

СИНЕРГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ УГЛЕРОДА И ХИМИОПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН НА РАКОВЫХ КЛЕТКАХ ЛИНИИ HeLa

Л.Н. Комарова, А.А. Мельникова, Д.А. Балдов

*Обнинский институт атомной энергетики НИЯУ МИФИ
249040, Калужская обл., г. Обнинск, Студгородок, 1*



Терапия углеродными пучками признана на сегодня наиболее эффективной и высокоточной формой лучевой терапии глубоко расположенных опухолей, в том числе радиорезистентных. Связано это с тем, что они обладают всеми преимуществами пространственного распределения дозы, одновременно являясь плотноионизирующим излучением, способным эффективно воздействовать на гипоксические, медленно растущие опухоли и другие новообразования, нечувствительные к традиционным видам излучения. Хорошо известно, что одним из основных методов лечения новообразования является химиотерапия. Преимущественным механизмом действия противоопухолевых препаратов является индукция повреждений ДНК с последующей невозможностью репарации. В исследовании использовался противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда доксорубицин. Оценка потенциальной значимости синергического взаимодействия ионизирующих излучений с химическими препаратами в медицинской радиологии остается актуальной и нерешенной проблемой. Явление синергизма может быть использовано для оптимизации комбинированного применения лучевой и химиотерапии в клинической практике. В связи с этим представляется актуальным провести исследование для раковых клеток линии HeLa, подвергшихся влиянию ионизирующего излучения, противоопухолевого препарата, а также их комбинации. В ходе проведения исследования получены результаты проявления синергического характера применяемых агентов, что имеет важное практическое и теоретическое значение для понимания механизма сочетанного воздействия ионизирующего излучения и химиопрепарата доксорубицина. Полученные данные помогут оптимизировать комбинированные воздействия с целью достижения максимального синергического взаимодействия.

Ключевые слова: адронная терапия, ионы углерода, химиотерапия, клетки рака шейки матки, HeLa.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), онкологические заболевания являются основной причиной смертности. В связи с недостаточ-

© Л.Н. Комарова, А.А. Мельникова, Д.А. Балдов, 2021

ной эффективностью хирургического лечения актуальными методами борьбы против злокачественных новообразований являются лучевая и комбинированная терапия.

В некоторых случаях лучевая терапия с использованием фотонов и электронов может быть неэффективной вследствие того, что излучение не может быть подведено к очагу достаточно локально [1]. В то же время возникшую проблему можно преодолеть с помощью применения тяжелых заряженных частиц (ТЗЧ): протоны, дейтроны, альфа-частицы, осколки деления, тяжелые ионы (углерод), отрицательные π -мезоны и др [2]. Взаимодействие тяжелых заряженных частиц осуществляется за счет упругих и неупругих столкновений с ядрами и электронами, что приводит к возбуждению или ионизации атомов мишени [3, 4].

Перспективной формой лучевой терапии радиорезистентных опухолей является терапия ионами углерода. При движении в веществе энергия и скорость заряженной частицы уменьшаются за счет ионизационных потерь. Максимум удельных ионизационных потерь энергии в конце пробега известен как пик Брэгга. В конце пробега ионы углерода испытывают резкое торможение, передавая большую часть энергии поглощаемому веществу [5]. Таким образом, происходит избирательное воздействие на глубокорасположенную опухоль и сохранение здоровых тканей, окружающих её.

В лечении онкологических заболеваний важное место занимает антибиотик антрациклинового ряда – доксорубин. Осуществление противоопухолевого механизма происходит за счет подавления синтеза ДНК и РНК. Есть сведения, что противоопухолевое действие обусловлено изменением клеточных функций в результате связывания с липидами клеточных мембран, а также взаимодействием с топоизомеразой II [6]. Как итог, нарушается клеточный цикл и запускается механизм программируемой клеточной смерти [7].

Оценка потенциальной значимости синергетического взаимодействия ионизирующих излучений с химическими препаратами в медицинской радиологии остается актуальной и нерешенной проблемой.

Комбинированное действие ионизирующего излучения и химиотерапии часто применяется для повышения радиочувствительности опухолевых клеток при лечении резистентных форм злокачественных новообразований различных локализаций. В связи с этим представляется актуальным провести исследование для опухолевых клеток линии HeLa, подвергшихся влиянию ионизирующего излучения, противоопухолевого препарата, а также их комбинации.

При взаимодействии двух факторов результат может носить синергический или антагонистический характер [8]. В первом случае биологический эффект больше ожидаемой суммы эффектов при независимом действии каждого фактора в отдельности, во втором случае – наоборот [9]. Достичь максимального эффекта комбинированного действия двух агентов возможно при их одновременном действии.

