

КОМБИНИРОВАННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

УДК 57.042:546.3:612.591.1.047

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ СИНЕРГИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ С ГИПЕРТЕРМИЕЙ ИЛИ ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

© 2020 г. М. С. Толкаева¹, А. Н. Филимонова², О. А. Воробей¹, Е. С. Евстратова^{2,*}, В. Г. Петин¹

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

*E-mail: ekevs7240@mail.ru

Поступила в редакцию 06.11.2019 г.

После доработки 05.02.2020 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

Задачей исследования было выявить общие закономерности проявления синергизма одновременного действия солей тяжелых металлов с ионизирующим излучением или с гипертермией. Объектом исследований были бактерии *Escherichia coli* (штамм B/r) и диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS800), на которых в стационарной стадии роста воздействовали химическими препаратами, содержащими соли тяжелых металлов (медь, платина, свинец, хром, цинк) одновременно с гипертермией (37–60°C) или ионизирующим излучением (γ -кванты ⁶⁰Co, мощность дозы 10.8 Гр/мин). Для демонстрации общности выявленных закономерностей использованы данные по инаktivации клеток китайского хомячка (СНО), опубликованные другими авторами. Для количественной оценки степени синергизма мы использовали коэффициент синергического усиления, определяемый отношением изоэффективных доз на теоретически ожидаемой и экспериментальной кривых доза–эффект. Приводятся экспериментальные результаты о выживаемости клеток и синергическом взаимодействии повреждений от одновременного применения солей тяжелых металлов с ионизирующим излучением или гипертермией. Выявлены оптимальные параметры действующих агентов, обеспечивающие максимальное синергическое взаимодействие. Любое отклонение этих параметров от оптимального значения приводит к снижению синергизма. Делается вывод об универсальности выявленных закономерностей, не зависящих от природы воздействующих агентов, биологических объектов и тестов. Обсуждаются возможные механизмы полученных результатов и пути их практического использования в радиобиологии и экологии.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, тяжелые металлы, гипертермия, синергизм, бактерии, дрожжи, клетки млекопитающих

DOI: 10.31857/S0869803120050094

Комбинированное действие различных вредных факторов окружающей среды является отличительной чертой современной жизни. Хорошо известно синергическое взаимодействие физических и химических агентов, когда их вредное действие усиливается по сравнению с ожидаемым действием при независимом сложении эффектов от каждого агента [1, 2]. Описана математическая модель, в соответствии с которой синергизм обусловлен формированием дополнительных эффективных повреждений в результате взаимодействия неэффективных повреждений, образуемых при раздельном применении агентов [3]. Модель прогнозирует ряд общих закономерностей проявления синергизма, которые не зависят от биологического объекта, теста и применяемых агентов. Предсказания модели хорошо соответствуют экс-

периментальным результатам [1, 4]. Показано, что синергизм может не наблюдаться при любых, случайно выбранных параметрах воздействующих факторов. Существует оптимальное соотношение доз или интенсивностей применяемых агентов, при которых наблюдается максимальное синергическое взаимодействие, отклонение от которого приводит к уменьшению синергизма, вплоть до его полного отсутствия [5–7].

В настоящее время особое значение приобретает загрязнение биосферы различными химическими агентами. Ежегодно более 500 официально зарегистрированных веществ внедряются в практику в виде лекарственных препаратов, пищевых добавок, пестицидов и промышленных соединений, загрязняющих окружающую среду [8]. Ясно, что различные химические поллютанты в био-

сфере действуют одновременно с другими факторами внешней среды, синергически усиливающими их вредное действие. Многие лекарственные средства используются также в комбинации с ионизирующим излучением или гипертермией, применяемыми для повышения эффективности лечения злокачественных новообразований [9, 10]. В состав различных лекарственных средств входят соли тяжелых металлов, к которым относят группу веществ с большим атомным весом, обладающих свойствами металлов. Некоторые препараты для химиотерапии также содержат в своем составе тяжелые металлы как основную составляющую. Представляет интерес исследовать экспериментально их совместное действие с ионизирующим излучением или гипертермией для оптимизации методов сочетанной терапии.

Большой интерес для проблем радиобиологии и экологии представляют малоисследованные закономерности одновременного действия солей тяжелых металлов с гипертермией, поскольку эти элементы относятся к числу наиболее распространенных токсических компонентов окружающей среды. Тяжелые металлы как микроэлементы постоянно встречаются в почве, воде, растениях и организмах животных и человека. Однако их синергическое взаимодействие с другими факторами окружающей среды практически не изучено. Сложность количественной оценки комбинированного воздействия обуславливается двумя факторами – недостаточностью знаний о молекулярно-клеточном механизме действия каждого фактора и их сочетаний, а также отсутствием единого методологического и концептуального подхода к изучению механизма синергического взаимодействия факторов различной природы [1, 4, 11–13].

