

Исследование радиопротекторных свойств фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина при действии ионизирующего излучения на клетки человека

П.С. Купцова ^{1,2}, Л.Н. Комарова ¹, Е.Р. Выпова ¹

¹ Обнинский институт атомной энергетики — филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

² Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения России, Обнинск, Россия

В современном мире сложилась такая обстановка, что развитие ядерной энергетики и применение источников ионизирующих излучений в различных сферах деятельности создали потенциальную угрозу радиационной опасности для человека. В связи с этим актуальным направлением является изучение способов повышения радиорезистентности клеток и тканей человека к действию ионизирующего излучения. Кроме того, радиозащитные соединения имеют важное значение и в лучевой терапии, поскольку нормальные ткани пациентов должны быть защищены от лучевого поражения при использовании высоких доз облучения при лечении злокачественных новообразований. Однако радиопротекторы, применяемые в настоящее время, обладают некоторыми недостатками. Цель работы — исследование радиопротекторных свойств фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина при действии гамма-излучения и излучения ионов ¹²C на опухолевые (нейробластома SK-N-BE) и нормальные (фибробласты hTERT) клетки человека. Действие излучения оценивалось по критериям выживаемости клеток в культуре, времени удвоения и клоногенной активности. Показано, что применение фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина оказывает радиозащитное действие на нормальные и опухолевые клетки при облучении их гамма-излучением в дозах 1, 4, 6 и 10 Гр. Применение фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина не оказывает радиозащитное действие на опухолевые клетки при облучении их ионами ¹²C. Сравнительный анализ результатов действия препаратов при облучении гамма-квантами и ионами ¹²C показал существенную зависимость проявления модифицирующих свойств от качества излучения. Исследование времени удвоения клеток показало, что присутствие в контроле препаратов не увеличивало данный показатель. Напротив, при действии гамма-излучения в дозе 10 Гр препараты снижали время удвоения фибробластов более чем в 2 раза и время удвоения клеток нейробластомы почти в 1,5 раза. Полученные данные говорят о том, что антиоксидантные свойства изученных препаратов открывают новые возможности модификации действия ионизирующего излучения при терапии онкологических заболеваний. Применение фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина позволит уменьшить лучевую нагрузку на здоровые клетки, в том числе снизить действие вторичных продуктов на здоровые клетки за ником Брэгга при действии ионно-углеродной терапии.

Ключевые слова: радиопротекторы, гамма-излучение, ионы ¹²C, фибробласты, нейробластома, выживаемость, клоногенный анализ, время удвоения, фумаровая кислота, фумарат 3-оксипиридина.

Введение

В современном мире актуальной и нерешенной проблемой является увеличение числа онкологических заболеваний. Злокачественные новообразования являются основной причиной смерти во всем мире, на их долю приходится около 10 млн смертей в 2020 г. (каждый шестой случай смерти). Наиболее распространенными видами опухолей являются опухоли молочной железы,

легких, толстой и прямой кишки и рак предстательной железы [1]. В Российской Федерации в 2020 г. выявлено 556 036 случаев онкологических заболеваний, совокупный показатель распространенности составил 2712,9 на 100 тыс. населения [2].

Для лечения онкологических заболеваний применяются различные методы и подходы. Основными являются лучевая терапия [3], хирургический метод [4] и лекарственная

Купцова Полина Сергеевна

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии

Адрес для переписки: 249039, Калужская область, городской округ «Город Обнинск», город Обнинск, тер. Студгородок, д. 1; E-mail: kuptsova_apollinaria@mail.ru

терапия: химиотерапия [5], иммунотерапия [6], гормональная [7], таргетная [8] и фотодинамическая терапия [9].

Одним из основных методов лечения злокачественных новообразований является метод лучевой терапии [3].

Большой трудностью в проведении лучевой терапии является то, что между опухолью и источником излучения чаще всего находятся здоровые ткани [10]. От их объема напрямую зависит количество побочных эффектов от проведенной терапии (развитие лучевых повреждений нормальных тканей) [11].

Адронная терапия, в том числе протонами и углеродными пучками, является на сегодняшний день наиболее эффективной формой лучевой терапии неоперабельных, глубоко расположенных опухолей, в том числе радиорезистентных [12]. Существенным недостатком применения тяжелых заряженных частиц в лечении онкологических заболеваний является их деление на осколки, которые имеют большой пробег по отношению к первичным ионам [13, 14]. В связи с этим растет дозовая нагрузка на здоровые ткани. При этом с увеличением глубины растет количество осколков, достигая своего максимума вблизи пика Брэгга. Вторичными продуктами при ионно-углеродной терапии являются гамма-кванты, нейтроны, электроны, позитроны, протоны, дейтроны, тритоны, альфа-частицы, ^3He , ^6Li , ^7Li , ^9Be , ^{10}Be , ^{10}B , ^{11}B , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{14}N , ^{15}N и ^{16}O [14].

На сегодняшний день актуальным является поиск и разработка различных химических веществ для защиты здоровых тканей от повреждающего действия лучевой терапии [15, 16]. Радиопротекторы, применяемые при терапии опухолей, обладают некоторыми недостатками. Большая часть из них характеризуются острой и хронической токсичностью, которая накапливается при многократном применении. Используемые радиопротекторы также не обеспечивают защиту организма при пролонгированном или фракционированном облучении низкой интенсивности [17]. Поэтому в настоящее время актуальным направлением является поиск новых химических соединений, способных оказывать радиозащитное действие. Широкий поиск возможных радиопротекторов проводится среди антиоксидантных соединений [18].

В работе было проведено исследование радиопротекторных свойств фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина на нормальные и опухолевые клетки человека при действии гамма-излучения и излучения ионов ^{12}C .