Целью работы является исследование синергических эффектов при комбинированном действии ионизирующего излучения совместно с противоопухолевым средством доксорубином на клетках рака шейки матки линии HeLa.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культивирование клеток. В работе использовали клеточную линию эпителиоидного рака шейки матки человека HeLa (предоставлена банком клеток ФГБУ «НМИЦ онкологии»). Выбор данной клеточной культуры обусловлен рядом причин. Во-первых, клеточная линия HeLa является классическим модельным объектом, используемым в различных биомедицинских исследованиях, в том числе для разработки

новых препаратов противоопухолевого действия. Во-вторых, клетки линии HeLa обладают гипертиплоидным кариотипом и имеют несколько видов мутаций, что делает их малочувствительными для действия фотонного излучения. Клетки линии HeLa культивировали в пластиковых культуральных флаконах (Corning, США) в виде монослоя в полной питательной среде DMEM (ПанЭко, Россия), содержащей 10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота (Gibco, USA), пенициллин 50000 ед/л («ПанЭко», РФ), стрептомицин 50 мг/л («ПанЭко», Россия) и глютамин 292 мг/л («ПанЭко», Россия). Поддерживали жизнеспособность культур в CO₂-инкубаторе (CB 53 Binder, Германия) при 5%-ном содержании CO₂. Перед началом эксперимента флаконы с монослоем трипсинизировали и готовили суспензии клеток в конечной концентрации ~ 5·10⁴ кл/мл (для избегания гипоксических условий [10]) с последующим облучением в пробирках типа Эппендорф объёмом 1,5 мл.

Клетки линии HeLa инкубировали с препаратом доксорубицин в дозе 0,004 мг/мл. На первую группу клеток воздействовало только ионизирующее излучение, на вторую – ионизирующее излучение и доксорубин, другую группу клеток инкубировали с препаратом без действия ионизирующего излучения. Контролем служили клетки без воздействия двух агентов. После процедуры облучения и на протяжении доставки в лабораторию клетки выдерживали при температуре тающего льда.

Облучение и дозиметрия. Облучение ионами ¹²C проводили на каскаде ускорителей на базе У-70 Института физики высоких энергий (ИФВЭ) ФГБУ ГНЦ РФ «Курчатовский институт» (г. Протвино).

Пострадиационное культивирование клеток. Тест на колониеобразование.

Клетки инкубировали в течение 7 – 14-ти дней до формирования колоний, видимых невооруженным глазом (в диаметре не менее 0,75 мм). По окончании инкубации питательную среду удаляли, фиксировали колонии этиловым спиртом (95%). Окрашивали колонии 2%-ным раствором метиленового синего в 50%-ном этаноле [11].

При подсчете колоний учитывали те, что содержали более 50-ти клеток. Показатель клоногенной активности клеток выражали в процентах по отношению к высеянному в каждой группе (соответствующей определенной дозе облучения) с учетом выживаемости клеток в контроле (без облучения / без действия препарата).

Время удвоения. В чашки Петри вносили клетки с концентрацией 10 000 клеток на чашку. Время культивирования составило 48 ч. После этого сливали питательную среду и промывали раствором Трипсина-Версена, затем добавляли 1 мл этого раствора и оставляли в термостате на 30 минут. Снятые с поверхности клетки, подсчитывали в камере Горяева. Время удвоения t_d рассчитывали по формуле

$$t_d = t_p \cdot [\log 2 / \log(N_2/N_1)], \quad (1)$$

где t_p – время культивирования; N_1 – начальное количество клеток; N_2 – конечное количество клеток.

Количественная оценка синергизма. Для описания выживаемости клеточных культур, а также генетических и канцерогенных эффектов совместного действия ионизирующего излучения и повреждающих факторов существует концепция синергизма [12 – 15].

Для оценки степени комбинированного действия двух агентов на клетки млекопитающих существует понятие коэффициент синергического усиления.

При независимом действии агентов вероятность регистрируемого эффекта, в соответствии с известным положением теории вероятности, определяется произведением вероятностей эффектов, индуцируемых каждым агентом в отдельности. Так, для выживаемости клеток имеем [12]

$$S = S_1 \cdot S_2, \quad (2)$$

где S – вероятность выживаемости клеток после комбинированного воздействия, а S_1 и S_2 – вероятности выживаемости после действия каждого из применяемых агентов в отдельности.

После логарифмирования уравнения (2) получаем

$$\ln S = \ln S_1 + \ln S_2, \quad (3)$$

Уравнение (3) показывает, что суммарное число повреждений, образуемых при независимом действии двух факторов, определяется суммой повреждений, образованных каждым из действующих факторов.