Поэтому проблема экспериментального изучения синергических взаимодействий солей тяжелых металлов с ионизирующим излучением и гипертермией приобретает все большую актуальность. В связи с этим перед данным исследованием были поставлены следующие задачи – экспериментально продемонстрировать синергическое взаимодействие различных солей тяжелых металлов с гипертермией и ионизирующим излучением, выявить общие закономерности проявления синергических эффектов, представить их интерпретацию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом собственных экспериментальных исследований были бактерии *Escherichia coli* (штамм *B/r*) и диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS800), на которых в стационарной стадии роста воздействовали химическими препаратами, содержащими соли тяжелых металлов (медь, платина, свинец, хром, цинк) одновременно с гипертермией (37–60°C)

или ионизирующим излучением (γ -кванты ^{60}Co , мощность дозы 10.8 Гр/мин). Используемые в экспериментах диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae*, штамм XS800, являются простейшей моделью эукариотических клеток, строение которых сходно с клетками высших организмов и которые характеризуются наличием ядра и хромосом.

Гипертермию осуществляли в медицинском водяном термостате (ELMI, TW-2.03), где нужная температура поддерживалась в пределах $\pm 0.1^\circ\text{C}$. Для одновременного действия гипертермии с химическими препаратами интервал времени между помещением клеток в предварительно прогретую стерильную воду и началом воздействия препарата составлял 0.1–0.3 мин, что было значительно меньше общей продолжительности воздействия. В опытах использованы следующие растворы солей тяжелых металлов: цисплатин (цис-диаминдихлорплатина, $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, производитель ООО ЛЭНС ФАРМ), концентрация составляла 0.25 мг/мл; йодид свинца(II), PbI_2 0.5–2.5 мг/мл; двуххромовокислый калий, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 5 мг/мл; сульфат меди, CuSO_4 0.02 мг/мл; сульфат цинка, ZnSO_4 0.01 моль/л. Концентрации препаратов подобраны экспериментально: инактивация клеток от действия препарата находилась в диапазоне 40–60%. Облучение ионизирующим излучением проводили на установке “Исследователь”, Россия (γ -кванты ^{60}Co , мощность дозы 10.8 Гр/мин). По окончании раздельного применения гипертермии, химических препаратов, ионизирующего излучения и их одновременного комбинированного воздействия клетки помещали в чашки Петри с твердой питательной средой так, чтобы образовывались 150–200 колоний после 24-часовой инкубации бактерий при 37°C и 3–5-суточной инкубации дрожжевых клеток при 30°C. Выживаемость клеток оценивали отношением колоний, сформированных при воздействии разных факторов, к числу колоний, образованных в контроле. Все экспериментальные серии повторяли 3–5 раз. Результаты представлены в виде среднего значения и его стандартной ошибки. Детали методов культивирования, определения выживаемости, статистической обработки описаны ранее [1, 4–6].

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1, а–д приведены зависимости выживаемости диплоидных дрожжевых клеток *S. cerevisiae* от продолжительности применения одной гипертермии (кривые 1), воздействия только раствора $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (кривые 2); одновременного действия этих агентов (кривые 4). Кривые 3 на этом рисунке – теоретически рассчитанные кривые выживаемости для независимого сложения эф-

факторов от действия повышенных температур и растворов тяжелых металлов. Отметим, что при независимом действии агентов вероятность регистрируемого эффекта, в соответствии с известным положением теории вероятности [14, 15], определяется не простым суммированием эффектов, а произведением вероятностей эффектов, индуцированных каждым агентом в отдельности. Так, для выживаемости клеток имеем

$$S = S_1 \cdot S_2, \quad (1)$$

где S – вероятность выживаемости клеток после комбинированного воздействия, а S_1 и S_2 – вероятности выживаемости после действия каждого из применяемых агентов в отдельности. Тогда после логарифмирования уравнения (1) имеем

$$\ln S = \ln S_1 + \ln S_2 \quad \text{или} \quad \lg S = \lg S_1 + \lg S_2. \quad (2)$$

Это означает, что независимое действие двух агентов характеризуется сложением логарифмов вероятностей выживаемости или другого тест-эффекта. В соответствии со статистикой Пуассона [14, 15] число повреждений, индуцированных фактором, вызывающим инактивацию клеток, может быть определено как

$$N = -\ln S. \quad (3)$$

Тогда уравнение (2) означает, что суммарное число повреждений, образуемых при независимом действии двух факторов, определяется суммой повреждений, образованных каждым из действующих факторов.

