

**А.А. Иванов<sup>1,2,3</sup>, Т.М. Бычкова<sup>1,2</sup>, О.В. Никитенко<sup>1,2</sup>, И.Б. Ушаков<sup>1</sup>****РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРОТОНОВ**

1. Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва. E-mail: a1931192@mail.ru;
2. Институт медико-биологических проблем РАН, Москва;
3. Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

А.А. Иванов – зав. лаб., д.м.н., проф.; Т.М. Бычкова – м.н.с.; О.В. Никитенко – м.н.с.;  
И.Б. Ушаков – г.н.с., академик РАН, д.м.н., проф.

**Реферат**

Обзор содержит анализ литературных данных и результатов собственных исследований авторов по радиобиологическим эффектам протонов различных энергий на клеточном, системном (межклеточном) и организменном уровнях, применительно к практическим задачам от лучевой терапии онкологических заболеваний до воздействия протонов на организм космонавтов.

Установлено, что ОБЭ протонов является величиной переменной, зависящей от ЛПЭ частиц, величины и мощности дозы, наличия или отсутствия кислорода. ОБЭ протонов меняется в зависимости от объекта исследования, типа ткани, энергии протонов и глубины проникновения частиц, а также от метода оценки биологической эффективности протонов, что соответствует общим радиобиологическим закономерностям. В частности, показано, что величина ОБЭ протонов, принятая в лучевой терапии на уровне 1,1, является условной. Твердо установленным и неоднократно подтвержденным является факт увеличения ОБЭ со снижением энергии протонов и, соответственно, с увеличением ЛПЭ.

Использование элементов физической защиты космического корабля при воздействии протонов с энергией 170 МэВ в эксперименте на мышах обуславливает увеличение ЛПЭ протонов и увеличение ОБЭ по показателю клеточности костного мозга.

Фармакологические препараты, эффективные при фотонном облучении, эффективны и при воздействии пучком протонов. Показано, что природный пигмент меланин и рекомбинантная марганец-содержащая супероксиддисмутаза способствуют сохранению и ускорению восстановления кроветворения у животных, облученных протонами.

Вакцина «Гриппол» повышает радиорезистентность при протонном облучении. Нейропептид «Семакс» благоприятно влияет на состояние ЦНС и силу передних лап животных, облученных протонами в пике Брэгга в нелетальной дозе.

**Ключевые слова:** протоны, ОБЭ, пик Брэгга, ЦНС, кроветворение, хромосомные aberrации, выживаемость, противолучевые средства, лучевая терапия, космическое излучение, мышцы, крысы

Поступила: 26.12.2018. Принята к публикации: 27.02.2019

**Введение**

Протоны – ядра атомов водорода – являются неотъемлемой частью экологии человека и в то же время эффективным медицинским инструментом при лечении в первую очередь онкологических заболеваний [1]. Протонные потоки, как результат термоядерных реакций, протекающих на Солнце, постоянно низвергаются в космическое пространство и создают реальную угрозу здоровью космонавтов [2]. Физические и медицинские ускорители в ходе работы создают мощные поля ионизирующих излучений, и в связи с этим требуется соответствующая защита персонала, эксплуатирующего эти установки [3]. Таким образом, существуют, по крайней мере, три причины, которые обязывают научное сообщество провести исчерпывающие исследования радиобиологических эффектов протонных потоков различных энергий. В их числе – исследование экологических эффектов, обусловленных первичными протонами и вторичным излучением, образованным взаимодействием протонов с атмосферой Земли. Особое значение протонные потоки приобретают при обеспечении радиационной безопасности космонавтов.

Медицинское использование пучков ускоренных протонов в онкологии обеспечивает огромное преимущество перед фотонной терапией, в силу особенностей прохождения протонов через ткани организма [1]. При этом требуется радиобиологическое обоснование лучевой протонной терапии с оценкой значения

энергии используемых протонов, с учетом пика Брэгга, образованием вторичного излучения и др.

Радиационно-гигиеническое сопровождение работы протонных ускорителей также требует радиобиологических фундаментальных исследований.

Отечественные научные коллективы, возглавляемые Ю.Г. Григорьевым [4], Е.А. Красавиным [5], Б.С. Федоренко [6] и др., а также зарубежные специалисты F. Cucinotta [7], D. Durante [8], N. Paganetti [1] и др. внесли решающий вклад в формирование фундамента знаний о радиобиологических эффектах протонов.

Настоящий обзор оригинальных исследований в области радиобиологии протонов имеет своей целью обобщение современных представлений о действии протонов на клеточном, системном и организменном уровнях.

При исследовании действия заряженных частиц важным этапом является определение относительной биологической эффективности (ОБЭ), которая характеризует эффективность биологического действия различных ионизирующих излучений и определяется как отношение поглощенной дозы фотонного излучения (точнее, рентгеновского излучения 200 кВп) к поглощенной дозе рассматриваемого излучения, вызывающей при данных условиях такой же биологический эффект [9]. ОБЭ зависит от линейной передачи энергии, величины и мощности дозы, наличия или отсутствия кислорода [1]. Известно, что при фракционированном протонном облучении ОБЭ увеличивается. Протон при прохождении через вещество ионизирует почти

каждый атом, встречающийся ему на пути, поэтому повреждение протонами приводит к возникновению тяжелых повреждений [10].

Литературные данные показывают, что ОБЭ протонов по отношению к  $\gamma$ -излучению  $^{60}\text{Co}$  составляет от 0,8 до 1,5 и зависит от уровня дозы и энергии протонов (50–660 МэВ), типа биологического объекта, а также от протяженности модифицированного пика Брэгга [6, 11].

Облучение может привести к отсутствию репликации и/или гибели клеток с помощью ряда механизмов: потеря репродуктивной способности клеток, иницирование пути апоптоза, индуцирование остановки клеточного цикла и/или наступление преждевременного старения [9], функциональные нарушения в ЦНС [12, 13] – большинство этих процессов были исследованы при облучении протонами. Много работ по изучению радиобиологического действия протонов выполнено в экспериментах на клеточном уровне.

