

РАДИОЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ ЭКЗОГЕННОГО ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 ПРИ ТОТАЛЬНОМ ОБЛУЧЕНИИ МЫШЕЙ ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ РАЗЛИЧНОЙ МОЩНОСТИ

© 2024 г. Е.Е. Карманова*, Р.Г. Гончаров*, В.И. Брусков**,
В.И. Новоселов*, М.Г. Шарапов*,[#]

*Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
Институтская ул., 3, Пущино Московской области, 142290, Россия

**Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Институтская ул., 3, Пущино Московской области, 142290, Россия

[#]E-mail: sharapov.mg@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.04.2024 г.

После доработки 25.04.2024 г.

Принята к публикации 08.05.2024 г.

Поиск эффективных и безопасных радиомодулирующих соединений для снижения радиорезистентности рака и/или минимизации сопутствующего радиационного поражения нормальных тканей остается актуальной проблемой в рамках лучевой терапии. Представитель семейства тиол-зависимых пероксидаз пероксиредоксин 6 является перспективным кандидатом для решения этой проблемы. Однако в исследованиях зачастую уделяется недостаточно внимания параметрам излучения, а для экзогенного пероксиредоксина 6 сведения о влиянии различных параметров излучения на радиозащитный эффект вовсе отсутствуют. В работе показаны особенности радиозащитного эффекта пероксиредоксина 6 и его мутантной формы Prx6-C47S (не обладающей пероксидазной активностью) при внутривенном введении (20 мкг/г) мышам незадолго до облучения рентгеновским или γ -излучением с различной мощностью дозы и временем воздействия. Выживаемость животных в группах «10 Гр γ -облучение, 0.125 Гр/мин» и «7 Гр рентгеновское облучение, 1 Гр/мин» (разница в 8 раз по мощности дозы и по времени воздействия) была сопоставима как для контрольных, так и для опытных групп.

Ключевые слова: Prx6, радиопротектор, рентгеновское излучение, γ -излучение, мощность дозы.

DOI: 10.31857/S0006302924060195, **EDN:** NJUUBA

Лучевая терапия уже длительное время является одним из основных методов лечения различных видов рака, а 98% дозы радиации, получаемой населением от всех искусственных источников, приходится на медицинское воздействие [1]. Однако как проблема сопутствующего радиационного поражения нормальных тканей при лучевой терапии, так и проблема радиорезистентности рака остаются нерешенными [2–6]. Кроме того, несмотря на обширные исследования одобренных общих радиозащитных препаратов по-прежнему крайне мало, они имеют ряд клини-

чески значимых ограничений и далеки от идеала [4, 7].

Значительная часть радиобиологических исследований сосредоточена на эффектах, индуцированных гамма-излучением или рентгеновскими лучами, имеющими низкую линейную передачу энергии (ЛПЭ) [7]. Исследования проводятся при различных параметрах облучения [8–11], среди которых мощности дозы зачастую уделяется недостаточно внимания. При этом в контексте лучевой терапии данный параметр может оказаться критически важным для эффективного лечения [12].

Одними из широко исследуемых потенциальных радиопротекторов и модификаторов реакции на лучевую терапию являются пероксиредоксины (Prx) – эволюционно древнее семейство широко распространенных тиол-зависимых пероксидаз. У млекопитающих обнаружено шесть различных

Сокращения: ЛПЭ – линейная передача энергии, Prx – пероксиредоксин, aiPLA2 – Ca^{2+} -независимая фосфолипаза A2, X-ray – рентгеновское облучение с мощностью дозы 1 Гр/мин, γ – гамма-облучение с мощностью дозы 0.125 Гр/мин, ЛД100/30 – абсолютно летальная доза, ЛД_{50/30} – полутетальная доза, ОБЭ – относительная биологическая эффективность.

изоформ Prx (Prx1–6), которые представлены практически во всех тканях и клеточных органоидах [3]. В нормальных физиологических условиях Prx1–6 защищают клетки от окислительного стресса [13, 14]. В раковых клетках наблюдается повышенный уровень экспрессии генов PRDX, что коррелирует с устойчивостью опухолей к лучевой терапии. Кроме того, раковые клетки аномальным образом секретируют некоторые изоформы Prx в межклеточное пространство, оказывая тем самым влияние на опухолевое микроокружение [15]. Подавление экспрессии PRDX в раковых клетках зачастую приводит к снижению их радиорезистентности [8–11, 13, 15]. Следует отметить, что некоторые изоформы Prx могут проявлять как проонкогенные, так и антитонкогенные свойства, что обусловлено вовлеченностью этих белков во многие клеточные процессы и активацией ими различных сигнально-регуляторных каскадов [13, 15].

