DOI: 10.21870/0131-3878-2020-29-3-106-117

УДК 615.832.8+612.014.482+612.014.463].001.57:615.015.21

Выявление общих закономерностей и математическое прогнозирование синергического взаимодействия гипертермии с ионизирующим излучением или солями тяжёлых металлов

Толкаева М.С., Белкина С.В., Воробей О.А., Жураковская Г.П., Петин В.Г.

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск

Одним из направлений лечения онкологических заболеваний является использование гипертермии в комбинации с ионизирующим излучением или лекарственными препаратами. В состав некоторых активно используемых препаратов входят тяжёлые металлы. Однако изучение их синергического взаимодействия с гипертермией носят фрагментарный характер. С целью выявления общих закономерностей проявления синергических эффектов при одновременном действии гипертермии с ионизирующим излучением или солями тяжёлых металлов (сульфат цинка, сульфат меди, цисплатин, йодид свинца, дихромат калия) на выживаемость бактериофага, спор бактерий, бактериальных клеток и дрожжевых клеток, а также клеток млекопитающих использовали математическую модель синергизма. В соответствии с моделью синергизм обусловлен образованием дополнительных летальных повреждений за счёт взаимодействия субповреждений, инициируемых каждым из агентов, участвующих в комбинации, и не являющихся эффективными при раздельном их применении. Для всех проанализированных случаев взаимодействия гипертермии с ионизирующим излучением или солями тяжёлых металлов продемонстрировано существование оптимальной температуры, при которой регистрируется максимальное значение коэффициента синергического взаимодействия. Знание и учёт описанных в данной работе идей и общих закономерностей синергических эффектов будут полезными для специалистов, использующих сочетание гипертермии с физическими или химическими агентами, включая тяжёлые металлы, в различных практических направлениях радиологии, в частности, для оптимизации комбинированных методов лечения опухолей.

Ключевые слова: *комбинированное действие, гипертермия, ионизирующее излучение, тяжёлые металлы, синергизм, бактериофаг, бактерии, дрожжевые клетки, клетки млекопитающих, математическая модель, субповреждения, прогнозирование.*

Введение

Комбинированное применение различных физических агентов с химическими соединениями является отличительной чертой современной медицины [1-3]. При этом во многих случаях наблюдается синергическое взаимодействие, когда регистрируемый эффект применения двух агентов больше независимой суммы эффектов от каждого агента. Здесь важным является термин «независимая сумма», который определяется не простым сложением эффектов, а в соответствии с теорией вероятности – вероятность суммарного биологического эффекта равна произведению вероятностей эффектов от каждого агента [4]. Использование синергических эффектов комбинированного применения гипертермии с ионизирующим излучением или химическими агентами в медицине позволяет уменьшить радиационную дозу или концентрацию лекарственного препарата, чтобы достичь того же самого медицинского эффекта [5]. В работах [6, 7] описана разработанная математическая модель синергизма, позволяющая описывать и предсказывать максимальное синергическое взаимодействие одновременного применения гипертермии с ионизирующим излучением, УФ-светом, ультразвуком, СВЧ-излучением и многими хи-

Толкаева М.С.* – инженер по охране окружающей среды (эколог); Белкина С.В. – зав. лаб., к.б.н.; Воробей О.А. – мл. научн. сотр.; Жураковская Г.П. – вед. научн. сотр., д.б.н.; Петин В.Г. – гл. научн. сотр., д.б.н., проф. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

*Контакты: 249035, Калужская обл., Обнинск, ул. Королёва, 4. Тел: 8(484) 399-32-97 (доп. 70-08); e-mail: marya.tolkaeva@yandex.ru.

мическими соединениями. Одним из направлений лечения онкологических заболеваний является использование гипертермии в комбинации с ионизирующим излучением или лекарственными препаратами [8]. В состав некоторых активно используемых препаратов входят тяжёлые металлы [9, 10]. Однако изучение их синергического взаимодействия с ионизирующим излучением или гипертермией носят фрагментарный характер. Следовательно, выявление общих закономерностей и математическое прогнозирование синергического взаимодействия гипертермии с ионизирующим излучением или солями тяжёлых металлов представляет собой актуальную задачу.