### **Радиобиологическое действие протонов на клеточном уровне**

Одним из наиболее чувствительных и специфичных для воздействия ионизирующего излучения показателей являются повреждения хромосом [14].

В доступной литературе имеются сообщения об исследованиях биомедицинских эффектов протонов в области пика Брэгга на клеточном уровне [15]. Авторы исследовали повреждения хромосомного аппарата лимфоцитов периферической крови человека *in vitro*. Облучение клеток проводилось протонами терапевтического пучка фазотрона ОИЯИ с энергией 171 МэВ в двух точках глубинного дозного распределения – на входе в объект и в пике Брэгга. По результатам работы исследователи сделали вывод о том, что величина ОБЭ протонов исходного пучка с энергией 171 МэВ близка к стандартному  $\gamma$ -излучению и определена на уровне 1, в то время как в области пика Брэгга она составила 1,25.

В экспериментах *in vivo* [16] было отмечено снижение митотической активности клеток костного мозга самцов мышей через 22 ч после облучения протонами с энергией 171 МэВ в дозе 1 Гр с  $1,82 \pm 0,05$  % в контрольной группе до  $1,27 \pm 0,3$  % в исследуемой, в то время как уровень хромосомных aberrаций, определенных анафазным методом, статистически значимо увеличился с  $1,58 \pm 0,5$  до  $18,2 \pm 1,7$  %. Повышенный уровень хромосомных aberrаций сохранялся и на 8-е сут после облучения ( $10,2 \pm 1,45$  %), изменения статистически значимы.

Проведенные цитогенетические исследования культуры лимфоцитов периферической крови 24 космонавтов показали, что после длительных космических полетов у большинства космонавтов происходит увеличение общего количества aberrантных клеток и aberrаций хромосомного типа. Наряду с общим увеличением частоты хромосомных aberrаций возрастает также число повреждений хромосом на одну aberrантную клетку, что является показателем увеличения

степени тяжести повреждения наследственного аппарата клеток [6].

В работе [17] был проведен анализ нестабильных aberrаций хромосом у 36 космонавтов, принимавших участие в длительных полетах на орбитальном комплексе «Мир». У 25 из них изучен спонтанный уровень цитогенетических нарушений. Во время космических полетов ни в одном случае не была превышена допустимая доза космического излучения. Было установлено статистически значимое увеличение частоты aberrаций хромосомного типа по отношению к дополетному уровню. Относительная частота дицентриков и центрических колец увеличилась в 4 раза и в среднем составляла  $0,12 \pm 0,02$  и  $0,47 \pm 0,06$  % до и после первого полета;  $0,18 \pm 0,05$  и  $0,71 \pm 0,11$  % до и после второго соответственно. В межполетном периоде (1,5–2 года) происходило снижение частоты хромосомных нарушений, однако их количество не достигало исходных значений частоты aberrаций хромосом. После каждого очередного полета частота хромосомных aberrаций вновь возрастала. Выявленные цитогенетические нарушения в лимфоцитах периферической крови космонавтов при хроническом воздействии низких доз космического излучения указывают на возможное увеличение риска развития стохастических эффектов в отдаленные сроки после длительных космических полетов.

Одной из актуальных проблем радиобиологии в настоящее время является проблема биологической дозиметрии с использованием цитогенетического анализа. Цитогенетические повреждения в лимфоцитах периферической крови являются объективным и высокочувствительным критерием степени радиационного воздействия в раннем и отдаленном периодах после облучения и могут успешно использоваться для биологической индикации ионизирующего излучения и оценки полученной дозы [18].

В отличие от доз, полученных с помощью физических или расчетных методов дозиметрии, «биологическая» доза, оцененная по частоте хромосомных aberrаций, является интегральным показателем повреждающего действия радиации, который учитывает индивидуальную радиочувствительность [19]. Информация о «биологической» дозе позволяет более точно прогнозировать возможные последствия радиационного воздействия.

В доступной литературе часто встречаются сообщения о расхождении данных физической и биологической дозиметрии. Так, в работе [6] исследования проведены у 36 космонавтов, у части из них – неоднократно (в связи с повторными космическими полетами). Кровь для послеполетного цитогенетического анализа получали спустя сутки после завершения космического полета. Эквивалентные дозы ионизирующего излучения, рассчитанные с помощью метода биологической дозиметрии, превышали уровни индивидуальных поглощенных доз, полученных с помощью термолюминесцентных дозиметров, в среднем в 3 раза, что указывает, в определенной мере на высокую биологическую эффективность космического излуче-

ния, основную часть которого составляют протоны, а внутри космического аппарата – вторичные нейтроны.

В работе [20] определена ОБЭ терапевтического пучка протонов с энергией 150 МэВ при проведении фракционированного облучения клеток мышинных фибробластов СЗН10Т1/2 в максимально приближенных условиях к проведению протонной терапии пациентов в суммарной дозе 40 Гр, ежедневно по 4 Гр в сутки. ОБЭ определяли в трех точках на плоскости расширенного пика Брэгга и на входе пучка протонов. Результаты показали, что выживаемость клеток в модифицированном пике Брэгга во всех точках практически одинакова, а на входе выживаемость выше. ОБЭ пучка протонов с энергией 150 МэВ по отношению к  $\gamma$ -излучению  $^{60}\text{Co}$  определенная по  $\text{LD}_{90}$ ,  $\text{LD}_{50}$  и  $\text{LD}_{10}$  равна 1,0, это означает, что протоны с энергией 150 МэВ и  $\gamma$ -излучение не отличаются по эффективности детального воздействия на изучаемые клетки в случае фракционированного облучения.