Пероксиреодоксин 6 (Prx6) интересен тем, что способен восстанавливать самый широкий спектр перекисных субстратов среди известных пероксидаз, для него обнаружена секреторная форма [16], а также он обладает активностью Ca^{2+} -независимой фосфолипазы A2 (aiPLA2), которая может участвовать в регенерации окисленной формы белка [15, 17, 18]. О роли эндогенного Prx6 в радиорезистентности известно крайне мало [3, 13], а эффекты экзогенного Prx6 при ионизирующем облучении в основном описаны в цикле работ нашего коллектива [14, 15, 17, 19]. Ранее нами были показаны радиопротекторные свойства экзогенного Prx6, а также его мутантной формы Prx6-C47S, лишенной пероксидазной активности [19]. Кроме того, был продемонстрирован вклад сигнально-регуляторных функций Prx6 с участием толл-подобного рецептора TLR4 [14, 17], а также его фосфолипазной активности в радиозащитном эффекте [17]. В обзоре [15] мы обсудили потенциал экзогенного Prx6 как радиомодулятора, в том числе и при лучевой терапии. Однако сведения о его эффектах при различных параметрах облучения в литературе отсутствуют. Поэтому, целью данной работы было изучение влияния различной мощности дозы и, соответственно, времени облучения на радиопротекторный эффект экзогенного Prx6 и Prx6-C47S, что может найти применение в дальнейших прикладных разработках, а также понимании роли этого белка в развитии радиорезистентности рака.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пероксиреодоксин 6. Получение генно-инженерных конструкций, выделение, очистка и характеристика Prx6 человека дикого типа [20] и его мутантной формы Cys47Ser (Prx6-C47S), с инак-

тивированным пероксидазным центром [19], было описано нами ранее.

Облучение животных. Тотальное рентгеновское облучение (Х-гау) животных в дозах 7 и 10 Гр проводили на рентгеновской терапевтической установке РУТ-15 («МосРентген», Россия) при мощности дозы 1 Гр/мин (фокусное расстояние 0.375 м, 20 мА, 200 кВ). Рентгеновское облучение проводили в Центре коллективного пользования ИБК РАН. Тотальное γ -облучение животных в дозах 7, 9, 10 и 12 Гр проводили на гамма-установке радиационного облучения ГУР-120 (ВНИИРАЭ, Обнинск, Калужская обл., Россия) с источником γ -излучения ^{60}Co ГИК-7-4 (ПО «Маяк», Россия) при мощности дозы 0.125 Гр/мин в УНУ ГУР-120 ВНИИРАЭ.

Выживаемость животных. Для стандартного теста на 30-суточную выживаемость использовали самцов аутбредных мышей Kv:SHK в возрасте 6–8 недель и массой 29 ± 4 г (питомник «Крюково» РАН). Животных содержали в виварии при температуре 23 ± 2 °С в вентилируемом помещении с автоматизированной системой регулирования светового режима (12 ч день и 12 ч ночь). У мышей был постоянный доступ к гранулированному корму для грызунов («Лабораторкорм», Россия) и питьевой воде. Животных случайным образом разделяли на опытные группы по 10 особей, кроме группы «Prx6-C47S 20 мкг/г + 10 Гр Х-гау» в 5 особей. Непосредственно перед началом эксперимента Prx6 и Prx6-C47S растворяли при 37 °С в 0.9%-м растворе NaCl. Раствор Prx6 или Prx6-C47S вводили мышам внутривенно за 15 мин до облучения в объеме 0.1 мл из расчета 20 мкг/г белка на мышь. В контрольных группах были интактные животные и облученные мыши, которым вводили физиологический раствор. Учет павших животных проводили ежедневно на протяжении 30 суток в одно и тоже время. Выживших животных после окончания опыта умерщвляли методом цервикальной дислокации.

Статистическая обработка данных. Для математической и графической обработки данных применяли программное обеспечение Origin 8.1 (OriginLab, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выживаемость мышей при различном типе источника и мощности дозы излучения. Тест на 30-суточную выживаемость является стандартным радиобиологическим методом исследования. Он позволяет на модели острого облучения животных в летальных и сублетальных дозах оценить радиомодулирующий эффект исследуемого вещества. Ранее нами для мышей Kv:SHK уже была определена минимальная абсолютно летальная доза (ЛД_{100/30}), составляющая 7 Гр при облуче-

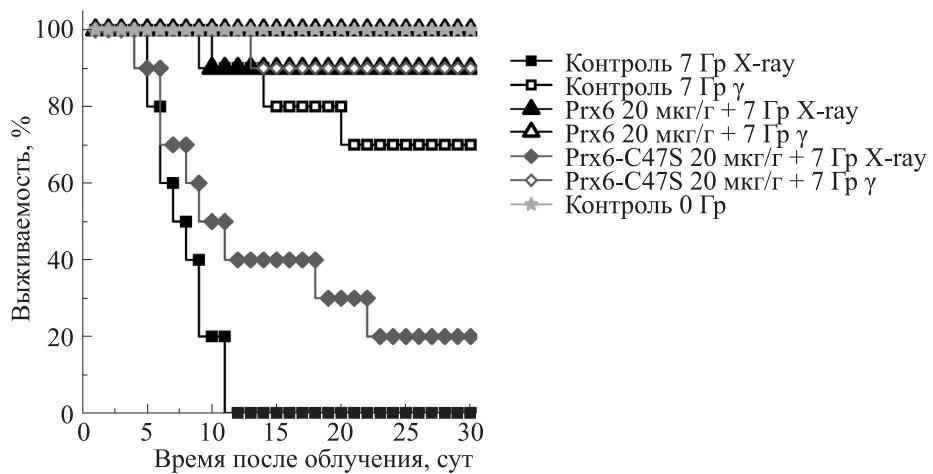


Рис. 1. Влияние Prx6 и его лишенной пероксидазной активности мутантной формы Prx6-C47S на выживаемость мышей Kv:SHK при внутривенном введении за 15 мин до тотального рентгеновского облучения (X-ray) с мощностью 1 Гр/мин или γ -облучения с мощностью 0.125 Гр/мин в дозе 7 Гр.