Все упомянутые кривые выживаемости необходимы для определения характера взаимодействия и оценки коэффициента синергического усиления. Из рис. 1 видно, что во всех случаях наблюдается их синергическое взаимодействие – экспериментальные кривые после комбинированного воздействия расположены ниже ожидаемых при независимом сложении эффектов от каждого агента. Для количественной оценки степени синергизма мы использовали коэффициент синергического усиления (k) [1, 4, 5], определяемый отношением изоэффективных доз на теоретически ожидаемой и экспериментальной кривых доза–эффект. Вместо дозы в данном исследовании мы использовали продолжительность воздействия.

$$k = t_2/t_1. \quad (4)$$

Фактически этот коэффициент показывает, во сколько раз для одинакового эффекта уменьшилась продолжительность ожидаемого воздействия (t_2) по сравнению с наблюдаемой в эксперименте величиной (t_1). На рис. 1, в стрелками указан пример расчета этого коэффициента. Отметим, что для каждой экспериментальной точки на последующих рисунках для расчета коэффициента синергического усиления (уравнение (4))

использованы четыре таких кривых выживаемости. Аналогичный набор кривых доза–эффект получен и для других комбинированных воздействий. В целом итоговые данные этой статьи базируются на примерно 100 кривых, описывающих зависимость выживаемости клеток от продолжительности раздельного действия ионизирующего излучения, гипертермии, химических агентов и их совместного применения, а также теоретические кривые выживаемости, рассчитанные для независимого действия агентов. Приводить все эти графические данные не представляется возможным, но именно они использованы для получения итоговых данных на последующих рисунках. Экспериментальные значения степени инактивации эукариотических клеток повышенной температурой и химическими сенсibilizаторами также представлены в базе данных, получившей регистрацию в Роспатенте [16]. Отметим, что небольшие фрагменты представляемых ниже результатов были опубликованы ранее [1, 4], но в полном виде они представляются впервые.

На основании кривых выживаемости, представленных на рис. 1, рассчитана зависимость коэффициента синергического усиления от температуры, действующей одновременно с раствором двухромовокислого калия $K_2Cr_2O_7$ на диплоидные дрожжевые клетки (рис. 1, е). Видно, что отмечается куполообразная закономерность – синергизм сначала возрастает с увеличением действующей температуры, достигает максимального значения и затем снова уменьшается. На рис. 2 приведены аналогичные зависимости для диплоидных дрожжевых клеток после одновременного действия гипертермии с сульфатом меди (а) и цисплатином (б). Видно, что во всех случаях также отмечается куполообразная зависимость коэффициента синергического усиления от действующей температуры. Внутри диапазона применяемых температур регистрируется оптимальное значение температуры, обеспечивающей максимальный синергический эффект. Любое отклонение действующей температуры от оптимальной приводит к снижению эффективности синергического усиления.

Представляет интерес выяснить, сохраняется ли выявленная закономерность для прокариот и высших эукариот. Поэтому для демонстрации общности выявленных закономерностей мы использовали данные по инактивации клеток китайского хомячка (СНО) при раздельном и одновременном действии повышенных температур (40–43°C) и цисплатина, опубликованных другими авторами [12, 13]. Используя результаты этих авторов, мы провели количественную оценку синергического взаимодействия агентов. На рис. 3 приводятся зависимости коэффициента синергического усиления от действующей температуры после одновременного применения гипертермии