В исследовании группы авторов [21], клетки китайского хомячка подвергались воздействию модулированных пучков протонов с энергией 65 МэВ и для сравнения  $\gamma$ -излучения с источником  $^{137}\text{Cs}$ . Клетки были облучены в 4 различных точках, на глубине 2 мм от входа, и на глубине 10, 18, 23 мм в модифицированном пике Брэгга. Была обнаружена значительная разница между кривыми выживаемости в области глубин 10 и 23 мм ( $p < 0,05$ ), но не были выявлены различия между кривыми выживаемости на глубине 10 и 18 мм. Результаты показали, что значение ОБЭ увеличиваются пропорционально увеличению глубины модулированных пучков протонов; значения ОБЭ были 1,05, 1,1, 1,12, 1,19 на глубине 2, 10, 18 и 23 мм соответственно. При энергии протонов 65 МэВ на входе биологическая эффективность была на уровне  $\gamma$ -лучей, тогда как по мере увеличения глубины и, следовательно, снижения энергии протонов, происходит увеличение ОБЭ, достигающей максимума на глубине 23 мм.

Calugaru V. et al. [22] подвергали клетки HeLa облучению протонами с энергиями 201 и 76 МэВ и определили значения ОБЭ в середине расширенного пика Брэгга равную 1 и 1,066 соответственно, при сравнении с  $\gamma$ -квантами  $^{137}\text{Cs}$ , получив ОБЭ 1,070 и 1,141 соответственно, при сравнении с  $\gamma$ -излучением  $^{60}\text{Co}$ . Энергия  $^{60}\text{Co}$  в два раза выше, чем  $^{137}\text{Cs}$  (1,17–1,33 МэВ и 662 кэВ соответственно), что сопровождается большей проникающей способностью первого. Низкоэнергетичные протоны с более высоким значением ЛПЭ имеют более высокую ОБЭ по тесту гибели клеток при анализе клоногенного выживания [11]. Клетки яичников китайского хомячка были подвержены облучению протонами с энергиями 0,88 и 5,04 МэВ, после чего для них были определены значения ОБЭ, составившие 2,776 и 0,924 соответственно [23].

Облучение протонами вызывает апоптоз в раковых клетках *in vitro*, при этом продемонстрирован повышенный уровень апоптоза после протонного облучения в сравнении с фотонным. Gerelchuluun A. et al. заметили, что для лейкоцитарной линии клеток MOLT4 облучение протонами с энергией 200 МэВ в

расширенном пике Брэгга со средней ЛПЭ = 2,2 кэВ/мкм через 20 ч после воздействия привело к индукции апоптоза в два раза более выраженному, чем после воздействия тормозного излучения 10 МВ в тех же дозах [24]. Di Pietro C. et al. обнаружили, что через 48 ч после облучения фотонами клеток рака простаты человека (PC-3) происходит увеличение числа апоптотических клеток лишь на 4 % даже в случае дозы в 20 Гр [25]. Однако облучение протонами с энергией 26,7 МэВ в тех же дозах уже через 8 ч после облучения индуцировало значительное увеличение процентного содержания апоптотических клеток при сравнении с необлученными клетками: при дозе 5 Гр уровень апоптотических клеток был равен 6,1 %; при дозе в 10 Гр – 15,8 %, а при 20 Гр – 17,5 %, т.е. прослеживается четкая дозовая зависимость. Увеличение частоты и раннее начало апоптоза в клетках щитовидной железы крысы (FRTL-5) после облучения протонами с энергией 222 МэВ в сравнении с  $\gamma$ -излучением в аналогичных дозах было описано в работе [26].

Группа авторов [27] проводила исследование апоптоза клеток меланомы человека (HTB140). Облучение проводили пучками протонов с энергией 62 МэВ и  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$ . После облучения  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  в дозах 8–24 Гр существенной индукции апоптоза клеток не наблюдалось, однако было установлено, что после воздействия протонов радиационно-индуцированный апоптоз был значительно выше через 6 и 48 ч после облучения, достигая 25 % после облучения протонами в дозе 16 Гр.

В целом, по приведенным результатам прослеживается определенная связь между индукцией апоптоза клеток и типом излучения, т.к. после облучения протонами выход апоптотических клеток выше, однако данный эффект заслуживает дальнейшего изучения, т.к. разные виды излучения могут вызывать активацию апоптоза посредством включения различных ферментов [25, 28].

Хорошо известно, что регулирование клеточного цикла является одним из ключевых факторов, определяющих чувствительность к ионизирующему излучению [29]. Moertel H. et al. сравнивали влияние протонов с достаточно высокими значениями ЛПЭ (5,7 и 7,0 МэВ) с рентгеновским излучением 120 кВп (7,27 и 6,23 кэВ/мкм) на здоровые клетки (фибробласты хомячков) и на раковые клетки (глиобластома человека) [30]. Они отметили, что облучение протонами вызвало более продолжительную остановку фазы G2 клеточного цикла. Через 72 ч после облучения в дозе 10 Гр ОБЭ составила 1,57. Похожие результаты описаны в работе [31], в которой фибробласты человека облучали протонами с энергией 0,8 МэВ при ЛПЭ 28,5 кэВ/мкм. Воздействие протонами вызвало заметно большее накопление клеток в фазе G2 по сравнению с рентгеновским облучением 250 кВп. Кроме того, было показано, что пропорция клеток фибробластов, остающихся в фазе G2 после протонного облучения, уменьшалась медленнее (2,7 % через 8 ч, 2,4 % через 32 ч) по сравнению с клетками в фазе G2 после воздействия рентгеновскими фотонами (1,6 % через 8 ч, 0,9 % через 24 ч).

Напротив, Green L.M. et al. не наблюдали существенных различий в G1/G2 распределениях как для протонов с низкой ЛПЭ с энергией 222 МэВ, так и для рентгеновского облучения при исследовании на клетках щитовидной железы крысы [26].