Для оценки синергического эффекта использовался коэффициент синергического усиления k [12]:

$$k = \frac{t_2}{t_1} = \frac{D_2}{D_1}. \quad (4)$$

Коэффициент синергического усиления (коэффициент синергизма) определяется отношением теоретически ожидаемой выживаемости клеток при независимом сложении эффектов от обоих агентов к соответствующей выживаемости, оцененной по экспериментальной кривой выживаемости, полученной после комбинированного действия.

Статистическая обработка. Для проведения статистического анализа результатов каждого эксперимента использовали данные трёх повторностей. Статистическую обработку результатов и определение параметров кривых доза-эффект осуществляли с помощью стандартных методов, реализованных в программных средствах Microsoft Excel с помощью непараметрического рангового критерия Манна-Уитни для уровня значимости $\alpha = 5\%$. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Комбинированное действие проводили по следующей схеме: в суспензию клеток вносили препарат, который до облучения действовал на клетки в течение 24-х часов, затем клетки подвергали облучению.

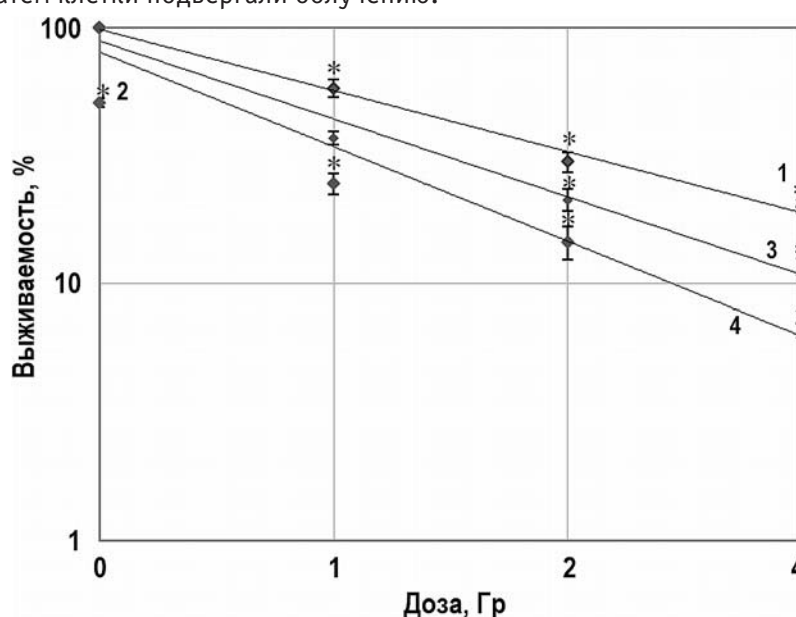


Рис. 1. Зависимость выживаемости клеток HeLa от дозы ионизирующего излучения (* – достоверное различие при уровне статистической значимости при $p < 0.05$; погрешности на кривых – стандартная ошибка среднего)

На рисунке 1 приведены экспериментально полученные кривые выживаемости клеток HeLa после комбинированного действия плотнoионизирующего излучения ^{12}C и доксорубина. Кривая 1 на этих рисунках характеризует выживаемость клеток после действия одного ионизирующего излучения, кривая 4 – выживаемость клеток после комбинированного действия ионизирующего излучения и химиопрепарата, кривая 3 – теоретическая кривая, ожидаемая при независимом сложении эффектов от ионизирующего излучения и препарата доксорубина, действие только доксорубина показано точкой 2.

Из представленных данных видно, что кривая 4 проходит ниже теоретически ожидаемой кривой, что свидетельствует о более высокой гибели опухолевых клеток после комбинированного действия двух агентов по сравнению с аддитивным действием ионизирующего излучения и химиопрепарата, следовательно, носит синергический характер.

В случае комбинированного действия ионов углерода при максимальной дозе 4 Гр и доксорубина наблюдается существенное снижение выживаемости для всех клеточных линий. Минимальный показатель выживаемости наблюдается при комбинированном действии ионов ^{12}C и доксорубина в дозе 4 Гр и составляет 7%.

Это может указывать на повышение радиочувствительности опухолевых клеток к ионизирующему излучению после действия противоопухолевого препарата. Данный результат может быть обусловлен накоплением клетками нелетальных субповреждений при действии каждого агента в отдельности. В случае комбинированного действия клетки теряют способность к восстановлению. Также этот факт можно связать с появлением более жестких первичных повреждений при комбинации агентов, которые задерживают пролиферацию клеток.