Материалы и методы

Биологические объекты и методы исследования. В данном исследовании использованы следующие биологические объекты – бактериофаг Т4, споры бактерий *Bacillus subtilis*, бактериальные клетки *E. coli* (штамм B/r), диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS800), клетки китайского хомячка CHO. При одновременном терморadiационном воздействии в качестве ионизирующего излучения использовали γ -кванты ^{60}Co при мощностях дозы 5,1 Гр/мин и температурах 23–65 °С (бактериофаг), 1,4 Гр/мин и температурах 60–105 °С (споры бактерий), 10,8 Гр/мин и температурах 45–60 °С (дрожжевые клетки) и рентгеновское излучение (250 кВ) при мощности дозы 0,12 Гр/мин и температурах 37–43 °С (клетки млекопитающих). Для выявления общих закономерностей проявления синергических эффектов изучены взаимодействия одновременного применения гипертермии (37–60 °С) с различными солями тяжёлых металлов. В опытах использованы следующие растворы солей тяжёлых металлов – сульфат цинка ZnSO_4 0,01 М, сульфат меди CuSO_4 20 мкг/мл; цисплатин цисдиаминдихлорплатина $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, концентрация составляла 3 и 12 мкМ, а также 0,25 мг/мл; йодид свинца PbI_2 2,5 мг/мл; дихромат калия $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 5 мг/мл. По окончании раздельного применения гипертермии, ионизирующего излучения, химических препаратов и одновременного комбинированного воздействия гипертермии с ионизирующим излучением или различными солями тяжёлых металлов клетки высевали на чашки Петри с твёрдой питательной средой так, чтобы образовывались 150–200 колоний после 24-часовой инкубации бактерий при 37 °С и 3–5 суточной инкубации дрожжевых клеток при 30 °С. Выживаемость клеток оценивали отношением колоний, сформированных при воздействии разных факторов к числу колоний, образованных в контроле. Для демонстрации общности выявленных закономерностей в работе использованы экспериментальные данные, полученные другими авторами для бактериофага [11], спор бактерий [12] и клеток млекопитающих [13, 14]. Используя результаты этих работ, мы провели количественную оценку синергического взаимодействия этих агентов, сами авторы процитированных работ такую оценку не проводили. Все экспериментальные серии собственных исследований повторяли 3–5 раз. Результаты представлены в виде среднего значения и его стандартной ошибки. Следует отметить, что некоторые фрагменты описываемых результатов были опубликованы ранее [8, 15, 16], но в полном обобщённом виде они представляются впервые.

Математическая модель синергизма. Эта модель ранее описана для количественной оценки и прогнозирования эффектов синергизма различных факторов окружающей среды [6, 7, 17]. В случае синергического взаимодействия воздействующих факторов суммарное число индуцируемых повреждений больше ожидаемой суммы, определяемой простым сложением эффектов от каждого агента. Предполагается, что дополнительные повреждения при комбинированных воздействиях образуются благодаря взаимодействию субповреждений, индуцирован-

ных каждым из факторов в отдельности. Причем, эти субповреждения не являются эффективными при раздельном применении воздействующих факторов [17]. В соответствии с моделью, каждому эффективному повреждению, которое вызывает действие ионизирующего излучения или солей тяжёлых металлов, соответствует p_1 субповреждений. Аналогично, второй параметр p_2 – число субповреждений, индуцированных на одно эффективное повреждение от гипертермии. Тогда, если принять, что число эффективных (например, летальных) повреждений от ионизирующего излучения или тяжёлых металлов составляет N_1 , а гипертермией – N_2 , то общее число субповреждений, образованных первым фактором, будет равно $p_1 N_1$, а вторым – $p_2 N_2$. Тогда, дополнительное число эффективных повреждений N_3 будет определяться выражением:

$$N_3 = \min \{ p_1 N_1; p_2 N_2 \}. \quad (1)$$

Коэффициент синергического усиления k , показывающий отношение числа эффективных повреждений в случае комбинированных воздействий к числу повреждений, ожидаемых при независимом сложении повреждений, сформированных каждым агентом, может быть записан как:

$$k = \frac{N_1 + N_2 + \min \{ p_1 N_1; p_2 N_2 \}}{N_1 + N_2} = 1 + \frac{\min \{ p_1; p_2 N_2 / N_1 \}}{1 + N_2 / N_1}. \quad (2)$$