Таким образом, на клеточном уровне установлено, что протоны высоких энергий с низкой ЛПЭ по своей поражающей способности сопоставимы с фотонами, в то время как снижение энергии протонов до уровня менее 50 МэВ приводит к увеличению ЛПЭ, причем достоверно увеличивается эффективность воздействия протонов по целому ряду показателей.

Учитывая возможность межклеточного взаимодействия, приводящего к модификации радиорезистентности и процессов восстановления, представляется важным исследование радиобиологического действия протонов на системном уровне.

### **Радиобиологическое действие протонов на системном уровне**

Известно, что взаимодействие между клетками ткани или внутри популяции существенно влияет на общий радиобиологический ответ как непосредственно облученных клеток, так и соседних не облученных [32]. Изучение радиобиологического действия протонов на системном уровне проводится в рамках планирования лучевой терапии опухолей для определения наилучшего варианта лечения [1, 33, 34]. При протонной терапии воздействие приходится не только на опухолевые клетки, но и на прилегающие ткани (эндотелиальные и иммунные клетки, фибробласты), сосуды, клетки, циркулирующие по сосудам, внеклеточный матрикс [1]. Радиобиологический ответ трансформированных и здоровых клеток различен [35], и этот факт имеет ключевое значение при лечении опухолей. Понимание влияния протонного облучения на ткани опухолей и прилежащих тканей является важным фактором как при терапевтическом лечении, так и для анализа рисков при воздействии космической радиации. Тем не менее, лишь ограниченное число исследований было направлено на изучение моделирования протонным облучением многомасштабных взаимодействий между опухолями и тканями пациента [36].

В клинике лучевой терапии исходят из фиксированного значения ОБЭ = 1,1 при энергии протонов 65–260 МэВ, т.е. принимается положение, что протонные лучи на 10 % более эффективны по сравнению с рентгеновскими и  $\gamma$ -излучением [36–38]. В то же время, сложилось мнение, что ОБЭ протонов зависит от положения и глубины проникновения [11, 22]. ОБЭ не является постоянной величиной и зависит от многих факторов, таких как энергия пучка, доза облучения, глубина проникновения, качество излучения и состав структур, сквозь которые проходит пучок [1, 39].

Для терапевтических пучков протонов (65–260 МэВ) при различных дозах ОБЭ находится в пределах 1,1–1,2 в центре расширенного пика Брэгга [1, 36, 40]. Эти значения были получены главным образом

исследованиями клеточной гибели, клоногенной выживаемости и уровня ЛД<sub>50</sub>.

В работе [41] авторы пишут, что протонное излучение обладает более высоким уровнем ОБЭ по сравнению с излучением фотонов и электронов; в клинике ОБЭ протонов принимают равной 1,1 и по мере того, как уменьшается энергия протонов в конце пути, ЛПЭ и ОБЭ, наоборот, увеличиваются. Giovannini G. et al. также приходят к заключению о том, что принятая в протонной терапии величина ОБЭ, равная 1,1, не является корректной для всех моделей лечения, и зависит от ЛПЭ, что необходимо учитывать при планировании лечения [42]. Gerweck L.E. и Kozin S.V. [36] провели ряд экспериментов и показали, что нельзя применять общую ОБЭ, равную 1,1, для всех тканей, особенно для критических структур, таких как ЦНС. В своей работе авторы определили ОБЭ в 1,1–1,6 с тенденцией увеличения ОБЭ в зависимости от глубины проникновения излучения [36]. Поэтому стоит рассчитывать ОБЭ для каждого случая, исходя из глубины проникновения пучка, дозы и ткани. Величина ОБЭ увеличивается с ростом ЛПЭ, что, в свою очередь, приводит к увеличению глубины проникновения расширенного пучка протонов [1]. Также автором [1] показано, что при облучении протонами величина ОБЭ на входе равна 1,1, примерно 1,15 – в центре пика, 1,35 – на краю, и 1,7 – на спаде расширенного пика Брэгга. В статьях [1, 8] авторы также утверждают, что необходимо уходить от фиксированного значения ОБЭ в терапии опухолей с целью минимизации поражения здоровых тканей и органов.

В эксперименте с использованием протонного пучка с энергией 190 МэВ было показано, что ОБЭ на дистальном участке расширенного пика Брэгга имеет максимумы 1,5 и 1,7 [43].

Определенный интерес для космической радиобиологии представляет изучение механизмов действия различных видов ионизирующего излучения на сетчатку глаза с целью оценки рисков постлучевых осложнений в ходе длительных космических полетов. Авторы [44] облучали протонами в дозах 1, 10, 14 и 25 Гр область головы мышей. Показано, что облучение сетчатки протонами в дозах 10 и 14 Гр на 3–е сут не вызывает морфологических изменений в структуре слоев сетчатки. Однако авторы наблюдали разрывы ДНК, которые полностью репарировались за 10–15 ч после воздействия радиации. Доза облучения 25 Гр вызвала морфологические изменения в сетчатке глаза и гибель фоторецепторных клеток. Авторы заключают, что гибель клеток происходит через процесс апоптоза, что подтверждается возрастанием экспрессии белков, сопутствующих апоптозу, и необратимым снижением функциональной активности сетчатки глаза.