Фумаровая кислота – метаболитический промежуточный продукт, который образуется в растениях (например, *Fumaria officinalis*), в коже человека при действии ультрафиолетового излучения, а также при некоторых химических и физических процессах. Фумаровая кислота нашла широкое применение в современной медицине. Препараты на основе фумаровой кислоты оказывают метаболитическое действие, улучшают энергетический и пластический обмен в организме человека, а также оказывают антиоксидантное, противовоспалительное, обезболивающее, антипсориазное, иммуномодулирующее и нейропротекторное действие. Фумаровую кислоту назначают при кардиологических, неврологических, гепатологических патологиях, а также для лечения псориаза, экземы и других кожных заболеваний. Механизм лечебного действия фумаровой кислоты обусловлен тем, что она активирует антиоксидантные сигнальные пути в организме, оказывая защитную роль

в окислительном стрессе, например, в процессе воспаления [19, 20, 21].

Фумарат 3-оксипиридина (далее фумарат 3-ОП) – химическое вещество, имеющее гидроксильную группу в пиридиновом ядре и обладающее в связи с этим антирадикальной, антиокислительной, метаболитической и кардиопротекторной активностью [22, 23]. Вещество является солью 2-метил-6-этил-3-гидроксипиридина с фумаровой кислотой, получаемое при взаимодействии 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина и фумаровой кислоты в среде растворителя. Вещество может быть использовано при лечении эндокринных, сердечно-сосудистых заболеваний, в неотложной терапии и реанимации [23].

Особый интерес представляет собой исследование наличия у перечисленных веществ радиопротекторных качеств, которые могут быть обусловлены наличием антиокислительных, антиоксидантных и антирадикальных свойств. Следовательно, дальнейшие работы по изучению свойств фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина являются актуальными.

Цель исследования – изучение радиопротекторных свойств фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина при действии гамма-излучения и излучения ионов ^{12}C на опухолевые и нормальные клетки человека.

Материалы и методы

Объект исследования. Клеточные линии: фибробласты hTERT – нормальные клетки соединительной ткани и нейробластома SK-N-BE – эмбриональная опухоль стволовых нервных клеток – нейробластов.

Методика. Клетки культивировали по стандартной методике [24]. Культивация происходила 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 глутамин (292 мг/л) («ПанЭко», Россия). Поддерживали жизнеспособность культур в CO_2 -инкубаторе при температуре 37°C («CB 53 Binder», Германия) и при 5% содержании CO_2 .

Перед началом облучения флаконы с монослоем трипсинизировали раствором Трипсина – Версена (1:1), готовили суспензию клеток, осуществляли подсчет клеток в камере Горяева, доводя суспензию до нужной концентрации $\sim 5 \times 10^4$ кл/мл. Далее клетки помещали для последующего облучения в пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл. Клетки инкубировали с исследуемыми препаратами в концентрациях 0,05 мг/мл в течение 24 ч, основываясь на работе [25], а также на результатах тестов (время удвоения, МТТ-тест) на токсичность исследуемых препаратов, проведенных самостоятельно авторами статьи. Транспортировку клеток осуществляли при температуре тающего льда.

Тест: анализ клоногенной активности (выживаемость). Клетки инкубировали в течение 7–14 дней до формирования колоний, видимых невооруженным глазом (в диаметре не менее 0,75 мм). Время удвоения: облученные клетки высеивают в чашки Петри в концентрации $1 \cdot 10^4$ клеток на чашку. Клетки культивировали в течение 48 ч. Затем сливали питательную среду и промывали раствором Трипсина – Версена, добавляли 1 мл указанного раствора, а затем оставляли в термостате на 30 мин. Снятые

с поверхности клетки подсчитывали в камере Горяева. Время удвоения рассчитывали по формуле:

$$D = tp * \frac{\log 2}{\log\left(\frac{N_2}{N_1}\right)}, \quad (1)$$

где tp – время культивирования, N_1 – начальное количество клеток, N_2 – конечное количество клеток.

Исследуемые препараты: фумаровая кислота, фумарат 3-оксипиридина.

Источники ионизирующего излучения и условия облучения. На часть клеток действовало только ионизирующее излучение, часть клеток облучали с препаратом. Контролем служили интактные клетки (необлученные и не обработанные препаратами). После процедуры облучения и на протяжении доставки в лабораторию клетки выдерживали при температуре тающего льда.

Облучение ионами ^{12}C проводили на каскаде ускорителя «У-70» Института физики высоких энергий (ИФВЭ) ФГБУ ГНЦ РФ «Курчатовский институт» (г. Протвино). Облучение осуществлялось в водном фантоме со средней энергией 455,8 МэВ/нуклон. Дозы облучения: 1, 4, 6, 10 Гр.

Облучение гамма-квантами проводили на уникальной научной установке ФГБНУ ВНИИРАЭ «ГУР-120» (источник ионизирующего излучения ^{60}Co , $E_{\text{ср}} = 1,25$ МэВ). Мощность дозы составила 0,9 Гр/мин. Дозы облучения: 1, 4, 6, 10 Гр.

Каждая серия опытов повторялась 3–5 раз. Обработку полученной информации и графическое представление данных проводили с использованием пакета приложений Microsoft Office 2010. Графические изображения были созданы в программе SigmaPlot 11.0. Для оценки значимости различий средних величин выживаемости, полученных в разных сериях опытов, оценивали с применением непараметрического критерия Крамера – Уэлча, т.к. длина вариационного ряда не превышала 3 значений. Наблюдаемые различия считали статистически значимыми (достоверными) при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлен результат действия ионизирующего излучения (^{60}Co) без препаратов (кривая 1, светлые круги), в присутствии фумаровой кислоты (кривая 3, темные круги) или фумарата (кривая 2, темные квадраты) на фибробласты человека. Фактор изменения дозы (ФИД), определяемый отношением изозффективных доз D_0 , составляет 1,5 для фумаровой кислоты и 1,2 для фумарата. Данные рисунка 1 свидетельствуют о значимых протекторных свойствах фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина по отношению к действию γ -излучения на нормальные клетки человека.