Если $p_1 N_1 < p_2 N_2$, т.е. клетки гибнут преимущественно от действия гипертермии, то $\min \{ p_1 N_1; p_2 N_2 \} = p_1 N_1$, тогда из уравнения (2) получаем:

$$k_1 = 1 + \frac{p_1}{1 + N_2 / N_1}. \quad (3)$$

Отсюда

$$p_1 = (k_1 - 1) \cdot (1 + N_2 / N_1). \quad (4)$$

Аналогично, если клетки гибнут главным образом от действия первого фактора, т.е. $p_1 N_1 > p_2 N_2$ и $\min \{ p_1 N_1; p_2 N_2 \} = p_2 N_2$, получаем:

$$p_2 = (k_2 - 1) \cdot (1 + N_1 / N_2). \quad (5)$$

Было получено [15] условие достижения максимального синергического взаимодействия:

$$p_1 N_1 = p_2 N_2. \quad (6)$$

Это означает, что максимальный синергический эффект достигается, когда оба агента формируют равные числа субповреждений. Уравнение (9) может быть переписано в виде:

$$N_2 / N_1 = p_1 / p_2. \quad (7)$$

Отношение N_2/N_1 можно оценить из отношения наклонов кривых выживаемости после действия ионизирующего излучения или солей тяжёлых металлов ($1/t_{01}$) и гипертермии ($1/t_{02}$), где t_{01} и t_{02} – продолжительности раздельного действия этих факторов, снижающие выживаемость клеток в e раз (e – основание натуральных логарифмов) на экспоненциальных участках кривых выживаемости. Уравнение (6) детерминируют условия достижения максимального синергического взаимодействия. Принимая во внимание уравнения (2) и (6), значение максимального коэффициента синергического усиления может быть представлено в виде:

$$k_{max} = 1 + \frac{p_1 \cdot p_2}{p_1 + p_2}. \quad (8)$$

Как видно из этого уравнения, k_{max} полностью определяется величинами p_1 и p_2 и не зависит от N_1 и N_2 . Таким образом можно прогнозировать максимальную величину синергического эффекта (уравнение (8)) и соотношение N_2/N_1 (уравнение (7)), при котором оно достигается.

Тяжёлые металлы, как микроэлементы, постоянно встречаются в почве, воде, растениях и организмах животных и человека; некоторые из них входят в состав лекарственных средств [1, 5]. Однако синергическое взаимодействие тяжёлых металлов с другими факторами окружающей среды практически не изучено. Поэтому цель работы заключалась в использовании математической модели синергизма для выявления общих закономерностей проявления синергических эффектов при одновременном действии гипертермии с ионизирующим излучением или солями тяжёлых металлов на выживаемость клеток различного происхождения, в частности, бактерифага Т4.

Результаты

На рис. 1 представлены экспериментальные кривые выживаемости диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* (А) и *Endomyces magnusii* (Б) после раздельного действия гипертермии и ультразвука (А) или ионизирующего излучения (Б), а также после одновременного применения этих агентов. В первом примере все кривые выживаемости экспоненциальны, во втором – сигмоидные. Здесь же представлены теоретические кривые, ожидаемые при независимом сложении эффектов от каждого агента. Чтобы оценить синергический эффект, мы использовали коэффициент синергического усиления k [6, 7], определяемый (рис. 1) как:

$$k = t_2 / t_1 = D_2 / D_1. \quad (9)$$

Рис. 1. Кривые выживаемости диплоидных дрожжевых клеток (А – *Saccharomyces cerevisiae* штамм XS800, Б – *Endomyces magnusii* штамм K7).

Кривые 1 – действие одной гипертермии (А – 48 °С, Б – 40 °С); кривые 2 – действие другого инактивирующего агента при комнатной температуре (А – 20 кГц ультразвук, 0,05 Вт/см², Б – γ-кванты ⁶⁰Со, 10 Гр/мин); кривые 3 – ожидаемые кривые выживаемости, рассчитанные для независимого действия использованных агентов; кривые 4 – экспериментальные кривые выживаемости после одновременного применения использованных агентов.