С целью разработки фундаментальных основ охраны здоровья космонавтов и предотвращения срыва миссий во время полетов за пределами орбиты Земли, в последние годы накапливаются сведения о влиянии ионизирующих излучений в наземных условиях на структуры центральной нервной системы, которые будут сказываться на дисфункции ЦНС на молеку-

лярном, клеточном, биохимическом и поведенческом уровнях [5, 13, 45, 46]. Ранние изменения в ЦНС касаются передачи сигналов, ионной регуляции и синаптического взаимодействия [45]. На сегодняшний день нет данных относительно поражения ЦНС у космонавтов, однако имеются данные по изучению реакции нервной системы на ионизирующее излучение у людей, пострадавших от несчастных случаев и аварий в атомной промышленности, а также больных, подверженных облучению из-за онкологических заболеваний [47]. Уже в период первичной реакции при первой легкой степени тяжести острой лучевой болезни у 48 % пострадавших проявлялись такие признаки поражения ЦНС, как головная боль и головокружение. У 14 % проявляется нистагм, а у 17 % – акрогипергидроз. С увеличением степени тяжести лучевой болезни неврологические симптомы становятся все более выраженными. В период разгара ОЛБ отмечаются такие неврологические симптомы, как головная боль, головокружение, общая слабость, психозы, оглушенность и др., которые развиваются с увеличением степени тяжести болезни. В период восстановления у больных преобладают неврастенические и вегетативно-сосудистые нарушения независимо от степени тяжести болезни, такие как тревожность, нистагм, тремор пальцев рук. Для развития церебральной формы ОЛБ необходимо облучение в дозе более 50 Гр, однако даже при легкой форме лучевой болезни наблюдаются различные неврологические симптомы, показывающие, что ЦНС является чувствительной к радиации структурой организма [10].

Таким образом, величина ОБЭ протонов при исследовании на системном уровне варьирует в зависимости от энергии в пределах от 1,1 до 1,7, что указывает на необходимость принятия во внимание этих данных при определении риска протонного облучения, которое, в том числе, может нанести вред и при межпланетных экспедициях.

В силу различия различий ОБЭ от глубины проникновения в биологические ткани, необходимо изучение особенности действия протонного излучения на организменном уровне, с учетом межсистемных взаимодействий.

### **Радиобиологическое действие протонов на организменном уровне**

Как известно, основным фактором, определяющим тяжесть лучевого поражения у млекопитающих после общего кратковременного облучения в дозе до 10 Гр, является поражение кроветворной системы [48]. В исследовании на собаках, облученных протонами с энергиями 126, 240 и 510 МэВ, показано, что развиваются реакции, схожие с действием рентгеновского и  $\gamma$ -излучения [49]. Пробег протонов в воде в зависимости от значения энергии ускоренного пучка варьируется от нескольких мм до десятка см, так, для протонов с энергией 126 МэВ он будет равен 125 мм, для протонов с энергией 240 МэВ – порядка 300 мм. Схожие результаты наблюдались и в экспериментах на обезьянах после облучения протонами с энергиями до 730 МэВ [46].

Важным отличием действия протонов от  $\gamma$ -излучения является более значительное подавление костномозгового кроветворения, в частности эритропоэтического роста, изменение белкового состава и холинэстеразной активности сыворотки крови [6]. В экспериментах на собаках различий в поражающем действии протонов и рентгеновского излучения выявлено не было. На третьи сутки после воздействия радиации клеточный состав костного мозга облученных животных был представлен преимущественно зрелыми клетками белого ростка и единичными нормобластами. Коэффициент ОБЭ протонов с энергией 120 МэВ был равен 1.

Несколько иная картина наблюдалась при облучении мелких лабораторных животных протонами и  $\gamma$ -квантами [50]. У крыс после воздействия  $\gamma$ -излучения наблюдалась более выраженная степень максимальной аплазии кроветворной ткани, а восстановление числа кариоцитов костного мозга происходило интенсивнее. Автор [50] предполагает, что данные различия между мелкими и крупными лабораторными животными происходят из особенностей глубинного распределения поглощенной дозы протонного излучения. При облучении крупных животных значительное количество частиц протонного пучка полностью поглощается в теле животного, в то время как при облучении крыс существенных потерь энергии протонов в теле животного не происходит. При одностороннем облучении крупных лабораторных животных происходит экранирование тканей костного мозга, что приводит к более выраженным процессам восстановления, в то время как эффект экранирования у мелких лабораторных животных минимален.

В начале освоения космического пространства наибольшее внимание исследователей было направлено на изучение характера общей реакции организма и развитие изменений в критических органах и тканях, вызванных воздействием протонов [51]. Анализ результатов исследований ранних реакций на облучение протонами мелких лабораторных животных позволил заключить, что протоны с энергией от 100 до 730 МэВ не обладают большей биологической эффективностью, чем стандартные виды излучения.

Необходимо отметить, что были детально изучены частота хромосомных aberrаций и изменения митотического индекса клеток костного мозга крыс и мышей при облучении протонами 50, 126, 660 МэВ и  $\gamma$ -излучения  $^{60}\text{Co}$  [15, 52]. В представленных исследованиях было показано, что воздействие, как протонов, так и  $\gamma$ -квантов приводило к подавлению митотической активности клеток и к образованию хромосомных aberrаций в клетках костного мозга. При дозах 0,5–10 Гр кривая доза–эффект по частоте хромосомных aberrаций носила линейный характер. ОБЭ протонов по критерию выхода aberrантных митозов в зависимости от энергии частиц составила 1,06–0,78.

Близкие количественные отношения в эффектах наблюдалось и при исследованиях на клетках эпителия роговицы и тонкой кишки, в которых сравнили интенсивность восстановления митотической актив-

ности эпителия рогаковицы после воздействия протонов и  $\gamma$ -квантов, и определили значения ОБЭ протонов в этих тканях, составившие 1,2 и 2 для доз 7 и 2 Гр соответственно [4].