Далее на рисунке 2 представлены результаты исследования действия ионизирующего излучения (^{60}Co) без препаратов (кривая 1, светлые ромбы), в присутствии фумаровой кислоты (кривая 3, темные шестиугольники) или фумарата (кривая 2, темные треугольники) на клетки нейробластомы человека. Фактор изменения дозы (ФИД), определяемый отношением изозффективных доз D_0 , составляет 1,3 для фумаровой кислоты и 1,1 для фумарата. Данные рисунка 2 свидетельствуют о наличии радиопротекторных свойств фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина по отношению к действию γ -излучения и на опухолевые клетки человека, что объясняется неселективностью изучаемых препаратов к нормальным клеткам человека.

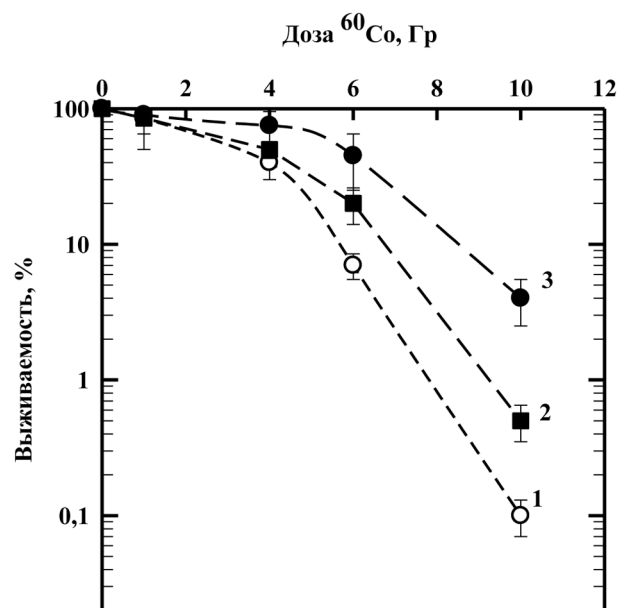


Рис. 1. Влияние фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина на выживаемость фибробластов человека, облученных γ -квантами. Светлые значки – действие излучения, темные – результат действия излучения в присутствии препаратов

[Fig. 1. Effect of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate on the survival of human fibroblasts irradiated with γ -rays. Light symbols – the effect of radiation, dark symbols – the result of the action of radiation in the presence of the drugs]

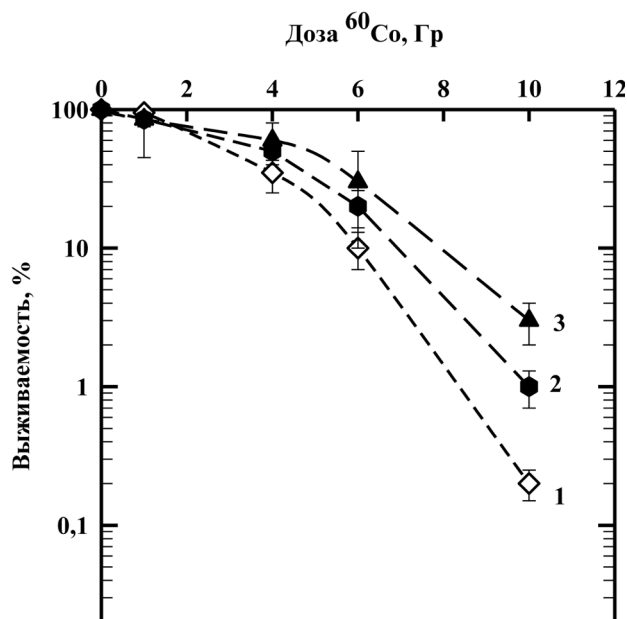


Рис. 2. Влияние фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина на выживаемость клеток нейробластомы человека, облученных γ -квантами. Светлые значки – действие излучения, темные – результат действия излучения в присутствии препаратов

[Fig. 2. Effect of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate on the survival of human neuroblastoma cells irradiated with γ -rays. Light icons – the effect of radiation, dark – the result of the action of radiation in the presence of the drugs]

Представляло интерес проверить степень проявления защитных свойств исследуемых препаратов при действии ионов ^{12}C на клетки нейробластомы человека. Ионы ^{12}C обладают большим поражающим действием на клетки, чем гамма-излучение. В то же время при нейробластоме стандартные методы лучевой терапии редко входят в схему лечения из-за высокого риска развития отдаленных осложнений у детей. Особенно важно не допустить облучения здоровых тканей позвоночника (спинной мозг), суставов, яичников. Терапия ионами углерода в большей степени, чем другие виды лучевой терапии, позволяет минимально воздействовать на окружающие здоровые ткани.

Далее на рисунке 3 представлены результаты исследования действия ионизирующего излучения (^{12}C) без препаратов (кривая 1, светлые ромбы), в присутствии фумаровой кислоты (кривая 3, темные ромбы) или фумарата (кривая 2, темные треугольники) на клетки нейробластомы человека. Из рисунка 3 видно, что при действии ионов углерода препараты не проявили защитного действия, что может быть объяснено высокой ОБЭ ионного излучения. Теоретически это представляет большой интерес, так как здоровые клетки, находящиеся за пиком Брэгга, могут быть защищены от вторичных продуктов ионно-углеродной терапии (например, гамма-квантов [14]), в то время как на опухолевые клетки радиозащитное действие препаратов распространяться не будет.