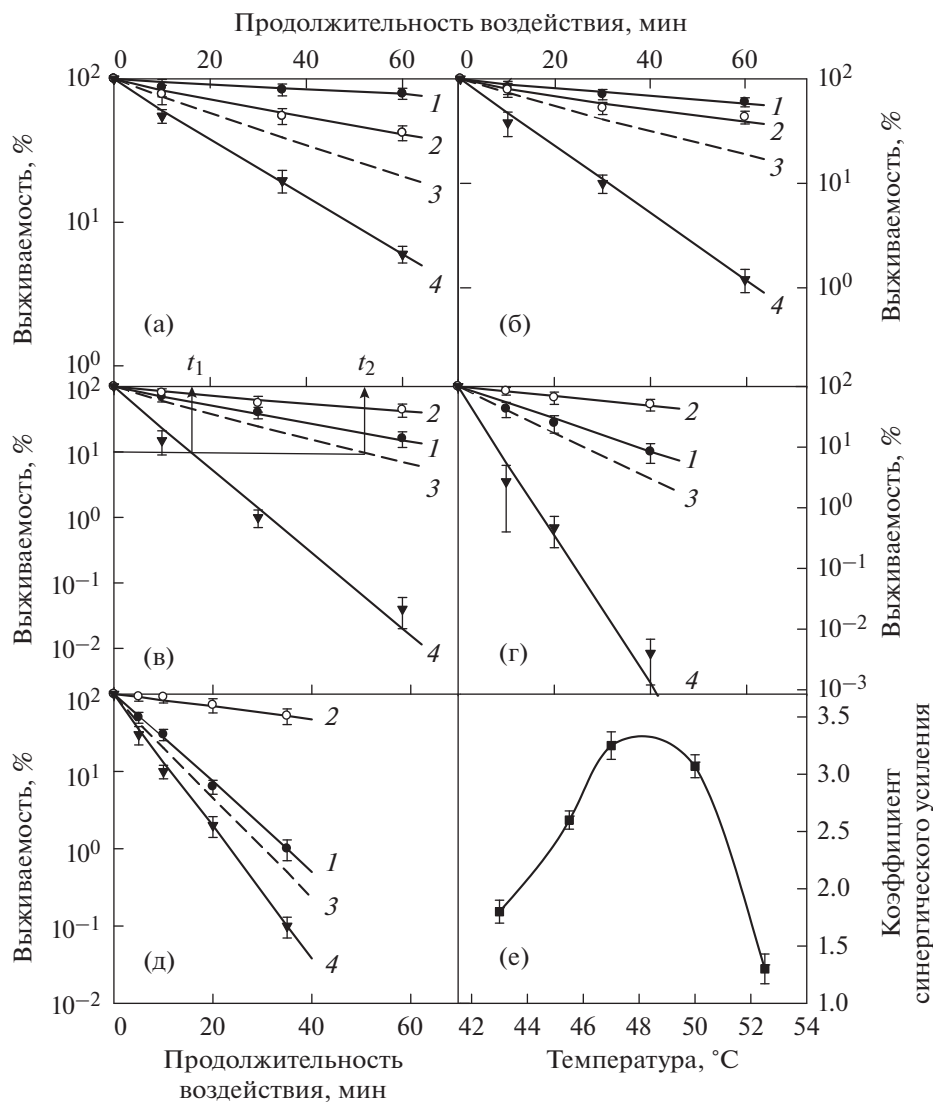


Рис. 1. Зависимости выживаемости диплоидных дрожжевых клеток *S. cerevisiae* (штамм XS800) от продолжительности воздействия гипертермии: кривые 1 – действие только температур: а – 43°C; б – 45.5°C; в – 47°C; г – 50°C; д – 52.5°C; кривые 2 – действие раствора $K_2Cr_2O_7$ (5 мг/мл); кривые 3 – теоретически рассчитанные кривые выживаемости для независимого сложения эффектов от действия температур и растворов тяжелых металлов; кривые 4 – экспериментально полученные кривые выживаемости после одновременного действия этих агентов; е – зависимость коэффициента синергического усиления от одновременного воздействия гипертермии и раствора $K_2Cr_2O_7$ (5 мг/мл).

Fig. 1. Dependence of the *S. cerevisiae* (strain XS800) diploid yeast cells survival on the duration of hyperthermia exposure: curves 1 – only temperatures action: а – 43°C; б – 45.5°C; в – 47°C; г – 50°C; д – 52.5°C; curves 2 – only effect of a solution of $K_2Cr_2O_7$ (5 mg/ml); curves 3 – theoretically calculated survival curves for the independent addition of effects from the action of temperatures and solutions of heavy metals; curves 4 – experimentally obtained survival curves after the simultaneous action of these agents; е – dependence of the synergistic enhancement ratio on the simultaneous effects of hyperthermia and $K_2Cr_2O_7$ solution (5 mg/ml).

с сульфатом цинка $ZnSO_4$ на инактивацию бактерий *Escherichia coli* штамм B/r и с цисплатином на выживаемость клеток китайского хомячка СНО. Отметим, что для расчета последней зависимости мы использовали данные, опубликованные другими авторами [12, 13], которые сами такую оценку не проводили. Видно, что и в этом случае наблюдается куполообразная зависимость коэффициента синергического усиления от действующей

температуры. Таким образом, совокупность новых данных, полученных в настоящей работе, показывает, что эта закономерность не зависит от варианта применяемых солей тяжелых металлов и исследованного биологического объекта.