В эксперименте на мышах, облученных протонами, показано, что мощность дозы, фракционирование и энергия протонов не имели значимого влияния на снижение количества лимфоцитов и лейкоцитов крови [53]. Животных облучали протонами с энергией 51,24 МэВ в дозе 2 Гр и с мощностью дозы 0,05–0,07 Гр/мин, протонами с энергией 1 ГэВ в дозах 0,1, 0,2, 0,5, 1, 1,5 и 2 Гр однократно с мощностью дозы 0,05 Гр/мин и 0,5 Гр/мин и фракционно в течение 5 дней с мощностью дозы 0,05 Гр/мин. Результаты показали дозозависимую потерю лейкоцитов и лимфоцитов до 61 % и 72 % соответственно при облучении протонами в дозе 2 Гр через 24 ч после воздействия радиации [53]. В то же время эксперименты, проведенные на хорьках, свидетельствуют о том, что через 3 ч после облучения протонами с энергией 155 МэВ в дозе 0,75–2 Гр число лейкоцитов существенно снизилось при мощности дозы облучения 0,5 Гр/мин, по сравнению с облучением при мощности дозы 0,5 Гр/ч. Для сравнения было проведено облучение  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  [54]. Полученное значение ОБЭ было значительно выше 1 и составляло 2,15 и 4,02 для протонов с низкой мощностью дозы (0,5 Гр/ч) и высокой (0,5 Гр/мин) соответственно при дозе 0,75 Гр. Через 48 ч после облучения было показано, что воздействие протонов с мощностью дозы 0,5 Гр/мин привело к более выраженному снижению числа лейкоцитов, чем  $\gamma$ -излучение с той же мощностью дозы. При низкой мощности дозы (0,5 Гр/ч) существенных различий между  $\gamma$ -квантами и протонами не установлено. Значения ОБЭ варьировали от 1,60–1,19 при дозе 0,75 Гр и 1,04–0,77 при дозе 2 Гр для протонов с высокой и низкой мощностью дозы соответственно.

Проведено исследование хромосомных нарушений на мышах, облученных протонным пучком с энергией 100 МэВ в дозах 0,5 и 1 Гр, с мощностью дозы 5 или 10 мГр/мин и  $\gamma$ -квантами  $^{137}\text{Cs}$  в дозе 1 Гр при мощности дозы 10 мГр/мин [55]. Значение ОБЭ варьировалось от 1,16 до 1,5 в зависимости от времени исследования после облучения. Авторы предположили, что облучение протонами 100 МэВ в дозах 0,5 или 1 Гр способствует индуцированию геномной нестабильности в клетках.

В работе [56] мышам C57BL6 подвергали тотальному облучению протонами с энергией 250 МэВ в дозах 0,5; 1,5 и 3 Гр с мощностью дозы 10 и 0,8 Гр/мин. Для сравнения было проведено облучение  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$ . Через 4 дня после воздействия наблюдалось дозозависимое снижение числа лейкоцитов, а также Т- и В-лимфоцитов в периферической крови и селезенке. Менее выраженный эффект от дозы был отмечен для естественных клеток-киллеров в селезенке. Полученные данные показывают, что реакция мононуклеарных клеток зависит от дозы облучения. Красные клетки крови, концентрация гемоглобина, гематокрит были снижены в зависимости от дозы, в то время как количество тромбоцитов было лишь немного снижено. Показано, что изменения в крови и селезенке были в

значительной степени зависимы от суммарной дозы протонов излучения, причем 80-кратное различие в мощности дозы не является существенным фактором [56].

При изучении процессов поражения в клетках эпителия рогаковицы мышей, облученных протонами с различными энергиями, была получена зависимость ОБЭ протонов от ЛПЭ. По показателю митотической активности клеток ОБЭ протонов в зависимости от снижения энергии протонов с 645 до 10 МэВ варьировалось от 1,24 до 6,97, а по уровню хромосомных аберраций – от 0,7 до 1,8 [57].

При исследовании клеток кишечных крипт мышей ОБЭ определили равной 1,1 для протонного пучка в расширенном пике Брэгга шириной 10 см с исходной энергией 235 МэВ [58]. Нами были созданы условия для тотального облучения протонным пучком экспериментальных мышей и установлено, что поражение протонным излучением носит классический дозозависимый характер по показателям системы кроветворения и иммунитета. Полученные нами на организменном уровне данные демонстрируют в большинстве опытов большой поражающий эффект, проявляющийся после облучения протонами с высоким уровнем ЛПЭ (1,6 кэВ/мкм) по сравнению с протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм. Ни в одном из экспериментов не отмечено большего поражения после облучения протонами с низкой ЛПЭ, т.е. протоны с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм обладают большим поражающим эффектом в сравнении с высокоэнергетичными протонами (171 МэВ) с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм. В то же время следует отметить, что поражающий радиобиологический эффект от  $\gamma$ -излучения  $^{60}\text{Co}$  оказался по большинству показателей выше, чем у протонов в первые 24 ч после облучения, что может указывать на величину ОБЭ для протонов исследуемых энергий меньше 1,0. Однако по показателям цитогенетических исследований, ОБЭ протонов больше 1,0 при облучении в дозах 1 и 5 Гр. ОБЭ имеет переменный характер в зависимости от дозы и типа показателя, выбранного для изучения [59].

Мы не ограничивались только исследованиями радиобиологического действия протонов, но попытались решить и практически значимые задачи. Использование физической защиты в виде набора пластиковых пластин, представляющих собой гребенчатый фильтр [60], позволило модифицировать исходный пучок протонов, существенно повысив при этом ЛПЭ протонов, что обеспечило увеличение мощности дозы протонного излучения и формирование вторичного излучения. Мощность дозы протонов с энергией 171 МэВ на фазотроне составила 0,37 Гр/мин, тогда как после прохождения через гребенчатый фильтр повысилась до 1,1 Гр/мин, при этом облучение мышей проходило в расширенном до 2 см пике Брэгга. В практическом плане это означает, что для достижения равной дозы облучения от протонов после прохождения через гребенчатый фильтр понадобится существенно меньше времени, чем без него. Нами было показано (рис. 1), что через 24 ч после облучения как протонами, модифицированными гребенчатым фильтром, так

и протонами на входе пучка протонов в объект, наблюдается отчетливое дозозависимое поражение костномозгового кровотока: степень аплазии костного мозга после облучения возрастает с увеличением дозы облучения с 1,0 до 5,0 Гр. При этом поражение при всех дозах облучения было более выражено при использовании физической защиты.