нии рентгеновским излучением с мощностью дозы 1 Гр/мин (далее – X-ray). Поэтому в первом эксперименте мы сравнили воздействие на мышей дозы 7 Гр X-ray и γ -облучения с мощностью дозы 0.125 Гр/мин (далее – γ) с разницей мощности дозы в 8 раз и соответствующей разницей во времени воздействия (7 мин и 56 мин).

Результаты теста на выживаемость при дозе 7 Гр показаны на рис. 1, а средняя продолжитель-

ность жизни и процентная доля выживаемости указаны в табл. 1. Результаты облучения X-ray соответствуют предыдущим полученным нами результатам [19]. При этом в случае облучения γ наблюдалось увеличение выживаемости животных: в облученных контрольных группах с 0 до 70%, в опытных группах с применением Prx6-C47S – с 20 до 90%. В группах с применением Prx6 наблюдалась разница всего в 10% из-за изначально высоких показателей выживаемости, что обусловле-

Таблица 1. Влияние пероксидорексина-6 и его лишенной пероксидазной активности мутантной формы Prx6-C47S на выживаемость и среднюю продолжительность жизни мышей Kv:SHK при внутривенном введении за 15 мин до тотального рентгеновского облучения (X-ray) с мощностью 1 Гр/мин или γ -облучения с мощностью 0.125 Гр/мин в дозе 7 Гр

№ группы	Группа	Средняя продолжительность жизни, сут	Выживаемость, %
1	Контроль 0 Гр	30.0	100
2	Контроль 7 Гр X-ray	7.7	0
3	Контроль 7 Гр γ	25.4	70
4	Prx6 20 мкг/г + 7 Гр X-ray	27.9	90
5	Prx6 20 мкг/г + 7 Гр γ	30.0	100
6	Prx6-C47S 20 мкг/г + 7 Гр X-ray	13.6	20
7	Prx6-C47S 20 мкг/г + 7 Гр γ	28.3	90

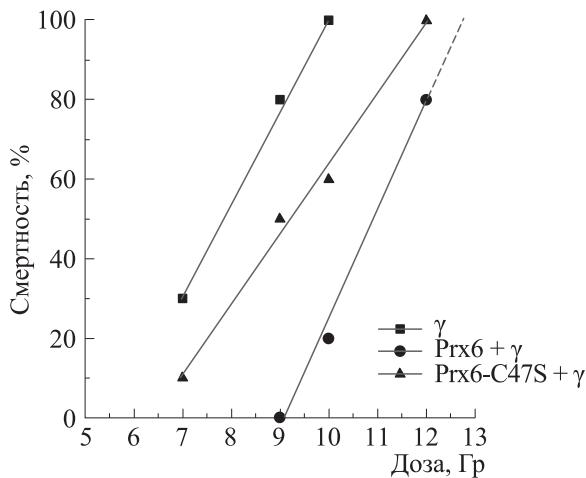


Рис. 2. Смертность мышей Kv:SHK при тотальном однократном γ -облучении с мощностью 0.125 Гр/мин в диапазоне доз от 7 до 12 Гр и влияние на этот процесс Prx6 и его лишенной пероксидазной активности мутантной формы Prx6-C47S . Данные линейно аппроксимированы.

но его сильными радиопротекторными свойствами – полученный ранее фактор изменения дозы Prx6 равен 1.4 [19]. Таким образом, снижение мощности дозы (с пропорциональным увеличением времени облучения) приводит к снижению степени летальности одной и той же дозы.

Влияние Prx6 и Prx6-C47S на смертность мышей при γ -облучении в диапазоне доз. Поскольку в предыдущем тесте при дозе 7 Гр радиопротекторный эффект Prx6 и Prx6-C47S демонстрировался некорректно и не позволил сделать однозначных

выводов, то в следующем эксперименте были получены кривые «доза – эффект» при γ -облучении в дозах 7, 9, 10 и 12 Гр (рис. 2). Таким образом, были либо получены, либо рассчитаны на основе аппроксимации сублетальная доза ($\text{LD}_{50/30}$) и минимальная абсолютно летальная доза ($\text{LD}_{100/30}$). Для облученных контрольных животных $\text{LD}_{50/30} \approx 8$ Гр, $\text{LD}_{100/30} = 10$ Гр. В случае применения Prx6 $\text{LD}_{50/30} \approx 11$ Гр, $\text{LD}_{100/30} \approx 12.7$ Гр, а для Prx6-C47S $\text{LD}_{50/30} = 9$ Гр, $\text{LD}_{100/30} = 12$ Гр. Рассчитанный на основании этих данных фактор изменения дозы для Prx6 равен 1.32, а для Prx6-C47S – 1.16. Отметим, что различие между $\text{LD}_{100/30}$ для Prx6 и для Prx6-C47S составило всего около 1 Гр, тогда как ранее нами было показано [15], что при облучении X-ray это различие превышало 2 Гр. При этом для $\text{LD}_{50/30}$ разница в 2 Гр осталась неизменной, тогда как различие между $\text{LD}_{100/30}$ контроля и Prx6 показало уменьшение на <1 Гр, а для Prx6-C47S – увеличение на 1 Гр.