На рис. 4, а приведена зависимость коэффициента синергического усиления от действующей температуры после одновременного применения гипертермии с йодидом свинца(II) PbI_2 (1 мг/мл)

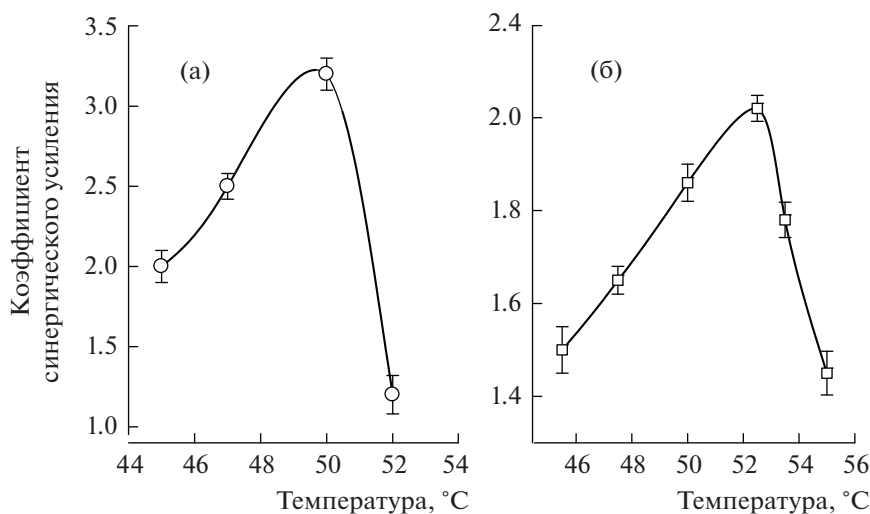


Рис. 2. Зависимость коэффициента синергического усиления от действующей температуры после одновременного применения гипертермии с CuSO_4 (0.02 мг/мл) (а) и с цисплатином (0.25 мг/мл) (б) на диплоидные дрожжевые клетки *S. cerevisiae* (штамм XS800).

Fig. 2. The dependence of the synergistic enhancement ratio on the current temperature after the simultaneous use of hyperthermia with CuSO_4 (0.02 mg/ml) (a) and cisplatin (0.25 mg/ml) (b) on diploid yeast cells of *S. cerevisiae* (strain XS800).

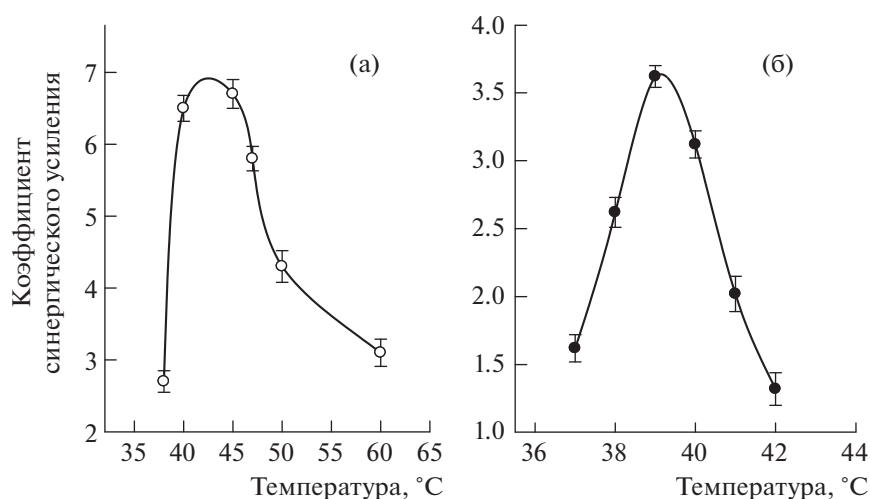


Рис. 3. Зависимость коэффициента синергического усиления от действующей температуры после одновременного применения гипертермии с сульфатом цинка ZnSO_4 (0.01 моль/л) на бактерии *Escherichia coli* штамм B/r (а) и с цисплатином на клетки китайского хомячка CHO (б).

Fig. 3. The dependence of the synergistic enhancement ratio on the current temperature after the simultaneous use of hyperthermia with zinc sulfate ZnSO_4 (0.01 mol/l) on the bacteria *Escherichia coli* strain B/r (a) and with cisplatin on the Chinese hamster CHO cells (b).

на выживаемость диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS800). Снова четко видно существование максимального синергизма при 52 °C. На рис. 4, б представлена зависимость коэффициента синергического усиления от концентрации раствора йодида свинца(II) после его одновременного применения с ионизирующим излучением на выживаемость диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS800). Видно, что при постоянной мощности дозы реги-

стрируется оптимальная концентрация препарата, обеспечивающая максимальный синергический эффект.