Уравнение (9) показывает, что коэффициент синергического усиления определяется отношением продолжительностей воздействия на теоретической кривой выживаемости, ожидаемой при независимом сложении эффектов от каждого агента, к соответствующей продолжительности воздействия, оцененной по экспериментальной кривой выживаемости, полученной после одновременного применения используемых агентов. Фактически этот коэффициент показывает, во сколько раз эффект усилился по сравнению с независимым сложением эффектов от каждого агента. Приведённые на рис. 1 четыре вида кривых выживаемости были получены во всех ниже описываемых экспериментах для расчёта зависимости коэффициента синергического усиления k от соотношения повреждений N_2/N_1 .

На рис. 2 изображена такая зависимость после одновременного терморadiационного воздействия на бактериофаг Т4 (А), споры бактерий *Bacillus subtilis* (Б), диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* дикого типа (В) и клетки китайского хомячка CHO (Г).

Рис. 2. Экспериментально полученные (кружки) и теоретически предсказанные на основе математической модели (сплошные линии) зависимости коэффициента синергического усиления от отношения N_2/N_1 после одновременного действия гипертермии с ионизирующим излучением: А – бактериофаг Т4, Б – споры бактерий *Bacillus subtilis*, В – диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae*, штамм XS800, Г – клетки китайского хомячка CHO.

Отношение числа повреждений, индуцируемых гипертермией и ионизирующим излучением (N_2/N_1), рассчитывали по уравнению (7). Значения коэффициента синергического усиления (k), ожидаемого на основании математической модели, рассчитывали по уравнению (2). Значения параметров p_1 и p_2 определены с помощью уравнений (4) и (5) с использованием экспериментальных данных, удовлетворяющих соответственно условиям $p_1 N_1 < p_2 N_2$ и $p_1 N_1 > p_2 N_2$, которые оценивали эмпирически для каждой конкретной комбинации агентов. Сплошные линии на рис. 2 и последующих рисунках рассчитаны на основе рассмотренной модели (уравнение (2)), а столбиками или значками обозначены экспериментальные данные. Сопоставление эксперимен-

тальных и теоретически ожидаемых значений коэффициентов синергического усиления (рис. 2) показывает, что с учётом возможных экспериментальных погрешностей математическая модель хорошо описывает одновременное действие температурного агента и ионизирующего излучения на бактериофаг, споры бактерий, дрожжевые клетки и культивируемые клетки млекопитающих. В соответствии с уравнением (8) максимальные значения коэффициентов синергического усиления для фагов, бактериальных спор, дрожжевых клеток и клеток млекопитающих, равные соответственно 2,0, 2,4, 2,36 и 2,6, должны наблюдаться при N_2/N_1 , равным 1,4; 0,5; 0,6 и 0,29, что также соответствует экспериментальным результатам (рис. 2). Видно также, что синергический эффект уменьшается при любом отклонении отношения N_2/N_1 от оптимального значения.

На рис. 3 приведены экспериментально полученные (столбики и кружки) и теоретически предсказанные на основе математической модели (сплошные линии) зависимости коэффициента синергического усиления от применяемой температуры (А, В) и отношения N_2/N_1 (Б, Г) после одновременного действия гипертермии с сульфатом цинка на бактериальные клетки *Escherichia coli* (А, Б) и с сульфатом меди на дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* XS800 (В, Г).

Рис. 3. Экспериментально полученные (столбики и кружки) и теоретически предсказанные на основе математической модели (сплошные линии) зависимости коэффициента синергического усиления от применяемой температуры (А, В) и отношения N_2/N_1 (Б, Г) после одновременного действия гипертермии с сульфатом цинка на бактериальные клетки *Escherichia coli* (А, Б) и с сульфатом меди на диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* XS800 (В, Г).

На рис. 4 приведены экспериментальные значения коэффициента синергического усиления (кружки) и теоретически рассчитанные кривые зависимости этого коэффициента от отношения N_2/N_1 после одновременного действия гипертермии с цисплатином 3 мкМ (А) и 12 мкМ (Б) на выживаемость культивируемых клеток китайского хомячка (СНО). На рис. 5 приведены аналогичные экспериментальные значения коэффициента синергического усиления (кружки) и

теоретически рассчитанные кривые зависимости этого коэффициента от отношения N_2/N_1 после одновременного действия гипертермии с дихроматом калия (А), йодидом свинца (панель Б) или цисплатином (В) на выживаемость диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*.