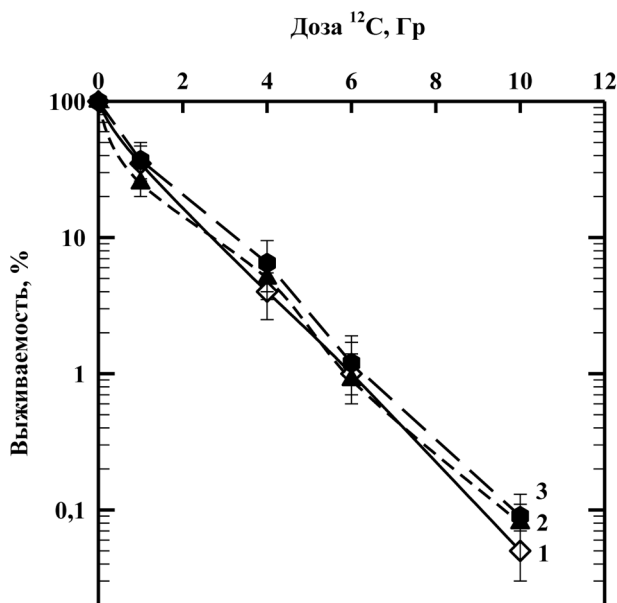


Рис. 3. Влияние фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина на выживаемость клеток нейробластомы человека, облученных ионами ^{12}C . Светлые значки – действие излучения, темные – результат действия излучения в присутствии препаратов
[Fig. 3. Effect of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate on the survival of human neuroblastoma cells irradiated with ^{12}C ions. Light icons – the effect of radiation, dark – the result of the action of radiation in the presence of drugs]

На следующем этапе работы оценивалось влияние облучения, препаратов и их комбинированного действия на исследуемые клеточные линии по показателю – время удвоения. В суспензию клеток вносили препарат, который

до облучения действовал на клетки в течение 24 ч, затем клетки облучали.

Данные по изменению времени удвоения нормальных клеток человека (фибробластов) представлены на рисунке 4. Точки 1, 2 и 3 отображают время удвоения intactных клеток, клеток, инкубированных 24 ч с фумаровой кислотой и клеток, инкубированных 24 ч с фумаратом, соответственно. Кривая 4 – действие гамма-излучения без препаратов, кривая 5 – действие гамма-излучения на клетки, инкубированные в присутствии фумаровой кислоты, кривая 6 – действие гамма-излучения на клетки, инкубированные в присутствии фумарата. Из рисунка 4 видно, что присутствие в контроле препаратов не увеличивало время удвоения клеток. Напротив, при действии гамма-излучения препараты существенно снижали время удвоения клеток – более чем в 2 раза при дозе излучения 10 Гр.

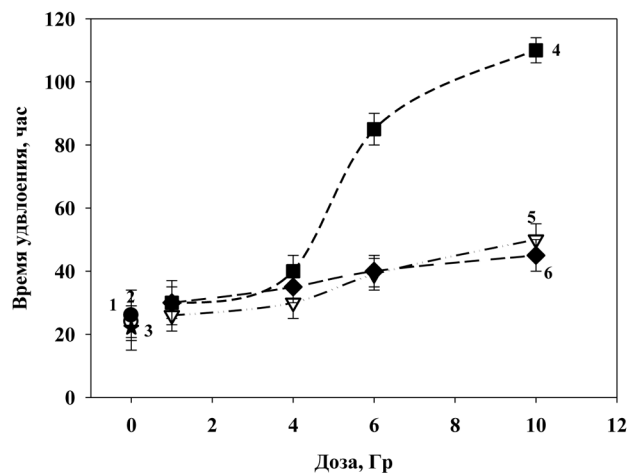


Рис. 4. Влияние фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина на время удвоения фибробластов человека, облученных γ -квантами
[Fig. 4. Effect of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate on the doubling time of human fibroblasts irradiated with γ -rays]

Данные по изменению времени удвоения опухолевых клеток человека (нейробластома) представлены на рисунке 5. Точки 1, 2 и 3 отображают время удвоения intactных клеток, клеток, инкубированных 24 ч с фумаровой кислотой, и клеток, инкубированных 24 ч с фумаратом, соответственно. Кривая 4 – действие гамма-излучения без препаратов, кривая 5 – действие ионов ^{12}C без препаратов, кривая 6 – действие гамма-излучения на клетки, инкубированные в присутствии фумаровой кислоты, кривая 7 – действие гамма-излучения на клетки, инкубированные в присутствии фумарата, кривая 8 – действие ионов ^{12}C на клетки, инкубированные в присутствии фумаровой кислоты, кривая 9 – действие ^{12}C на клетки, инкубированные в присутствии фумарата. Из рисунка 5 видно, что присутствие в контроле препаратов также не увеличивало время удвоения клеток. Напротив, при действии двух видов ионизирующего излучения препараты снижали время удвоения клеток: почти в 1,5 раза при действии гамма-излучения в дозе 10 Гр и в 1,3 раза при действии ионов ^{12}C в дозе 10 Гр.

