, 5: 1192 – 1198.
- Bakkenist CJ, Kastan MB. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature* 2003, 421: 499 – 506.
- Stiff T, O'Driscoll M, Rief N, Iwabuchi K, Lobrich M, Jeggio PA. ATM and DNA-PK function redundantly to phosphorylate H2AX after exposure to ionizing radiation. *Cancer Research* 2004, 64: 2390 – 2396.
- Sedelnikova OA, Rogakou EP, Panyutin IG, Bonner WM. Quantitative detection of (125)IdU-induced DNA doublestrand breaks with gamma-H2AX antibody. *Radiation Research*2002, 158: 486 – 492.
- Carbone R, Pearson M, Minucci S, Pelicci PG. PML NBs associate with the hMre11 complex and p53 at sites of irradiation induced DNA damage. *Oncogene* 2002, 21: 1633 –1640.
- Linke SP, Sengupta S, Khabie N, Jeffries BA, Buchhop S, Miska S, Henning W, Pedoux R, Wang XW, Hofseth LJ, et al. p53 interacts with hRAD51 and hRAD54, and directly modulates homologous recombination. *Cancer Research* 2003, 63: 2596 – 2605.
- Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature* 2000, 408: 307 – 310.
- Coates PJ, Lorimore SA, Lindsay KJ, Wright EG. Tissue-specific p53 responses to ionizing radiation and their genetic modification: the key to tissue-specific tumour susceptibility? *Journal of Pathology* 2003, 201: 377 – 388.
- Jaruga P, Speina E, Gackowski D, Tudek B, Oliński R. Endogenous oxidative DNA base modifications analysed with repair enzymes and GC/MS technique. *Nucleic Acids Res* 2000, 28: e16.
- ESCODD, Gedik CM, Collins A. Establishing the background level of base oxidation in human lymphocyte DNA: results of an interlaboratory validation study. *FASEB J* 2005, 19: 82-84.
- Collins A, Gedik CM, Olmedilla B, Southon S, Bellizzi M. Oxidative DNA damage measured in human lymphocytes: large differences between sexes and between countries, and correlations with heart disease mortality rates. *FASEB J* 1998, 12: 1397-1400.
- Maynard S, Schurman SH, Harboe C, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis* 2009, 30(1): 2-10.
- Cooke MS, Olinski R, Loft S. Measurement and Meaning of Oxidatively Modified DNA Lesions in Urine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008, 17(1): 3-14.