Рис. 4. Экспериментально полученные (значки) и теоретически предсказываемые (сплошные линии) зависимости коэффициента синергического усиления от отношения N_2/N_1 после одновременного действия гипертермии и цисплатина (А – 3 мкМ, Б – 12 мкМ) на выживаемость клеток китайского хомячка CHO.

Рис. 5. Экспериментально полученные (значки) и теоретически предсказываемые (сплошные линии) зависимости коэффициента синергического усиления от отношения N_2/N_1 после одновременного действия гипертермии с дихроматом калия (А), йодидом свинца (Б) и цисплатином (В) на диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae*, штамм XS800.

Видно, что во всех случаях теоретические кривые достаточно хорошо описывают экспериментальные результаты. Наблюдавшиеся максимумы коэффициента синергического усиления регистрируются при определённой температуре или определённом значении N_2/N_1 . Любое отклонение этих параметров от оптимальных приводило к снижению эффективности синергического взаимодействия.

Обсуждение

В данной работе полуэмпирическая математическая модель применена для выявления общих закономерностей феномена синергизма, описания и прогнозирования максимального синергического взаимодействия гипертермии с ионизирующим излучением или солями тяжёлых металлов. Модель основана на предположении, что синергизм обусловлен формированием

дополнительных эффективных повреждений за счёт взаимодействия некоторых субповреждений, неэффективных при раздельном применении агентов [17]. Молекулярная природа этих субповреждений может быть различной для различных биологических объектов и агентов, использованных в работе, поэтому этот вопрос в работе не обсуждается. Достоинством модели является использование безразмерного параметра N_2/N_1 – отношение эффективных повреждений, индуцированных гипертермией и ионизирующим излучением (или солями тяжёлых металлов), которое может быть определено в эксперименте (уравнение (7)). Чтобы оценить основные параметры модели p_1 и p_2 , мы использовали экспериментальные значения коэффициентов синергического усиления k_1 и k_2 (уравнения (4) и (5)). Это означает, что модель учитывает реальные повреждения, ответственные за синергические взаимодействия.

Для демонстрации общих закономерностей проявления синергизма изучено одновременное действие гипертермии с ионизирующим излучением или солями тяжёлых металлов (сульфат цинка, сульфат меди, дихромат калия, йодид свинца, цисплатин), некоторые из которых уже широко применяются в медицинской радиологии для лечения опухолей [9, 10], на биологические объекты различного происхождения. Результаты, представленные в работе, подтверждают ранее описанные закономерности синергического взаимодействия гипертермии с ионизирующим излучением, УФ-светом, ультразвуком или неионизирующим электромагнитным излучением СВЧ диапазона [7, 8, 16, 17], что указывает на всеобщую значимость основных закономерностей проявления синергизма независимо от использованных биологических объектов и инактивирующих агентов, применённых в сочетании с гипертермией. Используемая математическая модель успешно описывает наблюдавшиеся закономерности, предсказывает величину максимального синергизма и значение N_2/N_1 , при котором он наблюдается, что является принципиально важным для оптимизации комбинированных воздействий в различных прикладных аспектах радиобиологии, включая лучевую терапию и оценку рисков.

Проанализируем возможную интерпретацию полученных результатов с точки зрения описанной математической модели синергического взаимодействия гипертермии с физическими или химическими агентами. При относительно небольшой температуре и постоянной мощности дозы ионизирующего излучения или концентрации солей тяжёлых металлов количество эффективных термических повреждений и соответствующее количество субповреждений, ответственных за синергизм, невелико и гибель клеток в основном обусловлена действием ионизирующего излучения или солей тяжёлых металлов. Дальнейшее увеличение температуры приводит к увеличению количества термических повреждений и соответствующих им субповреждений, что приводит к увеличению синергического эффекта. Это увеличение продолжается до тех пор, пока не будет достигнут максимальный синергетический эффект. Дальнейшее увеличение температуры приводит к уменьшению эффективности синергизма за счёт продолжающегося увеличения термических повреждений и уменьшения количества субповреждений от ионизирующего излучения или солей тяжёлых металлов, которое в этом случае и детерминируют снижение синергического эффекта (уравнение (1)). Это уменьшение происходит из-за короткой продолжительности действия за счёт высокой температуры. Такая закономерность как раз и свидетельствует о существовании оптимальной температуры, при которой наблюдается максимальный синергизм и наличие определённого температурного диапазона, внутри которого происходит синергетическое взаимодействие.