Продemonстрированные результаты говорят о том, что антиоксидантные свойства изученных препаратов

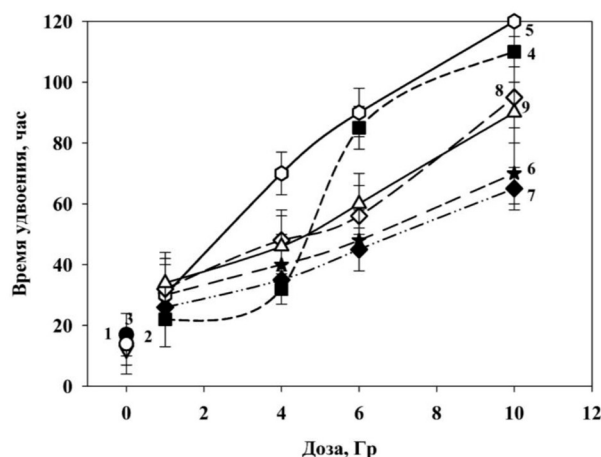


Рис. 5. Влияние фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина на время удвоения клеток нейробластомы человека, облученных γ -квантами и ионами ^{12}C
[Fig. 5. Effect of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate on the doubling time of human neuroblastoma cells irradiated with γ -rays and ^{12}C ions]

открывают новые возможности модификации действия ионизирующего излучения при терапии онкологических заболеваний. Применение фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина позволит уменьшить лучевую нагрузку на здоровые клетки, в том числе снизить действие вторичных продуктов на здоровые клетки за пиком Брэгга при действии ионно-углеродной терапии.

Заключение

В ходе данной работы было проведено исследование радиозащитных свойств фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина на здоровых и опухолевых клетках человека при действии гамма-излучения и ионов ^{12}C .

Показано, что применение фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина оказывает радиозащитное действие на нормальные и опухолевые клетки при облучении их гамма-излучением в дозах 1, 4, 6 и 10 Гр. Проявление радиопротекторных свойств у фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина по отношению к действию γ -излучения на опухолевые клетки человека объясняется тем, что исследуемые препараты не обладают селективностью по отношению к нормальным клеткам человека.

Показано, что применение фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина не оказывает радиозащитное действие на опухолевые клетки при облучении их ионами ^{12}C . При действии ионов углерода препараты не наблюдались радиозащитный эффект. Это объясняется высокой ОБЭ ионного излучения. Полученные данные представляют большой интерес, так как нормальные ткани, находящиеся за пиком Брэгга, могут быть защищены от вторичных продуктов ионно-углеродной терапии (например, гамма-квантов), в то время как опухолевые клетки не будут подвергаться радиозащитному действию препаратов.

В статье сравнивается модифицирующее действие изучаемых препаратов при комбинированном применении их либо с гамма-квантами (см. рис. 1 и 2), либо с ионами углерода (см. рис. 3). Из полученных данных видно, что применение фумаровой кислоты и фумара-

та 3-оксипиридина оказывает радиозащитное действие на нормальные и опухолевые клетки при облучении их гамма-излучением в дозах 1, 4, 6 и 10 Гр (см. рис. 1 и 2). Применение фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина не оказывает радиозащитное действие на опухолевые клетки при облучении их ионами ^{12}C в дозах 1, 4, 6 и 10 Гр (см. рис. 3).

В нашей работе применяются два принципиально разных по качеству излучения: гамма-кванты – это фотонное излучение, характеризующееся в основном косвенным действием на живые объекты, связанным с развитием перекисного окисления липидов и окислительным стрессом. Двойные разрывы ДНК, которые сложно репарируются, при таком облучении наблюдаются лишь при высоких дозах.

Облучение высокоэнергетическими ионами углерода – второй тип излучения, который используется в данной работе. Данный вид излучения является плотной ионизирующим и характеризуется прямым действием, которое вызывает появление большого числа двухнитевых разрывов ДНК.

Также в работе было оценено влияние облучения, препаратов и их комбинированного действия на время удвоения клеток. Присутствие в контроле препаратов не увеличивало время удвоения клеток, что подтверждает проведенные ранее исследования об отсутствии токсичности препаратов в исследуемой концентрации. Напротив, при действии гамма-излучения препараты существенно снижали время удвоения фибробластов более чем в 2 раза при дозе 10 Гр и время удвоения клеток нейробластомы почти в 1,5 раза. Также время удвоения клеток нейробластомы снижалось в 1,3 раза при действии ионов ^{12}C в дозе 10 Гр.

Полученные данные позволяют говорить о том, что исследованные препараты, помимо всего прочего, проявляют радиозащитные свойства и могут быть исследованы далее в качестве радиопротекторов на других видах ионизирующего излучения, а также на более широком спектре культур клеток человека. Все это в конечном счете открывает новые возможности уменьшения лучевой нагрузки на здоровые ткани человека, в том числе снижения поражающего действия вторичных продуктов на здоровые клетки за пиком Брэгга при действии ионно-углеродной терапии.

Сведения о личном вкладе авторов в работу над статьей

Купцова П.С. – разработка дизайна исследования, сбор и анализ данных, обработка полученных результатов, формулировка научных гипотез, написание текста.

Комарова Л.Н. – научное руководство исследованием, разработка дизайна исследования, формулировка научных гипотез, финальное редактирование статьи.

Выпова Е.Р. – сбор и анализ данных, обработка полученных результатов.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об источнике финансирования

Публикация не имела финансовой поддержки.