Влияние Prx6 и Prx6-C47S на смертность при различном типе источника и мощности дозы излучения. По результатам предыдущих работ и полученных дозовых зависимостей для сравнительной оценки радиопротекторного эффекта Prx6 была выбрана доза 10 Гр, так как при ней наблюдается ненулевая смертность при γ , но при этом она еще не является $\text{LD}_{100/30}$ в случае X-ray [19]. Поскольку доза 10 Гр X-ray значительно превышает минимальную абсолютно-летальную дозу для мышей Kv:SHK, подвергнутых только облучению или получивших до облучения инъекцию Prx6-C47S [15], то облученный контроль не был сделан, а в группе Prx6-C47S 20 мкг/г было всего 5 особей по биоэтическим соображениям. Результаты показаны на рис. 3 и в табл. 2. В X-ray-облученных

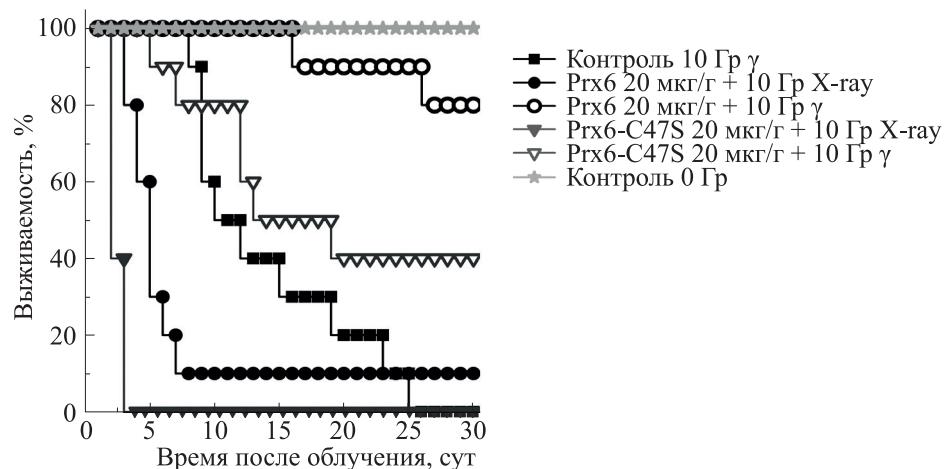


Рис. 3. Влияние Prx6 и его лишенной пероксидазной активности мутантной формы Prx6-C47S на выживаемость мышей Kv:SHK при внутривенном введении за 15 мин до тотального рентгеновского облучения (X-ray) с мощностью 1 Гр/мин или γ -облучения с мощностью 0.125 Гр/мин в дозе 10 Гр.

Таблица 2. Влияние пероксиредоксина-6 и его лишенной пероксидазной активности мутантной формы Prx6-C47S на выживаемость и среднюю продолжительность жизни мышей Kv:SHK при внутривенном введении за 15 мин до тотального рентгеновского облучения (X-ray) с мощностью 1 Гр/мин или γ -облучения с мощностью 0.125 Гр/мин в дозе 10 Гр

№ группы	Группа	Средняя продолжительность жизни, сут	Выживаемость, %
1	Контроль 0 Гр	30	100
2	Контроль 10 Гр γ	14,1	0
3	Prx6 20 мкг/г + 10 Гр X-ray	7,2	10
4	Prx6 20 мкг/г + 10 Гр γ	28,2	80
5	Prx6-C47S 20 мкг/г + 10 Гр X-ray	2,4	0
6	Prx6-C47S 20 мкг/г + 10 Гр γ	18,8	40

группах Prx6 и Prx6-C47S выживаемость животных составила 10 и 0% соответственно, что согласуется с предыдущими результатами [15, 19]. Выживаемость в γ -облученных группах контроля, Prx6 и Prx6-C47S распределилась следующим образом: 0, 80 и 40% соответственно. Возвращаясь к первому опыту, видим, что выживаемость в 7 Гр X-ray-облученных группах контроля, Prx6 и Prx6-C47S была 0, 90 и 20% соответственно. Таким образом, в рамках эксперимента 10 Гр γ и 7 Гр X-ray были сопоставимы по воздействию на животных. Отметим, что средняя продолжительность жизни в группах 7 Гр γ Prx6-C47S и 10 Гр γ Prx6 почти равны (28.3 и 28.2), а выживаемость составляет 90 и 80% соответственно. С учетом того, что в Prx6-C47S отсутствует только пероксидазная активность, то разница в 3 Гр γ – вклад пероксидазой активности этого белка в повышение радиорезистентности, который соотносится с таковым для ранее полученных данных при облучении X-ray [19].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Биологические эффекты, вызванные ионизирующим излучением, определяются такими факторами, как мощность дозы, общая доза, ЛПЭ, а также фракционирование и продление общих доз [7, 12]. Они также определяются другими факторами, такими как механизмы восстановления, «эффект свидетеля» и воздействие различных хи-