При сравнении 37 %-ой выживаемости клеток костного мозга было отмечено усиление радиобиологического эффекта модифицированных протонов в 1,3 раза. Обнаруженный феномен мы связываем с увеличением показателя ЛПЭ протонов с 0,49 до 1,6 кэВ/мкм в результате модификации гребенчатым фильтром. Кроме того, усиление радиобиологического эффекта возможно за счет вторичного излучения, возникающего после прохождения протонов через фильтр.

Те же данные мы представили с позиции времени воздействия протонного излучения на объект, учитывая таким образом время пребывания в радиационном поле. Как видно на рис. 2, пучок протонов, модифицированный гребенчатым фильтром, который можно рассматривать в качестве физической защиты, в значительной степени поражает костный мозг. Для пучка протонов, модифицированного гребенчатым фильтром, временной показатель, при котором достигается 37 %-ое выживание клеточности костного мозга, составил 4,2 мин. Для пучка протонов 171 МэВ понадобилось 11,9 мин для достижения подобного эффекта, т.е. модифицированный протонный пучок более чем в 2,5 раза интенсивнее снижает уровень ядродержащих клеток костного мозга. Таким образом, наши опыты подтверждают реальность предположения о том, что физическая защита от корпускулярного излучения может явиться фактором, усиливающим радиобиологический эффект протонов, входящих в состав радиационных поясов Земли.

Использование физической преграды в виде изделия «Шторка защитная», изготовленного из гигиенических салфеток (ГС) и пластины из силикатного стекла (СП), имитирующей иллюминатор международной космической станции (МКС) в целях защиты от протонного пучка с энергией 171 МэВ, приводит к увеличению ЛПЭ и поглощенной дозы, создаваемой пучком, и тем самым, к усилению радиобиологических эффектов. Также модифицирующее действие стеклянной пластины и материала салфеток, т.е. материалов различного химического состава, на физические и биологические показатели пучка протонов с энергией 171 МэВ имеет сложный характер, при этом биологические эффекты определяются дозой облучения, массовой толщиной защиты, ее химическим составом и критериями радиобиологических оценок. При совместном использовании 2 видов преграды – в виде стеклянной пластины и влажных салфеток, поглощенная доза увеличилась на 16 %, т.е. с 200 до 232 мГр. При этом установлено отчетливое зависимое от дозы снижение показателя клеточности костного мозга через 24 ч после облучения. Получена статистически значимая разница по массе тимуса и числу лейкоцитов в периферической крови между группой, облученной

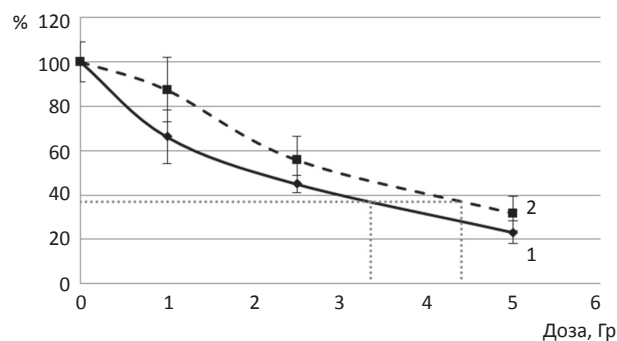


Рис. 1. Зависимость доза-эффект поражения костного мозга мышей CD-1 через 24 ч после воздействия протонов, модифицированных гребенчатым фильтром (1) и протонов на входе в объект (2). На оси ординат – уровень числа клеток в костном мозге. Уровень 100 % в биоконтроле. Тонким пунктиром отмечен уровень 37 % снижения числа клеток в костном мозге

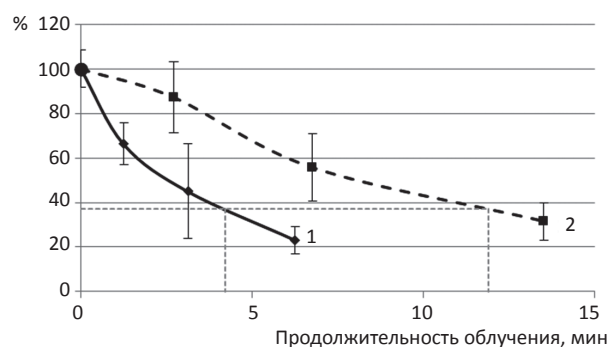


Рис. 2. Зависимость время облучения – эффект поражения костного мозга мышей CD-1 через 24 ч после воздействия протонов, модифицированных гребенчатым фильтром (1) и протонов на входе в объект (2). Тонким пунктиром показан способ определения времени облучения, необходимого для достижения 37 % радиобиологического эффекта. По оси ординат – уровень снижения массы селезенки и числа кариоцитов костного мозга по отношению к биологическому контролю

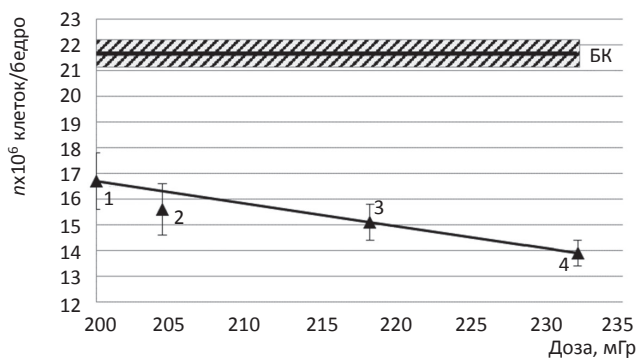


Рис. 3. Влияние дозы протонного облучения (171 МэВ) на число кариоцитов в костном мозге мышей через 24 ч после воздействия радиации (M±m). 1 – протоны входа; 2 – протоны, модифицированные СП; 3 – протоны, модифицированные ГС; 4 – протоны, модифицированные СП+ГС

протонами входа, и группой, облученными протонами после прохождения через СП+ГС.