Литература

1. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview // International

- Journal of Cancer. 2021. Vol. 149, No. 4. P. 778–789. DOI:10.1002/jjc.33588.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. 252 с.
3. Abshire D., Lang, M.K. The Evolution of Radiation Therapy in Treating Cancer // *Seminars in oncology nursing*. 2018. Vol. 34, No. 2. P. 151–157. DOI:10.1016/j.soncn.2018.03.006.
4. Ben Barak A., Golan H., Waldman D., Arkovitz M.S. Surgical Treatment of Neuroblastoma // *The Israel Medical Association journal: IMAJ*. 2017. Vol. 19, No. 11, P. 691–695.
5. Wang H., Mao X. Evaluation of the Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer // *Drug design, development and therapy*. 2020. Vol. 14. P. 2423–2433. DOI: 10.2147/DDDT.S253961.
6. Thomas R., Al-Khadairi G., Roelands J., et al. NY-ESO-1 Based Immunotherapy of Cancer: Current Perspectives // *Frontiers in immunology*. 2018. Vol. 9. DOI:10.3389/fimmu.2018.00947.
7. Li H., Liu Y., Wang Y., et al. Hormone therapy for ovarian cancer: Emphasis on mechanisms and applications (Review) // *Oncology reports*. 2021. Vol. 46, No. 4. DOI:10.3892/or.2021.8174.
8. Lee Y.T., Tan Y.J., Oon C.E. Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity // *European journal of pharmacology*. 2018. Vol. 834. P. 188–196. DOI:10.1016/j.ejphar.2018.07.034.
9. Lange C., Bednarski P.J. Photosensitizers for Photodynamic Therapy: Photochemistry in the Service of Oncology // *Current pharmaceutical design*. 2016. Vol. 22, No. 46. P. 6956–6974. DOI:10.2174/1381612822666161124155344.
10. Wang K., Tepper J.E. Radiation therapy-associated toxicity: Etiology, management, and prevention // *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021. Vol. 71, No. 5. P. 437–454. DOI: 10.3322/caac.21689.
11. Gardner S.J., Kim J., Chetty I.J. Modern Radiation Therapy Planning and Delivery // *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2019. Vol. 33, No. 6. P. 947–962. DOI:10.1016/j.hoc.2019.08.005.
12. Hwang E.J., Gorayski P., Le H., et al. Particle therapy tumour outcomes: An updated systematic review // *Journal of medical imaging and radiation oncology*. 2020. Vol. 64, No. 5. P. 711–724. DOI:10.1111/1754-9485.13021.
13. Aricò G., Gehrke T., Gallas R., et al. Investigation of single carbon ion fragmentation in water and PMMA for hadron therapy // *Physics in medicine and biology*. 2019. Vol. 64, No. 5. DOI:10.1088/1361-6560/aafa46.
14. Johnson D., Chen Y., Ahmad S. Dose and linear energy transfer distributions of primary and secondary particles in carbon ion radiation therapy: A Monte Carlo simulation study in water // *Journal of medical physics*. 2015. Vol. 40, No. 4. P. 214–219. DOI:10.4103/0971-6203.170785.
15. Aliper A.M., Bozdoganyan M.E., Sarkisova V.A., et al. Radioprotectors.org: an open database of known and predicted radioprotectors // *Aging*. 2020. Vol. 12, No. 15. P. 15741–15755. DOI:10.18632/aging.103815.
16. Mun G.I., Kim S., Choi E., et al. Pharmacology of natural radioprotectors // *Archives of Pharmacological Research*. 2018. Vol. 41, No. 11. P. 1033–1050. DOI:10.1007/s12272-018-1083-6.
17. Mishra K., Alsbeih G. Appraisal of biochemical classes of radioprotectors: evidence, current status and guidelines for future development // *3 Biotech*. 2017. Vol. 7, No. 5. DOI: 10.1007/s13205-017-0925-0.
18. Бутомо Н.В., Гребенюк А.Н., Легеза В.И., и др. Основы медицинской радиобиологии. Под общ. Ред. Ушакова И.Б. СПб., изд. «Фолиант», 2004. 380 с.
19. Ilica R.A., Kloetzer L., Galaction A.I., Cașcaval D. Fumaric acid: production and separation // *Biotechnology letters*. 2019. Vol. 41, No. 1. P. 47–57. DOI:10.1007/s10529-018-2628-y.
20. Wipke B.T., Hoepner R., Strassburger-Krogias K., et al. Different Fumaric Acid Esters Elicit Distinct Pharmacologic Responses // *Neurology(R) neuroimmunology & neuroinflammation*. 2021. Vol. 8, No. 2. DOI:10.1212/NXI.0000000000000950.
21. Volc-Platzer B. Fumaric acid esters for paediatric psoriasis // *The British journal of dermatology*. 2021. Vol. 185, No. 1. P. 5–6. DOI: 10.1111/bjd.20057.
22. Коршунова А.Б., Костычев Н.А., Инчина В.И., Чаиркин И.Н. Перспективы фармакологической коррекции острой ишемии головного мозга // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2009. Т. 11, № 1. С. 1287–1290.
23. Сайт «Соль 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина с фумаровой кислотой, обладающая метаболической и кардиопротекторной активностью, и способ ее получения». URL: <https://patents.google.com/patent/RU2365582C1/ru> (Дата обращения: 11.11.2022).
24. Прилепский А.Ю., Дроздов А.С., Богатырев В.А., Староверов С.А. Методы работы с клеточными культурами и определение токсичности наноматериалов. СПб: Университет ИТМО, 2019. 43 с.
25. Уланова Т.В., Инчина В.И., Русейкин Н.С. и др. Исследование влияния новых производных 3-гидроксипиридина и препаратов сравнения на выживаемость и некоторые биохимические показатели крови белых крыс при экспериментальном диабете // *Вестник Мордовского университета*. 2016. Т. 26, № 2. С. 180–191.

Поступила: 14.12.2022 г.