Подчеркнем, что впервые полученные в данной работе результаты комбинированного действия солей тяжелых металлов с гипертермией подтверждают ранее выявленную закономерность обнаружения максимального синергического взаимодействия [1, 4–6] при одновременном примене-

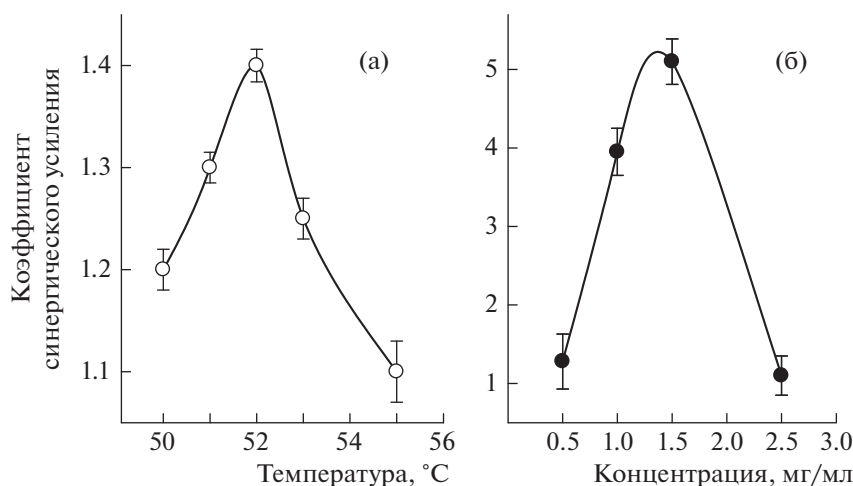


Рис. 4. Зависимость коэффициента синергического усиления от действующей температуры после одновременного применения гипертермии с йодидом свинца(II) PbI_2 (1 мг/мл) на выживаемость диплоидных дрожжевых клеток (а); зависимость коэффициента синергического усиления от концентрации раствора йодида свинца(II) PbI_2 после его одновременного применения с ионизирующим излучением (^{60}Co , 10.8 Гр/мин) на выживаемость диплоидных дрожжевых клеток (б).

Fig. 4. The dependence of the synergistic enhancement ratio on the current temperature after the simultaneous use of hyperthermia with lead iodide PbI_2 (1 mg/ml) on the survival of diploid yeast cells (a); dependence of the synergistic enhancement ratio on the concentration of the solution of lead iodide PbI_2 after its simultaneous use with ionizing radiation (^{60}Co , 10.8 Gy/min) on the survival of diploid yeast cells (b).

нии гипертермии с различными физическими факторами окружающей среды – ионизирующие излучения, УФ-свет, ультразвук, неионизирующие электромагнитные излучения СВЧ диапазона. В этих же работах приводятся данные о синергическом взаимодействии некоторых лекарственных средств друг с другом, а также с гипертермией и ионизирующим излучением. Совокупность ранее опубликованных данных [1, 4–6] с результатами настоящей работы указывает на универсальность и важность проявления максимального синергического взаимодействия для различных аспектов практических приложений радиобиологии и экологии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее была предложена математическая модель, качественно прогнозирующая отмеченные в данной работе закономерности синергического взаимодействия гипертермии с тяжелыми металлами [1, 3, 4]. В модели постулируется, что механизм взаимного усиления повреждений, индуцированных поражающими факторами, не связан с ингибированием процессов клеточного восстановления от повреждений ДНК. Выдвинута гипотеза, в соответствии с которой синергизм при комбинированных воздействиях обусловлен формированием дополнительных эффективных повреждений, возникающих за счет взаимодействия субповреждений, не эффективных при действии каждого агента в отдельности. Независимо от природы летальных

повреждений и сопровождающих их субповреждений, индуцируемых действующими агентами, модель прогнозирует, что максимальное значение коэффициента синергического усиления достигается при равенстве субповреждений от каждого агента.

Из результатов, представленных в данной работе, очевидно, что при постоянной концентрации солей тяжелых металлов с повышением действующей температуры эффективность синергического взаимодействия вначале возрастает, достигает максимума и затем уменьшается. Отсутствие синергического взаимодействия или его небольшое значение при сравнительно длительно действующих небольших температурах и постоянной концентрации солей тяжелых металлов означает относительно большое число химических субповреждений и малое число термических субповреждений, т.е. отсутствие равенства субповреждений, формируемых от каждого агента. Увеличение коэффициента синергического усиления с дальнейшим повышением действующей температуры обусловлено увеличением числа соответствующих термических субповреждений и постепенное снижение химических субповреждений. Максимальное значение коэффициента синергического усиления достигается при равенстве термических и химических субповреждений. Дальнейшее повышение действующей температуры приводит к снижению эффекта синергизма из-за уменьшения продолжительности одновременного применения факторов и соответствующим

шего снижения числа субповреждений, сформированных химическим агентом. При высоких температурах образуется большое число термических повреждений и соответствующих им субповреждений, т.е. условие достижения максимального синергизма снова нарушается и синергизм уменьшается вплоть до его полного отсутствия.