мических радиомодуляторов [7, 12, 21]. Известно, что ЛПЭ напрямую влияет на относительную биологическую эффективность (ОБЭ) конкретного типа излучения [22], но для излучения с низкой ЛПЭ X-ray или γ ОБЭ составляет 1.0, что позволяет оценивать дозы в Гр, тогда как для излучения с высокой ЛПЭ ОБЭ может широко варьироваться [7]. Таким образом, в условиях нашего эксперимента разница ЛПЭ и ОБЭ между γ и X-ray можно не учитывать, а значит, все наблюдаемые эффекты обусловлены различной мощностью дозы и соответствующим временем облучения.

Увеличение ЛД_{50/30} и ЛД_{100/30} для γ -излучения с мощностью 0.125 Гр/мин как в опытных, так и в контрольной группах (рис. 1 и 3), по-видимому, обусловлено эффектом мощности дозы («спаринг-эффект»), который ранее был показан как для здоровых тканей, так и для раковых клеток [23, 24]. Пролонгированное воздействие ионизирующего излучения с низкой ЛПЭ в 5–10 раз менее эффективно, чем однократное острое воздействие [25]. При длительном облучении низкой мощностью наблюдается активация механизмов репарации клетки, включая системы антиоксидантной защиты, репарации ДНК, наблюдаются процессы перераспределения клеток по фазам клеточного цикла, репопуляция клеток и реоксигенация тканей [26–30]. Все эти процессы влияют на радиочувствительность тканей и клеток [31]. Адаптивный ответ, который проявляется в акти-

вации репарационных процессов клетки в ответ на множественные небольшие острые дозы ионизирующего излучения (или низкую мощность дозы, хроническое облучение), носит название радиационного гормезиса [6, 13]. По-видимому, в нашей работе увеличение ЛД_{100/30} для мышей kv:SHK на 3 Гр при γ -облучении (по сравнению с X-ray) обусловлено именно таким гормезис-подобным механизмом, в том числе из-за длительной процедуры облучения (10 Гр γ за 80 мин против 7 Гр X-ray за 7 мин).

Сведения о радиационном гормезисе противоречивы, а роль Prx в его реализации не изучена [13]. Помимо пероксидазной активности, Prx выполняют множество других функций в клетке: сенсоры уровня внутриклеточных пероксидов, регуляторы редокс-гомеостаза и шапероны [13, 32]. Роль Prx в предотвращении окислительного повреждения ДНК и неопластической трансформации не ограничивается нейтрализацией гидропероксидов. Они также напрямую участвуют в регуляции и защите процесса репликации [13] и необходимы для сборки веретена деления, организации хромосом и поляризации при клеточном делении [33]. Роль пероксидазной активности Prx двояка. Сверхэкспрессия Prx1 была способна снизить апоптоз в облученных клетках рака легких за счет подавления пути JNK (NH₂-концевой киназы c-Jun) и тот же эффект был отмечен с мутантом Cys52Ser, неактивным по пероксидазному центру [34]. Наоборот, с использованием мутантной формы Prx2 (не имеющей пероксидазной активности) на клетках гепатоцеллюлярной карциномы было показано, что пероксидазная активность Prx2 играет ведущую роль в контроле метастазирования раковых стволовых клеток [35]. Метаболическое перепрограммирование жирных кислот в опухоли может выступать регулятором как про-, так и противоопухолевых иммунных ответов [36]. Prx6 играет решающую роль в восстановлении окисленных фосфолипидов клеточных мембран, что обеспечивает устойчивость к действию окислительных факторов [3, 37], а aiPLA2 способствует метастазированию раковых клеток [15] и передаче провоспалительных сигналов, опосредованных арахидоновой кислотой [18]. Кроме того, Prx6 образует ионные каналы в мембране [38], что также может влиять на жизнеспособность клетки.

Во внеклеточном пространстве пероксидоксины, включая Prx6, могут функционировать как молекулярные паттерны, связанные с повреждением (DAMPs), активируя провоспалительные пути через рецептор TLR4 [17, 18]. Концентрация Prx6 в клетке/межклеточном пространстве (крови) и уровень экспрессии гена PRDX6 образуют систему регуляции с отрицательной обратной связью [19]. Prx6 потенциально может рецирку-