Ввиду отсутствия линейной зависимости выживаемости клеток при комбинированном действии на них ионизирующего излучения и химиопрепарата расчет коэффициента синергического усиления производился с использованием линейно-квадратичной модели и формулы (4) на разных участках кривых выживаемости. Были выбраны два участка кривых выживаемости: первый – на уровне 60% выживаемости, второй – 25% выживаемости. На первом участке выживаемости коэффициент синергизма составил $1,19 \pm 0,02$, на втором – $1,52 \pm 0,09$.

Полученные значения коэффициента синергического усиления подтверждают проявления синергизма при комбинированном действии плотнoионизирующего излучения и доксорубина. Из представленных расчетных данных видно, что коэффициент синергического усиления возрастает с дозой облучения.

На основании полученных данных были построены кривые зависимости коэффициента синергического усиления от дозы, результаты которых представлены на рис. 2.

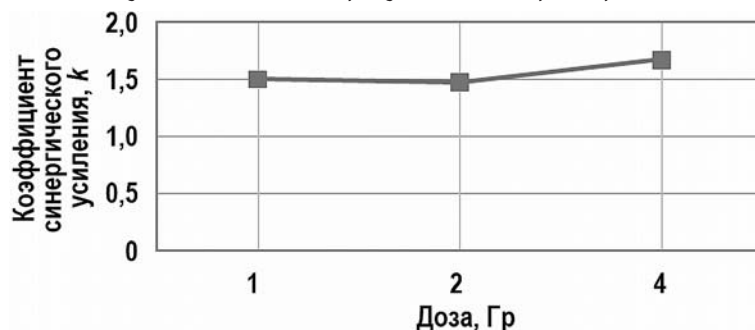


Рис. 2. Зависимость коэффициента синергического усиления k от дозы для клеточной линии HeLa

Из рисунка видно, что последовательное увеличение значений коэффициента синергического усиления с дальнейшим увеличением дозы ионизирующего излучения

может быть обусловлено эффективностью взаимодействия излучения и препарата.

Далее проводилась оценка изменения времени удвоения t_d после воздействия ионизирующего излучения, доксорубицина, а также их комбинации (рис. 3).

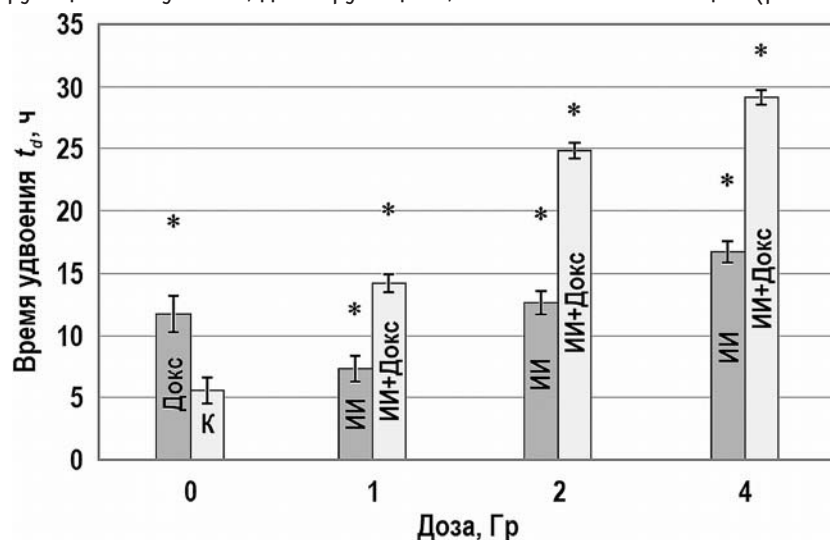


Рис. 3. Зависимость времени удвоения HeLa от дозы облучения (* – достоверное различие при уровне статистической значимости при $p < 0.05$; погрешности на графиках – стандартная ошибка среднего; ИИ – ионизирующее излучение; Докс – доксорубицин; К – контроль)

Полученные данные свидетельствуют о медленном росте опухолевых клеток как после независимого действия двух агентов, так и после комбинированного. Подобный эффект может быть обусловлен малым временем генерации в сочетании с высокой гибелью клеток. Наиболее длительный показатель времени удвоения наблюдается при комбинированном действии ионов углерода-12 и доксорубицина. Это может указывать на повышенную радиочувствительность опухолевых клеток к плотнoионизирующему излучению после действия противоопухолевого препарата.