Существование оптимального соотношения доз воздействующих агентов и их интенсивностей, обеспечивающих максимум синергического взаимодействия, указывает на возможность учета синергизма в медицинской радиологии для достижения оптимального соотношения применяемых факторов, обеспечивающих максимальный коэффициент синергического усиления, а также на необходимость учета синергизма при экологическом нормировании безопасных уровней загрязнения окружающей среды поллютантами, в том числе и тяжелыми металлами.

Данная работа выполнена при сравнительно высоких температурах и концентрациях тяжелых металлов. Возникает вопрос, сохранится ли выявленная закономерность при малых концентрациях тяжелых металлов и меньших значениях действующей температуры. В нескольких наших предыдущих публикациях было показано, что чем меньше интенсивность одного из применяемых факторов, тем при меньшей интенсивности другого фактора достигается максимальный синергизм [5, 7, 11]. Такая закономерность указывает на принципиальную возможность существования оптимальной действующей температуры, обеспечивающей максимальное синергическое взаимодействие при малых концентрациях и интенсивностях вредных факторов, реально встречающихся в биосфере.

Результаты, полученные в данной работе, были качественно интерпретированы с помощью ранее описанной математической модели синергизма [1, 3, 4]. В предлагаемой модели синергизм обусловлен дополнительными эффективными повреждениями, возникающими в результате взаимодействия субповреждений, индуцированных обоими агентами. Модель не связана с молекулярной природой эффективных повреждений или субповреждений, которые упоминаются, механизм их взаимодействия еще предстоит выяснить. Более того, природа субповреждений и их взаимодействия может отличаться для различных биологических объектов и применяемых агентов. Однако полученные результаты характеризуют универсальную значимость закономерностей, выявленных в данной работе, и указывают на приемлемость идей рассматриваемой модели для дальнейшего анализа проблем синергизма в радиобиологии и экологии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа частично выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Калужской области № 18-413-400004а(р), а также по Государственному контракту № Н.46.43.9Б.14.1053 и гранту Президента МК-872.2018.4 (контракт № 075-02-2018-570).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Петин В.Г., Жураковская Г.П., Комарова Л.Н.* Радиобиологические основы синергических взаимодействий в биосфере. М.: ГЕОС, 2012. 219 с. [*Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Komarova L.N.* Radiobiologicheskie osnovy sinergicheskikh vzaimodejstvij v biosfere. М.: GEOS, 2012. 219 s. (In Russian)]
2. *Петин В.Г., Морозов И.И.* Синергетика факторов окружающей среды. М.: ГЕОС, 2015. 248 с. [*Petin V.G., Morozov I.I.* Sinergetika faktorov okruzhayushchej sredy. М.: GEOS, 2015. 248 s. (In Russian)]
3. *Petin V.G., Komarov V.P.* Mathematical description of synergistic interaction of hyperthermia and ionizing radiation // *Math. Biosci.* 1997. V. 146. № 2. P. 115–130. [https://doi.org/10.1016/S0025-5564\(97\)00078-3](https://doi.org/10.1016/S0025-5564(97)00078-3)
4. *Petin V.G., Kim J.K.* Synergistic Interaction and Cell Responses to Environmental Factors. N.Y.: Nova Science Publishers, 2016. 337 p.
5. *Петин В.Г., Жураковская Г.П., Комарова Л.Н., Рябова С.В.* Зависимость синергизма факторов окружающей среды от их интенсивности // *Экология.* 1998. Т. 29. № 5. С. 383–389. [*Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Komarova L.N., Ryabova S.V.* Zavisimost' sinergizma faktorov okruzhayushchej sredy ot ih intensivnosti // *Ekologiya.* 1998. Т. 29. № 5. С. 383–389. (In Russian)]
6. *Петин В.Г., Жураковская Г.П.* Закономерности проявления максимального синергического взаимодействия // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2014. Т. 54. № 6. С. 589–596. [*Petin V.G., Zhurakovskaya G.P.* Zakonomernosti proyavleniya maksimal'nogo sinergicheskogo vzaimodejstviya // *Radiac. biologiya. Radioekologiya.* 2014. Т. 54. № 6. С. 589–596. (In Russian)] <https://doi.org/10.7868/S0869803114060101>
7. *Евстратова Е.С., Петин В.Г.* Биофизическая интерпретация зависимости синергизма от интенсивности применяемых агентов // *Биофизика.* 2018. Т. 63. № 6. С. 1186–1194. [*Evstratova E.S., Petin V.G.* Biofizicheskaya interpretaciya zavisimosti sinergizma ot intensivnosti primenyaemyh agentov // *Biofizika.* 2018. Т. 63. № 6. С. 1186–1194. (In Russian)] <https://doi.org/10.1134/S0006302918060182>
8. *Богдановский Г.А.* Химическая экология. М.: МГУ, 1994. 237 с. [*Bogdanovskij G.A.* Himicheskaya ekologiya. М.: MGU, 1994. 237 s. (In Russian)]
9. *Bica L., Meyerowitz J., Parker S.J. et al.* Cell cycle arrest in cultured neuroblastoma cells exposed to a bis(thiosemicarbazonato) metal complex // *Biometals.* 2011. V. 24. P. 117–133. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9380-7>
10. *Ceresa C., Bravin A., Cavaletti G. et al.* The combined therapeutic effect of metal-based drugs and radiation