лировать между клеткой и внеклеточным пространством благодаря aiPLA2. По-видимому, окисленный экзогенный Prx6 (с увеличенной активностью aiPLA2) попадая в клетку восстанавливается и вновь секретируется, благодаря чему эффективно нейтрализует пероксиды как в клетке, так и во внеклеточном пространстве [17]. Благодаря пероксидазной и сигнально-регуляторной активности экзогенный Prx6 оказывает влияние на апоптоз, пролиферацию клеток, системы антиоксидантного ответа и репарации ДНК, что может найти практическое применение, например, для защиты здоровых тканей при лучевой терапии [15]. Однако сложность и неоднозначность радиозащитных/радиомодулирующих свойств экзогенного Prx6 затрудняют его практическое применение на данном этапе, несмотря на многообещающие результаты. В этом исследовании, как и в предыдущих [15, 19], мы продемонстрировали радиозащитный эффект экзогенных Prx6 и Prx6-C47S, и влияние на него различных параметров облучения. Выживаемость в γ -облученных группах 10 Гр и 7 Гр X-ray была соотносима по воздействию на животных как для контрольных, так и для опытных животных. Это предполагает пропорциональное увеличение степени летальности дозы и отсутствие явного модулирующего эффекта экзогенных Prx6 и Prx6-C47S на адаптивную реакцию. Наблюданное при этом небольшое снижение эффективности Prx6-C47S (относительно Prx6) при оценке ЛД_{100/30} для γ -облучения предполагает увеличение вклада пероксидазно-независимых радиозащитных свойств белка при уменьшении мощности дозы и увеличении времени воздействия фотонного ионизирующего излучения.

ВЫВОДЫ

Экзогенный Prx6 является одним из перспективных кандидатов для решения проблемы радиорезистентности рака и/или сопутствующего радиационного поражения нормальных тканей при лучевой терапии. В этой работе мы продемонстрировали, что, во-первых, мощность дозы и время облучения могут значительно изменять степень летальности дозы, несмотря на схожие ЛПЭ и ОБЭ, что, вероятно, обусловлено адаптивной реакцией. Во-вторых, впервые показано, что радиозащитный эффект внутривенного введения 20 мк/г Prx6 и его пероксидазно-неактивного мутанта Prx6-C47S относительно пропорционален этому изменению. Выживаемость в группах «10 Гр γ -облучение» с мощностью дозы 0.125 Гр/мин и «7 Гр рентгеновское облучение» с мощностью дозы 1 Гр/мин (разница в 8 раз по мощности дозы и по времени воздействия) была соотносима по воздействию на животных, как для контрольных, так и для опытных. В-третьих,

небольшое снижение эффективности Prx6-C47S по сравнению с Prx6 предполагает увеличение вклада пероксидазно-независимых радиозащитных путей при уменьшении мощности дозы и увеличении времени воздействия фотонного излучения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00070).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность сотрудникам Всероссийского научно-исследовательского института радиологии и агрономии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (Обнинск, Калужская область) Е.И. Карпенко, В. О. Кобялко, А. Н. Павлову за помощь с гамма-облучением животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры с мышами проводились с учетом международных правил работы с лабораторными животными и требований Комиссии по биологической безопасности и биоэтике ИБК РАН. Протокол экспериментов одобрен Комиссией по биоэтике ИБК РАН (№ 39 от 04.12.2018).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. V. L. Martinez Marignac, L. Mondragon, and Favant J. L. Sources of ionizing radiation and their biological effects: An interdisciplinary view, from the physics to cell and molecular biology. *Clin. Cancer Investig. J.*, **8** (4), 129–138 (2019).
2. Hirota Y., Masunaga S., Kondo N., Kawabata S., Hirakawa H., Yajima H., Fujimori A., Ono K., Kuroiwa T., and Miyatake S. High linear-energy-transfer radiation can overcome radioresistance of glioma stem-like cells to low linear-energy-transfer radiation. *J. Radiat. Res.*, **55** (1), 75–83 (2014). DOI: 10.1093/jrr/rrt095
3. Fischer J., Eglington T. W., Frizelle F. A., and Hampton M. B. Peroxiredoxins in colorectal cancer: predictive biomarkers of radiation response and therapeutic targets to increase radiation sensitivity? *Antioxidants (Basel)*, **7** (10), 136 (2018). DOI: 10.3390/antiox7100136
4. Checker R., Bhilwade H. N., Nandha S. R., Patwardhan R. S., Sharma D., and Sandur S. K. Withaferin A, a steroid lactone, selectively protects normal lymphocytes against ionizing radiation induced apoptosis and genotoxicity via activation of ERK/Nrf-2/HO-1 axis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **461**, 116389 (2023). DOI: 10.1016/j.taap.2023.116389
5. Zhou T., Zhang L.-Y., He J.-Z., Miao Z.-M., Li Y.-Y., Zhang Y.-M., Liu Z.-W., Zhang S.-Z., Chen Y., Zhou G.-C., and Liu Y.-Q. Review: mechanisms and perspective treatment of radioresistance in non-small cell lung cancer. *Front. Immunol.*, **14**, 1133899 (2023). DOI: 10.3389/fimmu.2023.1133899
6. Porrazzo A., Cassandri M., D'Alessandro A., Morciano P., Rota R., Marampon F., and Cenci G. DNA repair in tumor radioresistance: insights from fruit flies genetics. *Cell Oncol. (Dordr.)*, **47** (3), 717–732 (2024). DOI: 10.1007/s13402-023-00906-6
7. Obrador E., Salvador R., Villaescusa J. I., Soriano J. M., Estrela J. M., and Montoro A. (2020). Radioprotection and radiomitigation: from the bench to clinical practice. *Biomedicines*, **8** (11), 461 (2020). DOI: 10.3390/biomedicines8110461
8. Cerdà M. B., Lloyd R., Batalla M., Giannoni F., Casal M., and Pollicastro, L. Silencing peroxiredoxin-2 sensitizes human colorectal cancer cells to ionizing radiation and oxaliplatin. *Cancer Lett.*, **388**, 312–319 (2017). DOI: 10.1016/j.canlet.2016.12.009
9. Hao J., Song Z., Su J., Li L., Zou L., and Zou K. The PRX-1/TLR4 axis promotes hypoxia-induced radiotherapy resistance in non-small cell lung cancer by targeting the NF- κ B/p65 pathway. *Cell. Signal.*, **110**, 110806 (2023). DOI: 10.1016/j.cellsig.2023.110806
10. Li J., Sun Y., Zhao X., Y. Ma, Y. Xie, S. Liu, B. Hui, X. Shi, X. Sun, and Zhang X. Radiation induces IRAK1 expression to promote radioresistance by suppressing autophagic cell death via decreasing the ubiquitination of PRDX1 in glioma cells. *Cells Death Dis.*, **14** (4), 259 (2023). DOI: 10.1038/s41419-023-05732-0
11. Ding N., Jiang H., Thapa P., Hao Y., Alshahrani A., Allison D., Izumi T., Rangnekar V. M., Liu X., and Wei Q. Peroxiredoxin IV plays a critical role in cancer cell growth and radioresistance through the activation of the Akt/GSK3 signaling pathways. *J. Biol. Chem.*, **298** (7), 102123 (2022). DOI: 10.1016/j.jbc.2022.102123
12. Аклеев А. В. Радиобиологические закономерности реакции нормальных тканей при лучевой терапии опухолей. *Радиац. биол. Радиоэкол.*, **54** (3), 241 (2014).
13. Forshaw T. E., Holmila R., Nelson K. J., Lewis J. E., Kemp M. L., Tsang A. W., Poole L. B., Lowther W. T., and Furdui C. M. Peroxiredoxins in cancer and response to radiation therapies. *Antioxidants (Basel)*, **8** (1), 11 (2019). DOI: 10.3390/antiox8010011
14. Novoselova E. G., Sharapov M. G., Lunin S. M., Parfenyuk S. B., Khrenov M. O., Mubarakshina E. K., Kuzekova A. A., Novoselova T. V., Goncharov R. G., and