Купцова Полина Сергеевна – преподаватель отделения биотехнологий, Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия; младший научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России. **Адрес для переписки:** 249039, Калужская область, городской округ «Город Обнинск», город Обнинск, тер. Студгородок, д. 1. E-mail: kuptsova_apollinaria@mail.ru

Комарова Людмила Николаевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биологии, Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

Выпова Елена Романовна – заведующая учебно-научной лабораторией биологии, Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

Для цитирования: Купцова П.С., Комарова Л.Н., Выпова Е.Р. Исследование радиопротекторных свойств фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина при действии ионизирующего излучения на клетки человека // *Радиационная гигиена*. 2023. Т. 16, № 1. С. 32–39. DOI: 10.21514/1998-426X-2023-16-1-32-39

Study of the radioprotective properties of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate under the action of ionizing radiation on human cells

Polina S. Kuptsova ^{1,2}, Lyudmila N. Komarova ¹, Elena R. Vypova ¹

¹Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia

²A. Tsyb National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

In the modern world, such a situation has developed that the development of nuclear energy and the use of sources of ionizing radiation in various fields of activity have created a potential threat of radiation hazard to humans. In this connection, the actual direction is the study of ways to increase the radioresistance of human cells and tissues to the action of ionizing radiation. In addition, radioprotective compounds are also important in radiotherapy, since normal tissues of patients must be protected from radiation damage when using high doses of radiation in the treatment of malignant neoplasms. However, the radioprotectors currently used have some disadvantages. The aim of this work is to study the radioprotective properties of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate under the action of gamma radiation and radiation of ¹²C ions on tumor (SK-N-BE neuroblastoma) and normal (hTERT fibroblasts) human cells. The effect of radiation was evaluated according to the criteria of cell survival in culture, doubling time and clonogenic activity. It has been shown that the use of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate has a radioprotective effect on normal and tumor cells when they are irradiated with gamma radiation at doses of 1, 4, 6 and 10 Gy. The use of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate does not have a radioprotective effect on tumor cells when they are irradiated with ¹²C ions. A comparative analysis of the results of the action of the preparations with gamma rays and ¹²C ions showed a significant dependence of the manifestation of modifying properties on the quality of radiation. The study of cell doubling time showed that the presence of drugs in the control did not increase this indicator. On the contrary, under the action of gamma radiation at a dose of 10 Gy, the preparations reduced the doubling time of fibroblasts by more than two times and the doubling time of neuroblastoma cells by almost 1.5 times. The data obtained indicate that the antioxidant properties of the studied preparations open up new possibilities for modifying the action of ionizing radiation in the treatment of oncological diseases. The use of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate will reduce the radiation load on healthy cells, including reducing the effect of secondary products on healthy cells beyond the Bragg peak under the action of carbon ion therapy.

Key words: radioprotectors, gamma radiation, ¹²C ions, fibroblasts, neuroblastoma, survival, clonogenic analysis, doubling time, fumaric acid, 3-oxypridine fumarate.

Authors' personal contribution

Polina S. Kuptsova – development of the study design, data collection and analysis, processing of results, determination of the aim of the study, writing the text of the article.

Lyudmila N. Komarova – scientific management of the study, development of the study design, determination of the aim of the study, final editing of the article.

Elena R. Vypova – data collection and analysis, processing of results.

Conflict of interest

The authors have no conflicts of interest to disclose.

Information about the source of funding

The study was not financially supported.

References

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International Journal of Cancer*. 2021;149(4):778–789. – Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.33588>. DOI:10.1002/ijc.33588. [Accessed 5 Jul 2022].
2. Kaprin AD, Starinsky VV, Shahzadova AO Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality). Moscow: National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2021. 252 p. (In Russian).
3. Abshire D, Lang MK. The Evolution of Radiation Therapy in Treating Cancer. *Seminars in Oncology Nursing*. 2018;34(2):151–157. – Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0749208118300196?via%3Dihub>. DOI:10.1016/j.soncn.2018.03.006. [Accessed 13 Mar 2022].
4. Ben Barak A, Golan H, Waldman D, Arkovitz MS. Surgical Treatment of Neuroblastoma. *Israel Medical Association Journal*. 2017 v;19(11):691–695. – Available from: <https://www.ima.org.il/MedicinellMAJ/viewarticle.aspx?year=2017&month=11&page=691>.
5. Wang H, Mao X. Evaluation of the Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *Drug Design, Development and Therapy*. 2020;14:2423–2433. – Available from: <https://www.dovepress.com/evaluation-of-the-efficacy-of-neoadjuvant-chemotherapy-for-breast-canc-peer-reviewed-fulltext-article-DDDT>. DOI: 10.2147/DDDT.S253961. [Accessed 18 Jun 2022].
6. Thomas R, Al-Khadairi G, Roelands J, Hendrickx W, Dermime S, Bedognetti D, et al. NY-ESO-1 Based Immunotherapy of Cancer: Current Perspectives. *Frontiers in Immunology*

Polina S. Kuptsova

Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering

For correspondence: Studgorodok, 1, Obninsk, Kaluga region, 249040, Russia; Email: kuptsova_apollinaria@mail.ru