ОБСУЖДЕНИЕ

Существует целый спектр методов лучевой терапии для лечения онкологических больных. Традиционная фотонная терапия считается менее щадящей, так как она может приводить к разрушению здоровых периферических тканей, облучая не только опухоль, но и здоровые участки. Терапия тяжелыми ионами, или адронная терапия, которая делится на протонную и карбоновую (углеродную), считается более прогрессивной и безопасной. Однако есть те виды злокачественных новообразований, которые не поддаются лечению традиционными методами, включая протонную терапию. В связи с этим актуальным является разработка новых методов лечения, в том числе с помощью изотопов углерода. ГНЦ ИФВЭ является одним из крупнейших центров, где работает комплекс ускорителей ионов углерода, который планируется использовать для адронной лучевой терапии. Для этого необходимо решить ряд радиобиологических задач [16]. Были проведены дозиметрические и радиобиологические исследования на ускорителе, рассчитаны ЛПЭ и ОБЭ ионов углерода на плато Брэгга, в пике Брэгга и «хвосте» [17, 18]. Представляемые в данной статье экспериментальные данные по действию ионов углерода на опухолевые клетки линии HeLa хорошо сочетаются с данными других авторов [19, 20], полученными на опухолевых и неопухолевых клетках разного происхождения. Также показано снижение клоногенной активности клеток, облученных ионами углерода, вызванной снижением способности к восстановлению после облучения [20].

Хорошо известна концепция синергизма комбинированного действия ионизирующего излучения и модифицирующих агентов на выживаемость клеточных культур, предложенная в [14]. Положения концепции легли в основу математической модели синергических эффектов, которая была описана для инактивации различных одноклеточных организмов при действии физических и химических факторов [21, 22]. Впоследствии эта же модель была адаптирована для описания генетических эффектов комбинированных воздействий мутагенов на клеточном уровне, а также канцерогенных эффектов у животных и человека [23, 24]. Выявление закономерностей синергического взаимодействия ионизирующего излучения и химиопрепаратов остается нерешенной и актуальной темой в клинической практике. Достижение максимального синергического взаимодействия наблюдается при равном соотношении повреждений, индуцированных каждым фактором [25]. Данные, представленные в работе, хорошо сочетаются с положениями модели синергизма [12], нами также показано, что при комбинированном действии доксорубицина и ионизирующего излучения максимальное синергическое действие наблюдается при эффективном взаимодействии субповреждений от действия обоих агентов и зависит от дозы облучения клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках экспериментальной работы выявлены некоторые закономерности синергического взаимодействия плотноионизирующего излучения с доксорубицином на культуре опухолевых клеток человека. При сочетанном действии ионов ^{12}C и доксорубицина наблюдается синергическое взаимодействие двух факторов на клеточной линии HeLa.

Литература

1. Трофимова О.П., Ткачев С.И., Юрьева Т.В. Прошлое и настоящее лучевой терапии в онкологии. // Клиническая онкогематология. – 2013. – № 4. – С. 355-364.
2. Бекман И.Н. Радиационная и ядерная медицина: физические и химические аспекты: учеб. пособие – Щелково: Изд. П.Ю. Мархотин, 2012. – 400 с.
3. Durante M., Loeffler J.S. Charged particles in radiation oncology. // Nat. Rev. Clin. Oncol. 2010. Vol. 7. No. 1. PP. 37-43. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.183>.
4. Sridharan D., Asaithamby A., Bailey S.M., Costes S.V., Dynan W.S., Kronenberg A., Rithidech K.N., Saha J., Shijders A.M., Werner E. Understanding cancer development processes after HZE-particle exposure: roles of ROS, DNA damage repair and inflammation. // Radiat. Res. – 2015. – Vol. 183. – No. 1. – PP. 1-26.
5. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А. Радиобиология человека и животных. – М.: Высшая школа, 2004. – 549 с.
6. Переводчикова Н. И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. – М.: Практическая медицина, 2011. – 512 с.
7. Arola O., Saraste A., Pulkki K. Acute doxorubicin cardiotoxicity involves cardiomyocyte apoptosis. // Cancer Res. 2000. 60 p.
8. Бакина О.В., Сваровская Н.В., Миллер А.А., Ложкомоев А.С., Августинovich А.В., Добродеев А.Ю., Спирина Л.В., Афанасьев С.Г. Синергетический эффект противоопухолевой активности доксорубицина и бикомпонентных наноструктур на основе оксида алюминия. // Сибирский онкологический журнал. – 2020 – № 19 (2) – С. 82-89; DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-2-82-89>.
9. Бакаев В.А., Иванов Н.А., Лебедева Ж.С. Способы снижения лучевой нагрузки на пациентов при протонной терапии заболеваний глаза. // Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физико-математические науки. – 2017. – Т. 10. – № 2. – С. 37-44; DOI:

<https://doi.org/10.18721/JPM.10204>.