В работах [15, 16] проанализирована зависимость синергизма от мощности дозы ионизирующего излучения, интенсивности УФ-света или ультразвука, а также от концентрации некоторых химических агентов с точки зрения потенциальной значимости синергизма для естественных интенсивностей физических факторов или концентраций химических поллютантов. Сделан вывод, что чем меньше интенсивность одного из агентов, тем при меньшей интенсивности другого фактора может регистрироваться максимальный коэффициент синергического усиления. Этот вывод указывает на принципиальную возможность синергического взаимодействия вредных факторов при естественных интенсивностях, встречающихся в биосфере. Такая закономерность продемонстрирована и в настоящей работе (рис. 4) при одновременном комбинированном воздействии гипертермии и цисплатина (3 и 12 мкМ). Попробуем интерпретировать эту закономерность с точки зрения описанной математической модели синергизма.

При действии химических агентов дозой может служить продолжительность действия, аналогом же интенсивности будет концентрация химических препаратов. Действительно, с ростом продолжительности их действия увеличивается число формируемых ими повреждений, а изменение концентрации препаратов изменяет скорость их формирования. Тогда можно ожидать, что уменьшение или увеличение концентрации, например цисплатина, должно сопровождаться соответствующим уменьшением или увеличением действующей температуры или отношения N_2/N_1 для сохранения максимального синергического эффекта, что и наблюдалось в данной работе (рис. 3).

В заключение отметим, что знание и учёт описанных в данной работе идей и общих закономерностей синергических эффектов будут полезными для специалистов, использующих сочетание гипертермии с физическими или химическими агентами, включая тяжёлые металлы, в различных практических направлениях радиологии, в частности для оптимизации комбинированных методов лечения опухолей.

Литература

1. **Ярмоненко С.П., Коноплянников А.Г., Вайнсон А.А.** Клиническая радиобиология. М.: Медицина, 1992. 320 с.
2. **Каприн А.Д., Галкин В.Н., Жаворонков Л.П., Иванов В.К., Иванов С.А., Романко Ю.С.** Синтез фундаментальных и прикладных исследований – основа обеспечения высокого уровня научных результатов и внедрения их в медицинскую практику //Радиация и риск. 2017. Т. 26, № 2. С. 26-40.
3. **Hall E.J., Giaccia A.J.** Radiobiology for the radiologist. Lippincott: Williams & Wilkins, 2011. 576 p.
4. **Васина М.В., Васин А.А., Манохин Е.В.** Теория вероятности и математическая статистика. М.: Прометей, 2018. 160 с.
5. Basic Clinical Radiobiology /Eds.: M. Joiner, A. van der Kogel. London: Edward Arnold, 2009. 375 p.
6. **Петин В.Г., Жураковская Г.П., Комарова Л.Н.** Радиобиологические основы синергического взаимодействия в биосфере. М.: ГЕОС, 2012. 219 с.
7. **Petin V.G., Kim J.K.** Synergistic Interaction and Cell Responses to Environmental Factors. New York: Nova Sciences Publisher, 2016. 337 p.
8. **Белкина С.В., Воробей О.В., Бабина Д.Д., Переклад О.В., Карпов А.А., Шегай П.В., Иванов С.А., Каприн А.Д.** Применение гипертермии в комплексном лечении онкологических больных. Свидетельство о регистрации базы данных RU 2019621329 от 19.07.2019.
9. **Bica L., Meyerowitz J., Parker S.J., Caragounis A., Du T., Paterson B.M., Barnham K.J., Crouch P.J., White A.R., Donnelly P.S.** Cell cycle arrest in cultured neuroblastoma cells exposed to a bis(thiosemicarbazonato) metal complex //Biomaterials. 2011. V. 24, N 1. P. 117-133.
10. **Ceresa C., Bravin A., Cavaletti G., Pellei M., Santini C.** The combined therapeutical effect of metal-based drugs and radiation therapy: the present status of research //Curr. Med. Chem. 2014. V. 21, N 20. P. 2237-2265.
11. **Trujillo R., Dugan V.L.** Synergistic inactivation of viruses by heat and ionizing radiation //Biophys. J. 1972. V. 12, N 2. P. 92-113.
12. **Brannen J.P.** A temperature- and dose rate-dependent model for the kinetics of cellular response to ionising radiation //Radiat. Res. 1975. V. 62, N 3. P. 379-387.
13. **Ben-Hur E.** Mechanisms of the synergistic interaction between hyperthermia and radiation in cultured mammalian cells //J. Radiat. Res. 1976. V. 17, N 2. P. 92-98.
14. **Urano M., Kahn J., Majima H., Gerweck L.E.** The cytotoxic effect of cis-diamminedichloroplatinum (II) on cultured Chinese hamster ovary cells at elevated temperatures: Arrhenius plot analysis //Int. J. Hyperthermia. 1990. V. 6, N 3. P. 581-590.
15. **Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Kim J.K.** Synergetic effects of different pollutants and equidosimetry //Equidosimetry – Ecological Standardization and Equidosimetry for Radioecology and Environmental Ecology /Eds.: F. Bréchinac, G. Desmet. Dordrecht: Springer, 2005. P. 207-222.
16. **Evstratova E.S., Petin V.G., Zhurakovskaya G.P.** Synergistic effects and their potential significance for the influence of natural intensities of environmental factors on cell growth //Synergy. 2018. V. 6, N 1. P. 1-8.
17. **Petin V.G., Komarov V.P.** Mathematical description of synergistic interaction of hyperthermia and ionizing radiation //Mathem. Biosci. 1997. V. 146, N 2. P. 115-130.