- 2018 1;9:947. 2433 – Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5941317/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.00947. [Accessed 1 May 2022].
7. Li H, Liu Y, Wang Y, Zhao X, Qi X. Hormone therapy for ovarian cancer: Emphasis on mechanisms and applications (Review). *Oncology Reports*. 2021;46(4):223. 2433 – Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8424487/>. DOI:10.3892/or.2021.8174. [Accessed 26 Aug 2022].
8. Lee YT, Tan YJ, Oon CE. Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity. *European Journal of Pharmacology*. 2018 5;834:188-196. – Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299918304011?via%3Dihub>. DOI:10.1016/j.ejphar.2018.07.034. [Accessed 20 Jul 2022].
9. Lange C, Bednarski PJ. Photosensitizers for Photodynamic Therapy: Photochemistry in the Service of Oncology. *Current Pharmaceutical Design*. 2016;22(46):6956-6974. DOI:10.2174/1381612822666161124155344.
10. Wang K, Tepper JE. Radiation therapy-associated toxicity: Etiology, management, and prevention. *A Cancer Journal for Clinicians*. 2021;71(5):437-454. – Available from: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.10.3322/caac.21689>. [Accessed 3 Oct 2022].
11. Gardner SJ, Kim J, Chetty IJ. Modern Radiation Therapy Planning and Delivery. *Hematology/oncology clinics of North America*. 2019;33(6):947-962. – Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S088985881930098X?via%3Dihub>. DOI:10.1016/j.hoc.2019.08.005. [Accessed 10 Sep 2021].
12. Hwang EJ, Gorayski P, Le H, Hanna GG, Kenny L, Penniment M, et al. Particle therapy tumour outcomes: An updated systematic review. *Journal of Medical Imaging and Radiation Oncology* 2020;64(5):711-724. DOI:10.1111/1754-9485.13021.
13. Aricò G, Gehrke T, Gallas R, Mairani A, Jäkel O, Martišková M. Investigation of single carbon ion fragmentation in water and PMMA for hadron therapy. *Physics in Medicine and Biology*. 2019 7;64(5):055018. – Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6560/aafa46>. DOI:10.1088/1361-6560/aafa46. [Accessed 1 Oct 2021].
14. Johnson D, Chen Y, Ahmad S. Dose and linear energy transfer distributions of primary and secondary particles in carbon ion radiation therapy: A Monte Carlo simulation study in water. *Journal of Medical Physics*. 2015;40(4):214-9. – Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4728892/>. DOI:10.4103/0971-6203.170785. [Accessed 11 Oct 2022].
15. Aliper AM, Bozdoganyan ME, Sarkisova VA, Veviorsky AP, Ozerov IV, Orekhov PS, et al. Radioprotectors.org: an open database of known and predicted radioprotectors. *Aging (Albany NY)*. 2020 15;12(15):15741-15755. – Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7467366/>. DOI:10.18632/aging.103815. [Accessed 11 Oct 2022].
16. Mun GI, Kim S, Choi E, Kim CS, Lee YS. Pharmacology of natural radioprotectors. *Archives of Pharmacological Research*. 2018;41(11):1033-1050. – Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6224001/>. DOI:10.1007/s12272-018-1083-6
17. Mishra K, Alsbeih G. Appraisal of biochemical classes of radioprotectors: evidence, current status and guidelines for future development. *Biotech*. 2017;7(5):292. – Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5574734/>. DOI: 10.1007/s13205-017-0925-0. [Accessed 12 Oct 2022].
18. Butomo NV, Grebenjuk AN, Legeza VI, et al. Fundamentals of medical radiobiology. Saint Petersburg, «Foliant»; 2004. 380 p. (In Russian).
19. Ilica RA, Kloetzer L, Galaction AI, Cașcaval D. Fumaric acid: production and separation. *Biotechnology Letters*. 2019;41(1):47-57. DOI:10.1007/s10529-018-2628-y.
20. Wipke BT, Hoepner R, Strassburger-Krogias K, Thomas AM, Gianni D, Szak S, et al. Different fumaric acid esters elicit distinct pharmacologic responses. *Neurology Neuroimmunology & Neuroinflammation*. 2021;19;8(2):e950. – Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7862084/>. DOI:10.1212/NXI.0000000000000950. [Accessed 21 May 2022].
21. Volc-Platzer B. Fumaric acid esters for paediatric psoriasis. *British Journal of Dermatology*. 2021;185(1):5-6. DOI: 10.1111/bjd.20057.
22. Korshunova AB, Kostychev NA, Inchina VI, Chairkin IN. Prospects for pharmacological correction of acute cerebral ischemia. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2009;11(1):1287-1290. (In Russian).
23. Site Salt of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine with fumaric acid with metabolic and cardioprotective activity, and method for its production: Available from: <https://patents.google.com/patent/RU2365582C1/ru>. [Accessed Nov 11 2022]. (In Russian).
24. Prilepsky AY., Drozdov AS, Bogatyrev VA, Staroverov SA. Methods of working with cell cultures and determination of toxicity of nanomaterials. Saint Petersburg: ITMO University, 2019. 43 p. (In Russian).
25. Ulanova TV, Inchina VI, Rusejkin NS, Hudojkina SV, Romanova JeV. Investigation of the effect of new 3-hydroxypyridine derivatives and comparators on survival and some biochemical blood parameters of white rats in experimental diabetes. *Mordovia University Bulletin*. 2016;26(2):180-191. – Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-vliyaniya-novyh-proizvodnyh-3-gidroksipiridina-i-preparatov-sravneniya-na-vyzhivaemost-i-nekotorye-biohimicheskie>. [Accessed 14 Oct 2022]. (In Russian).

Received: December 14, 2022

For correspondence: Polina S. Kuptsova – Lecturer in the Department of Biotechnology, Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia; Junior Researcher, A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center, the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia. (Studgorodok, 1, Obninsk, Kaluga region, 249040, Russia; Email: kuptsova_apollinaria@mail.ru)

Luidmila N. Komarova – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Biology, Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia

Elena R. Vypova – Head of Educational and Scientific Laboratory of Biology, Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia

For citation: Kuptsova P.S., Komarova L.N., Vypova E.R. Study of the radioprotective properties of fumaric acid and 3-hydroxypyridine fumarate under the action of ionizing radiation on human cells. *Radiatsionnaya Gygiena = Radiation Hygiene*. 2023. Vol. 16, No. 1. P. 32-39. (In Russian). DOI: 10.21514/1998-426X-2023-16-1-32-39