10. Rini F.J., Hall E.J., Marino S.A. The oxygen enhancement ratio as a function of neutron energy with mammalian cells in culture. // Radiat. Res. – 1979. – Vol. 78 (1). – PP. 25-37.
11. Guda K., Natale L., Markowitz S. An improved method for staining cell colonies in clonogenic assays // Cytotechnology. – 2007. No. 54. – PP. 85-88; DOI: <https://doi.org/10.1007/s10616-007-9083-2>.
12. Петин В.Г., Жураковская Г.П., Комарова Л.Н. Радиобиологические основы синергических взаимодействий в биосфере. – М.: ГЕОС, 2012. – 219 с.
13. Петин В.Г., Жураковская Г.П., Пантюхина А.Г., Рассохин А.В. Малые дозы и проблемы синергизма факторов окружающей среды. // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1999. – Т. 39. – № 1. – С. 113-126.
14. Петин В.Г., Комаров В.П. Количественное описание модификации радиочувствительности. – М.: Энергоатомиздат. – 1989. – 192 с.
15. Петин В.Г., Комарова Л.Н. Значимость синергического взаимодействия ионизирующего излучения и других вредных факторов для усиления последствий Чернобыльской аварии. // Радиация и риск. – 2006. – Т. 15. – № 1-2. – С. 85-113.
16. Марков Н.В., Голубев А.А., Канцырев А.В., Насонова Е.А., Кадырова Е.Л. Радиобиологические исследования на пучках тяжелых ионов в ИТЭФ. // Медицинская физика. – 2016. – № 2. – С. 29-33.
17. Pikalov V.A., Antipov Yu.M., Zaichkina S.I. et al. Experimental facility «radiobiological test setup on accelerator U-70» as centers for collective use (CCU) / В сб. «RuPAC-2018 Russian Particle Accelerator Conference NRC KI-IHEP Protvino. Contributions to the Proceedings». – Протвино, 2018. – С. 253-255.
18. Корякина Е.В., Потетня В.И., Трошина М.В., Ефимова М.Н., Байкузина Р.М., Корякин С.Н., Лычагин А.А., Пикалов В.А., Ульянов С.Е. Сравнение биологической эффективности ускоренных ионов углерода и тяжёлых ядер отдачи на клетках китайского хомячка. // Радиация и риск. – 2019. – Т. 28. – № 3. – С. 96-106.
19. Troshina M.V., Koryakina E.V., Potetnya V.I., Koryakin S.N., Pikalov V.A., Lychagin A.A., Solovov A.N. The effect of combined proton and carbon ion irradiation on Chinese Hamster B14-150 cells. / В сб. «Eighth International Conference on Radiation in Various Fields of Research. Virtual Conference. Book of Abstracts». – 2020. – 126 p.
20. Липенгольц А.Н., Хохлов В.Ф., Ижевский П.В., Кулаков В.Н., Шейно И.Н. Исследование эффективности облучения культур опухолевых клеток ионами углерода. // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – Приложение № 2. – С. 121-122.
21. Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Kim J.K. Synergistic effects of different pollutants and equidosimetry. Eds. F. Brechignac, G. Desmet. // Equidosimetry. Springer. – 2005. – PP. 207-222.
22. Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Komarova L.N. Fluence rate as a determinant of synergistic interaction of simultaneous action of UV-light and mild heat in *Saccharomyces cerevisiae*. // J. Photochem. Photobiol. B.: Biology. – 1997. – Vol. 38. – PP. 123-128. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(96\)07449-0](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(96)07449-0).
23. Петин В.Г., Дергачева И.П., Романенко А.Г., Рябова С.В. Новая концепция оптимизации и прогнозирования эффектов синергизма при комбинированном воздействии химических и физических факторов окружающей среды. // Российский химический журнал. – 1997. – Т. 41. – № 3. – С. 96-104.
24. Рябова С.В., Петин В.Г. Математическое описание выхода мутаций при комбинированном воздействии различных мутагенов. // Генетика. – 1998. – Т. 34. – № 8. – С. 1151-1156.
25. Евстратова Е.С., Петин В.Г. Биофизическая интерпретация зависимости синергизма от интенсивности применяемых агентов. // Биофизика. – 2018. – Т. 3. – № 6. – С. 1186-1194. DOI: <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-2-8>.

Поступила в редакцию 22.06.2021 г.