- Glushkova O. V. Peroxiredoxin 6 applied after exposure attenuates damaging effects of X-ray radiation in 3T3 mouse fibroblasts. *Antioxidants*, **10** (12), 1951 (2021). DOI: 10.3390/antiox10121951
15. Sharapov M. G., Novoselov V. I., and Gudkov S. V. Radioprotective role of peroxiredoxin 6. *Antioxidants*, **8** (1), 15 (2019). DOI: 10.3390/antiox8010015
16. Новоселов В. И. Роль пероксиреодоксинов при окислительном стрессе в органах дыхания. *Пульмонология*, 1, 83–87 (2012).
17. Sharapov M. G., Goncharov R. G., Parfenyuk S. B., Glushkova O. V., and Novoselov V. I. The role of phospholipase activity of peroxiredoxin 6 in its transmembrane transport and protective properties. *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (23), 15265 (2022). DOI: 10.3390/ijms232315265
18. Salovska B., Kondelova A., Pimkova K., Liblova Z., Pribyl M., Fabrik I., Bartek J., Vajrychova M., and Hodny Z. Peroxiredoxin 6 protects irradiated cells from oxidative stress and shapes their senescence-associated cytokine landscape. *Redox Biol.*, **49**, 102212 (2022). DOI: 10.1016/j.redox.2021.102212
19. Sharapov M. G., Novoselov V. I., Fesenko E. E., Bruskov V. I., and Gudkov S. V. The role of peroxiredoxin 6 in neutralization of X-ray mediated oxidative stress: Effects on gene expression, preservation of radiosensitive tissues and postradiation survival of animals. *Free Rad. Res.*, **51** (2), 148–166 (2017). DOI: 10.1080/10715762.2017.1289377
20. Sharapov M. G., Novoselov V. I., and Ravin V. K. The cloning, expression, and comparative analysis of peroxiredoxin 6 from various sources. *Mol. Biol.*, **43**, 465–471 (2009). DOI: 10.1134/S0026893309030145
21. Nagataki S. and Takamura N. Radioactive doses – predicted and actual – and likely health effects. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)*, **28** (4), 245–254 (2016). DOI: 10.1016/j.clon.2015.12.028
22. Jeon J. Review of therapeutic applications of radiolabeled functional nanomaterials. *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 2323 (2019). DOI: 10.3390/ijms20092323
23. Down J. D., Easton D. F., and Steel G. G. Repair in the mouse lung during low dose-rate irradiation. *Radiother. Oncol.*, **6** (1), 29–42 (1986). DOI: 10.1016/s0167-8140(86)80107-4
24. Thames H. D. An “incomplete-repair” model for survival after fractionated and continuous irradiations. *Int. J. Radiat. Biol.*, **47** (1), 319–339 (1985). DOI: 10.1080/09553008514550461
25. Richardson R. B. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea. *Aging (Albany NY)*, **1** (11), 887–902 (2009). DOI: 10.1863/aging.100081
26. Kang H., Kim B., Park J., Youn H.-S., and Youn B.-H. The Warburg effect on radioresistance: Survival beyond growth. *Biochim. Biophys. Acta*, **1878** (6), 188988 (2023). DOI: 10.1016/j.bbcan.2023.188988
27. Mao G., Yao Y., and Kong Z. Long term exposure to γ -rays induces radioresistance and enhances the migration ability of bladder cancer cells. *Mol. Med. Rep.*, **18** (6), 5834–5840 (2018). DOI: 10.3892/mmr.2018.9605
28. Chen N., Wu L., Yuan H., and Wang J. ROS/Autophagy/Nrf2 pathway mediated low-dose radiation induced radio-resistance in human lung adenocarcinoma A549 cell. *Int. J. Biol. Sci.*, **11** (7), 833–844 (2015). DOI: 10.7150/ijbs.10564
29. Abad E., Graifer D., and Lyakhovich A. DNA damage response and resistance of cancer stem cells. *Cancer Lett.*, **474**, 106–117 (2020). DOI: 10.1016/j.canlet.2020.01.008
30. Fan M., Ahmed K. M., Coleman M. C., Spitz D. R., and Li J. J. Nuclear factor- κ B and manganese superoxide dismutase mediate adaptive radioresistance in low-dose irradiated mouse skin epithelial cells. *Cancer Res.*, **67** (7), 3220–3228 (2007). DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2728
31. Steel G. G., McMillan T. J., and Peacock J. H. The 5Rs of radiobiology. *Int. J. Radiat. Biol.*, **56** (6), 1045 (1989). DOI: 10.1080/09553008914552491
32. Villar S. F., Ferrer-Sueta G., and Denicola A. The multi-faceted nature of peroxiredoxins in chemical biology. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **76**, 102355 (2023). DOI: 10.1016/j.cbpa.2023.102355
33. Jeon H.-J., Park Y. S., Cho D.-H., Kim J.-S., Kim E., Chae H. Z., Chun S.-Y., and Oh J. S. Peroxiredoxins are required for spindle assembly, chromosome organization, and polarization in mouse oocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **489** (2), 193 (2017). DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.05.127
34. Kim Y. J., Lee W. S., Ip C., Chae H. Z., Park E. M., and Park Y. M. Prx1 suppresses radiation-induced c-Jun NH2-terminal kinase signaling in lung cancer cells through interaction with the glutathione S-transferase Pi/c-Jun NH2-terminal kinase complex. *Cancer Res.*, **66** (14), 7136–7142 (2006). DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4446
35. Son Y. W., Cheon M. G., Kim Y., and Jang H. H. Prx2 links ROS homeostasis to stemness of cancer stem cells. *Free Radic. Biol. Med.*, **134**, 260–267 (2019).
36. M. De Martino, C. Daviaud, E. Hajjar, and C. Vannouille-Box, *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, **376**, 121 (2023). DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.001
37. Li H., Benipal B., Zhou S., Dodia C., Chatterjee S., Tao J. Q., Sorokina E. M., Raabe T., Feinstein S. I., and Fisher A. B. Critical role of peroxiredoxin 6 in the repair of peroxidized cell membranes following oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, **87**, 356–365 (2015). DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.009
38. Григорьев П. А., Шарапов М. Г. и Новоселов В. И. Потенциал-зависимые катионные каналы, формируемые пероксиреодоксином-6 в липидном бислое. *Биофизика*, **60** (4), 696–699 (2015).