- therapy: the present status of research // *Curr. Med. Chem.* V. 21. Issue 20. 2014. P. 2237–2265.
<https://doi.org/10.2174/0929867321666140216125721>
11. *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. № 1. P. 1–8.
<https://doi.org/10.1016/j.synres.2017.12.001>
 12. *Eichholtz-Wirth H., Hietel B.* Heat sensitization to cisplatin in two cell lines with different drug sensitivities // *Int. J. Hyperthermia*. 1990. V. 6. № 1. P. 47–55.
 13. *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. № 3. P. 581–590.
<https://doi.org/10.3109/02656739009140954>
 14. *Феллер В.* Введение в теорию вероятностей и ее приложения. М.: Мир, 1967. 484 с. [*Feller V.* *Vvedenie v teoriyu veroyatnostej i ee prilozheniya*. М.: Мир, 1967. 484 с. (In Russian)]
 15. *Васина М.В., Васин А.А., Манохин Е.В.* Теория вероятности и математическая статистика. М.: Прометей, 2018. 160 с. [*Vasina M.V., Vasin A.A., Manohin E.V.* *Teoriya veroyatnosti i matematicheskaya statistika*. М.: Прометей, 2018. 160 с. (In Russian)]
 16. *Белкина С.В., Воробей О.А., Жураковская Г.П.* Химическая сенсibilизация термического поражения эукариотических клеток. Свидетельство о государственной регистрации базы данных, охраняемой авторскими правами RUS 2019620924 от 16.05.2019. Официальный Бюл. Роспатент. 2019. № 6. С. 1. [*Belkina S.V., Vorobej O.A., Zhurakovskaya G.P.* *Himicheskaya sensibilizaciya termicheskogo porazheniya eukarioticheskikh kletok*. Svidetel'stvo o gosudarstvennoj registracii bazy dannyh, ohranyaemoj avtorskimi pravami RUS 2019620924 ot 16.05.2019. Oficial'nyj Byulleten' ROSPATENT. 2019. № 6. S. 1. (In Russian)]

Patterns of Synergic Interaction Display after Heavy Metals Combined with Hyperthermia or Ionizing Radiation

M. S. Tolgayeva^a, A. N. Filimonova^b, O. A. Vorobey^a, E. S. Evstratova^{b, #}, and V. G. Petin^a

^a *A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia*

^b *National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia*

[#] *E-mail: ekevs7240@mail.ru*

The objective of the study was to identify the general patterns of synergism display after simultaneous action of heavy metal salts with ionizing radiation or with hyperthermia. The objects of research were *Escherichia coli* bacteria (strain B/r) and diploid yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae* (strain XS800), which were treated with chemical preparations containing salts of heavy metals (copper, platinum, lead, chromium, zinc) at the stationary stage of growth simultaneously with hyperthermia (37–60°C) or ionizing radiation (γ -rays ⁶⁰Co, dose rate 10.8 Gy/min). To demonstrate the generality of the revealed patterns, we used data on the inactivation of Chinese hamster cells (CHO) published by other authors. To quantify the degree of synergism, we used a synergistic enhancement ratio determined by the division of isoeffective doses on the theoretically expected and experimental dose-response curves. Experimental results related with cell survival and the synergistic interaction of the simultaneous application of heavy metal salts with ionizing radiation or hyperthermia are presented. The optimal parameters of acting agents that provide the highest synergistic interaction have been revealed. Any deviation of these parameters from the optimal value leads to a decrease in synergism. It is concluded on the existence of general pattern revealed, which does not depend on the nature of the acting agents, biological objects and tests. Possible mechanisms of the results obtained and directions of their practical application in radiobiology and ecology are discussed.

Keywords: ionizing radiation, heavy metals, hyperthermia, synergism, bacteria, yeast, mammalian cells