Авторы

Комарова Людмила Николаевна, профессор, д-р. биол. наук

E-mail: komarova_l411@mail.ru

Мельникова Анжелика Александровна: студентка

E-mail: angelik_melnikova@mail.ru

Балдов Денис Андреевич: студент

E-mail: dab1999y@gmail.com

UDC 621.039:577.3

SYNERGETIC EFFECTS OF THE COMBINED ACTION OF CARBON IONS AND THE CHEMOTHERAPY DRUG DOXORUBICIN ON HeLa CANCER CELLS

Komarova L.N., Mel'nikova A.A., Baldov D.A.

Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, NRNU MEPhI

1 Studgorodok, 249040 Obninsk, Kaluga Reg., Russia

ABSTRACT

Proton and carbon beam therapy is currently recognized as the most effective and highly accurate form of radiation therapy for deeply located tumors, including radioresistant ones. This is due to the fact that they have all the advantages of spatial dose distribution and, at the same time, are densely ionizing radiations capable of effectively affecting hypoxic, slow-growing tumors and other neoplasms that are insensitive to traditional types of radiation. It is well known that one of the main methods for treating neoplasms is chemotherapy. The predominant mechanism of action of anti-tumor drugs is the induction of DNA damage with the subsequent impossibility of repair. In our study, we used an anti-tumor antibiotic of the anthracycline series, doxorubicin. The assessment of the potential significance of the synergistic interaction of ionizing radiation with chemical preparations in medical radiology remains an urgent and unresolved problem. It is possible to achieve the maximum effect of the combined action of two agents when they act simultaneously. The phenomenon of synergy can be used to optimize the combined use of radiation and chemotherapy in clinical practice. In this regard, it seems relevant to conduct a study for HeLa cancer cells exposed to ionizing radiation, an antitumor drug, as well as their combination. In the course of the study, results were obtained on the manifestation of the synergistic nature of the agents used, which is of great practical and theoretical importance for understanding the mechanism of the combined effect of ionizing radiation and the chemotherapy drug (doxorubicin). The obtained data can be helpful in optimizing the combined effects in order to achieve maximum synergistic interaction.

Key words: particle therapy, carbon ions, chemotherapy, cervical cancer cells, HeLa.

REFERENCES

1. Trofimova O.P., Tkachev S.I., Yurieva T.V. Past and present of radiation therapy in oncology. *Klinicheskaya Onkogematologiya*. 2013, no. 4, pp. 355-364 (in Russian).
2. Bekman I.N. *Radiation and Nuclear Medicine: Physical and Chemical Aspects*. Textbook. Shcholkovo. Markotin P.Yu. Publ., 2012, 400 p. (in Russian).
3. Durante M., Loeffler J.S. Sparged particles in radiation oncology. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2010, v. 7, no. 1, pp. 37-43; DOI: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.183>.
4. Sridharan D., Asaithamby A., Bailey S. M., Kostas S. V., Dynan W. S., Kronenberg A.,