Identification of general patterns and mathematical prediction of the synergistic interaction of hyperthermia with ionizing radiation or salts of heavy metals

Tolkaeva M.S., Belkina S.V., Vorobey O.A., Zhurakovskaya G.P., Petin V.G.

A. Tsyb MRRC, Obninsk

One of the directions in cancer treatment is the use of hyperthermia in combination with ionizing radiation or drugs. Some of the active drugs used include heavy metals. However, the study of their synergistic interaction with hyperthermia is fragmentary. The purpose of our study is to apply the mathematical model of synergism to identify common patterns of manifestation of synergistic effects at the simultaneous action of hyperthermia with ionizing radiation or salts of heavy metals on the survival of biological objects of various origins. In the experiments, biological objects of various origins were used - bacteriophages, bacterial spores, bacterial cells, diploid yeast cells and mammalian cells. To demonstrate the generality of the revealed patterns, we used the data on the survival rate of Chinese hamster cells published by other authors. To quantify the synergistic enhancement ratio, cell survival was determined after individual effects of hyperthermia, ionizing radiation, one of the heavy metals and their simultaneous action. The following salts of heavy metals were used – zinc sulfate, copper sulfate, cisplatin, lead iodide, and potassium dichromate. The results obtained are described and interpreted using the mathematical model of synergism, according to which the synergism is caused by the formation of additional effective damage due to the interaction of sublesions from each agent, which are not effective when they are used individually. For all analyzed cases of the hyperthermia interaction with ionizing radiation or heavy metals, the existence of an optimum temperature is demonstrated at which the greatest value of the synergistic enhancement ratio is recorded. The knowledge and consideration of the ideas described in this paper and the general patterns of synergistic effects will be useful for specialists using a combination of hyperthermia with physical or chemical agents, including heavy metals, in various practical areas of radiology, in particular for optimizing combined tumor treatment methods.

Key words: combined action, hyperthermia, ionizing radiation, heavy metals, synergism, bacteriophage, bacteria, yeast cells, mammalian cells, mathematical model, sublesions, prediction.