Radioprotective Effect of Exogenous Peroxiredoxin 6 in Mice Exposed to Different Doses of Whole-Body Ionizing Radiation

E.E. Karmanova*, R.G. Goncharov*, V.I. Bruskov**, V.I. Novoselov*, and M.G. Sharapov*

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

**Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

The search for effective and safe radio-modulating compounds that reduce cancer cell radioresistance and/or the concomitant damage to normal tissues caused by radiation remains a significant challenge in radiation therapy. Peroxiredoxin 6, a member of the thiol-specific peroxidase family, is a promising candidate to solve this problem. However, often in studies, insufficient attention is paid to radiation parameters, and there is no information about how different radiation parameters influence the radioprotective effect of exogenous peroxiredoxin 6. This article shows the peculiarities of the radioprotective effects of intravenous peroxiredoxin 6 at a concentration of 20 μ g/g body weight and its mutant form Prx6-C47S (without peroxidase activity) administered shortly before X-ray or γ -irradiation with different dose rates and exposure times. Survival rates of the “10 Gy γ -irradiation 0.125 Gy/min” and “7 Gy X-ray irradiation 1 Gy/min” animal groups (8-fold difference in dose rate and exposure time) were correlated both for control and experimental animals.

Keywords: Prx6, radioprotector, X-ray radiation, γ -radiation, dose rate