- Rithideh K. N., Saha J., Shijders A.M., Werner E. Understanding sapseg development processes after HZE-partial exposure: roles of ROS, DNA damage repair and inflammation. *Radiat Res.* 2015, no.183(1), pp. 1-26.
5. Yarmonenko S.P., Vainson A.A. *Radiobiology of Humans and Animals*. Moscow. Vysshaya Shkola Publ., 2004, 549 p. (in Russian).
6. Perevedchikova N. I. *Guide to Chemotherapy of Tumor Diseases*. Moscow. Prakticheskaya Meditsina Publ., 2011, 512 p. (in Russian).
7. Arola O., Saraste A., Pulkki K. Acute doxorubicin cardiotoxicity involves cardiomyocyte apoptosis. *Cancer Res.*, 2000, 60 p.
8. Bakina O.V., Swarovskaya N.V., Miller A.A., Lozhkomoev A.S., Avgustinovich A.V., Dobrodeev A.Yu., Spirina L.V., Afanasiev S.G. Synergistic effect of antitumor activity of doxorubicin and bi-component nanostructures based on aluminum oxide. *Sibirsky Onkologicheskyy Zhurnal*. 2020, no. 19 (2), pp. 82-89; DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-2-82-89> (in Russian).
9. Bakaev V.A., Ivanov N.A., Lebedeva Zh.S. Ways to reduce the radiation load on patients with proton therapy of eye diseases. *Nauchno-Tekhnicheskie Vedomosti SPbGPU. Fiziko-Matematicheskie Nauki*. 2017, v. 10, no. 2, pp. 37-44; DOI: <https://doi.org/10.18721/JPM.10204> (in Russian).
10. Rini F. J., Hall E. J., Marino S. A. The oxygen enhancement ratio as a function of neutron energy with mammalian cells in culture. *Radiat. Res.* 1979, v. 78 (1), pp. 25-37.
11. Guda K., Natale L., Markowitz S. An improved method for staining cell colonies in clonogenic assays. *Cytotechnology*. 2007, no. 54, pp. 85-88; DOI: <https://doi.org/10.1007/s10616-007-9083-2>.
12. Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Komarova L.N. *Radiobiological Bases of Synergistic Interactions in the Biosphere*. Moscow. GEOS Publ., 2012, 219 p. (in Russian).
13. Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Pantyukhina A.G., Rassokhin A.V. Small doses and problems of synergy of environmental factors. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 1999, v. 39, no. 1, pp. 113-126 (in Russian).
14. Petin V.G., Komarov V.P. *Quantitative Description of the Modification of Radiosensitivity*. Moscow. Energoatomizdat Publ., 1989, 192 p. (in Russian).
15. Petin V.G., Komarova L.N. The importance of the synergistic interaction of ionizing radiation and other harmful factors to enhance the effects of the Chernobyl accident. *Radiatsiya i Risk*. 2006, v. 15, no. 1-2, pp. 85-113 (in Russian).
16. Markov N.V., Golubev A.A., Kancirev A.V., Nasonova E.A., Kadirova E.L. Radiobiological studies on heavy ion beams at ITEP. *Meditsinskaya Fizika*. 2016, no. 2, pp. 29-33 (in Russian).
17. Pikalov V.A., Antipov Y.M., Zaichkina S.I., Sorokina S.S., Rozanova O.M., Smirnova E.N., Romanchenko S.P., Dyukina O.R., Beketov E.E., Isaeva E.V., Troshina M.V., Lychagin A.A., Solovov A.N., Koryakin S.N., Ulyanenko S.E. Experimental facility «radiobiological test setup on accelerator U-70» as centers for collective use (CCU). In «*RuPAC-2018 Russian Particle Accelerator Conference NRC KI-IHEP Protvino. Contributions to the Proceedings*». Protvino, 2018, pp. 253-255.
18. Koryakina E.V., Potetnya V.I., Troshina M.V., Ephimova M.N., Baykuzina R.M., Koryakin S.N., Lychagin A.A., Pikalov V.A., Ulyanenko S.E. Comparison of the biological efficiency of accelerated carbon ions and heavy recoil nuclei on Chinese Hamster cells. *Radiatsiya i Risk*. 2019, v. 28, no. 3, pp. 96-106 (in Russian).
19. Troshina M.V., Koryakina E.V., Potetnya V.I., Koryakin S.N., Pikalov V.A., Lychagin A.A., Solovov A.N. The effect of combined proton and carbon ion irradiation on Chinese Hamster B14-150 cells. In «*Eighth International Conference on Radiation in Various Fields of Research. Virtual Conference. Book of Abstracts*», 2020, 126 p.
20. Lipengol'ts A.N., Chochlov V.F., Ijevskiy P.V., Kulakov V.N., Sheyno I.N. Investigation of the effectiveness of irradiation of tumor cell cultures with carbon ions. *Sibirsky Onkologicheskyy Zhurnal*. 2009, applic. no. 2, pp. 121-122 (in Russian).

21. Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Kim J.K. Synergistic effects of different pollutants and equidosimetry. *Equidosimetry. Springer*. 2005, pp. 207-222.
22. Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Komarova L.N. Fluence rate as a determinant of synergistic interaction of simultaneous action of UV-light and mild heat in the USSR. *J. Photochem. Photobiol. B.: Biology*. 1997, v. 38, pp. 123-128; DOI: [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(96\)07449-0](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(96)07449-0).
23. Petin V. G., Dergacheva I. P., Romanenko A. G., Ryabova S. V. A new concept of optimization and forecasting of synergy effects under the combined influence of chemical and physical environmental factors. *Rossiysky Khimichesky Zhurnal*. 1997, v. 41, no. 3, pp. 96-104 (in Russian).
24. Ryabova S.V., Petin V.G. Mathematical description of mutation yield under the combined effect of various mutagens. *Genetika*. 1998, v. 34, no. 8, pp. 1151-1156 (in Russian).
25. Evstratova E.S., Petin V.G. Biophysical interpretation of the dependence of synergism on the intensity of the agents used. *Biofizika*. 2018, v. 3, no. 6, pp. 1186-1194; DOI: <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2020-7-2-8> (in Russian).

Authors

Komarova Lyudmila Nikolaevna, Professor, Dr. Sci. (Biology)

E-mail: komarova_l411@mail.ru

Mel'nikova Anzhelika Aleklsandrovna, Student

E-mail: angelik_melnikova@mail.ru

Baldov Denis Andreevich, Student

E-mail: dab1999y@gmail.com