References

1. Yarmonenko S.P., Konoplyannikov A.G., Vaynson A.A. Klinicheskaya radiobiologiya [Clinical Radiobiology]. Moscow, Meditsina, 1992. 320 p.
2. Kaprin A.D., Galkin V.N., Zhavoronov L.P., Ivanov V.K., Ivanov S.A., Romanko Yu.S. The synthesis of fundamental and applied research is the basis for ensuring a high level of scientific results and their implementation in medical practice. *Radiatsiya i risk – Radiation and Risk*, 2017, vol. 26, no. 2, pp. 26-40. (In Russian).
3. Hall E.J., Giaccia A.J. *Radiobiology for the Radiologist*. Lippincott, Williams & Wilkins, 2011. 576 p.
4. Vasina M.V., Vasin A.A., Manokhin E.V. Teoriya veroyatnosti i matematicheskaya statistika [Probability Theory and Mathematical Statistic]. Moscow, Prometey, 2018. 160 p.
5. *Basic Clinical Radiobiology*. Eds.: M. Joiner, A. van der Kogel. London, Edward Arnold, 2009. 375 p.
6. Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Komarova L.N. Radiobiologicheskiye osnovy sinergicheskogo vzaimodeystviya v biosfere [Radiobiological basis of synergistic interaction in the biosphere]. Moscow, GEOS, 2012. 219 p.
7. Petin V.G., Kim J.K. Synergistic Interaction and Cell Responses to Environmental Factors. New York, Nova Sciences Publisher, 2016. 337 p.
8. Belkina S.V., Vorobey O.V., Babina D.D., Pereklad O.V., Karpov A.A., Shegay P.V., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Primeneniye gipertermii v kompleksnom lechenii onkologicheskikh bol'nykh. Svidetel'stvo o registratsii

Tolkaeva M.S.* – Environmental Engineer (Ecologist); Belkina S.V. – Head of Lab., C. Sc., Biol.; Vorobey O.A. – Junior Researcher; Zhurakovskaya G.P. – Lead. Researcher, D. Sc., Biol.; Petin V.G. – Chief Researcher, D. Sc., Biol., Prof. A. Tsyb MRRC.

*Contacts: 4 Korolyov str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249035. Tel.: (484) 399-32-97; e-mail: marya.tolkaeva@yandex.ru.

- bazy dannykh [The application of hyperthermia in the complex treatment of cancer patients. Database Registration Certificate]. RU 2019621329 from 19.07.2019.
9. **Bica L., Meyerowitz J., Parker S.J., Caragounis A., Du T., Paterson B.M., Barnham K.J., Crouch P.J., White A.R., Donnelly P.S.** Cell cycle arrest in cultured neuroblastoma cells exposed to a bis(thiosemicarbazonato) metal complex. *Biometals*, 2011, vol. 24, no. 1, pp. 117-133.
 10. **Ceresa C., Bravin A., Cavaletti G., Pellei M., Santini C.** The combined therapeutical effect of metal-based drugs and radiation therapy: the present status of research. *Cur. Med. Chem.*, 2014, vol. 21, no. 20, pp. 2237-2265.
 11. **Trujillo R., Dugan V.L.** Synergistic inactivation of viruses by heat and ionizing radiation. *Biophysical J.*, 1972, vol. 12, no. 2, pp. 92-113.
 12. **Brannen J.P.** A temperature- and dose rate-dependent model for the kinetics of cellular response to ionising radiation. *Radiat. Res.*, 1975, vol. 62, no. 3, pp. 379-387.
 13. **Ben-Hur E.** Mechanisms of the synergistic interaction between hyperthermia and radiation in cultured mammalian cells. *J. Radiat. Res.*, 1976, vol. 17, no. 2, pp. 92-98.
 14. **Urano M., Kahn J., Majima H., Gerweck L.E.** The cytotoxic effect of cis-diamminedichloroplatinum (II) on cultured Chinese hamster ovary cells at elevated temperatures: Arrhenius plot analysis. *Int. J. Hyperthermia*, 1990, vol. 6, no. 3, pp. 581-590.
 15. **Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Kim J.K.** Synergetic effects of different pollutants and equidosimetry. Eds.: F. Bréchnignac, G. Desmet. *Equidosimetry – Ecological Standardization and Equidosimetry for Radioecology and Environmental Ecology*. Dordrecht, Springer, 2005, pp. 207-222.
 16. **Evstratova E.S., Petin V.G., Zhurakovskaya G.P.** Synergistic effects and their potential significance for the influence of natural intensities of environmental factors on cell growth. *Synergy*, 2018, vol. 6, no. 1, pp. 1-8.
 17. **Petin V.G., Komarov V.P.** Mathematical description of synergistic interaction of hyperthermia and ionizing radiation. *Mathem. Biosci.*, 1997, vol. 146, no. 2, pp. 115-130.