Нами была проанализирована зависимость доза-эффект (рис. 3) по показателю клеточности костного мозга в узком диапазоне доз (200–232 мГр). Снижение клеточности костного мозга после облучения прямо

пропорционально массовой толщине физической преграды различной природы, определенной по водному эквиваленту, причем очевидна суммация эффекта двух конструкций из СП+ГС.

В работе [61] было проведено тотальное облучение мышей  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  в дозах 0,13; 0,25; 0,5; 1 и 2 Гр и протонами в расширенном пике Брэгга с энергиями 50 и 70 МэВ в дозах 0,25; 0,5; 1 и 2 Гр. Облучение проводили при мощности дозы 0,5 Гр/ч и 0,5 Гр/мин. При анализе данных через 24 ч после облучения показано, что воздействие  $\gamma$ -квантов и протонов с энергией 70 МэВ при высокой мощности дозы приводит к дозозависимому уменьшению числа лейкоцитов крови у мышей; подобная тенденция наблюдается и при низкой мощности дозы облучения. ОБЭ при облучении протонами 70 МэВ с мощностью дозы 0,5 Гр/мин составила 1,05, и 1,1 при 0,5 Гр/ч, а при облучении 50 МэВ протонами ОБЭ равна 0,54 и 0,73 соответственно. Полученные различия авторы объясняют неравномерностью облучения протонами 50 МэВ, установив пороговые дозы в диапазоне от 0,25 до 0,5 Гр для протонов и  $\gamma$ -излучения. Таким образом, облучение протонами с энергией 70 МэВ и  $\gamma$ -квантами с низкой мощностью дозы является менее эффективным по сравнению с вариантом облучения с высокой мощностью дозы. Подводя итог работы, авторы заключают, что полученные данные демонстрируют дозозависимое уменьшение числа лейкоцитов в крови мышей после воздействия 70 МэВ протонами и  $\gamma$ -квантами с высокой и низкой мощностью дозы, предполагая, что и у астронавтов может быть отмечено снижение числа лейкоцитов в циркулирующей крови [61].

В работе [62] было проведено исследование на пучке протонов с энергией 200 МэВ. Облучение проводили в середине расширенного до 7 см пика Брэгга. В качестве объекта исследования был выбран кишечник мышей после тотального фракционированного облучения (одна, три и десять фракций облучения с промежутком в 3,5 ч). Значения ОБЭ протонов были равны 1,15, 1,15 и 1,14 для доз облучения 10, 4,8 и 1,7 Гр, что соответствует одиночному, тройному и десятикратному облучению. Авторы [62] показали, что фракционированное облучение протонами не влияет на величину ОБЭ. Также было показано, что облучение на спаде расширенного пика Брэгга является более эффективным, чем в середине. В заключении авторы утверждают, что принятое в клинике значение ОБЭ = 1,1 ниже экспериментально полученного, о чем сообщалось в других работах. Ранее тем же коллективом авторов была проведена похожая работа [40], в которой также фракционированное облучение 200 МэВ протонами не повлияло на значение ОБЭ. Однако было показано, что величина ОБЭ имела тенденцию к увеличению с течением времени по показателю выживаемости и достигала (для 1, 3 и 10 фракций) 1,00, 1,08, 1,14, и 1,25 для ЛД<sub>50</sub> через 180, 210, 240 и 270 сут после облучения соответственно. Анализ литературы показал, что поражение исследованных уровней организации биосистем протонным излучением носит дозозависимый характер.

Кроме того, выявленная количественная закономерность при действии рассматриваемых излучений является отражением общебиологических закономерностей, и может быть в ряде случаев распространена и на человека [51]. Исследования радиобиологических эффектов протонов имеют большое значение для формирования представлений о реальной опасности космического излучения для здоровья космонавтов. Отмечен ряд противоречий, что приводит к необходимости решения ряда практических задач. Исследования, проведенные на клеточном, системном и организменном уровнях показали, что ОБЭ протонов меняется в зависимости от объекта исследования, типа ткани, дозы и энергии протонов. Протоны высоких энергий с низкой ЛПЭ по своей интенсивности сопоставимы с фотонами на клеточном уровне, в то время как снижение энергии протонов до уровня менее 50–100 МэВ приводит к увеличению ЛПЭ и статистически значимо увеличивает радиобиологическую эффективность протонов. На системном уровне величина ОБЭ протонов варьируется в зависимости от их энергии в пределах от 1,1 до 1,7. На организменном уровне, в силу различной проникающей способности протонов, величина ОБЭ меняется от 6,97 до 0,54 при облучении протонами с энергиями в пределах 10–645 МэВ при высокой и низкой мощности дозы в исследованиях на мелких лабораторных животных и собаках.

Физическая защита существенно модифицирует радиобиологические эффекты протонов. По современным представлениям, во время длительных и дальних межпланетных полетов организм космонавта будет подвержен воздействию космического излучения, излучения солнечных вспышек, нейтронного и  $\gamma$ -излучения, которые возникают в процессе ядерных взаимодействий первичного космического излучения с веществом космического корабля и биологической тканью, а также излучения от ядерно-энергетических и других радиоизотопных установок [10].

Защититься от воздействия радиации с помощью физической преграды полностью невозможно, поэтому необходимо дополнительное использование фармакологической защиты. В этой связи выполнены эксперименты с использованием фармакологических препаратов, которые действенны при фотонном излучении.

### **Фармакологические средства профилактики и терапии последствий протонного облучения**

Для профилактики острых лучевых поражений наилучшим средством является радиопротектор экстренного действия – индралин, который оказывает выраженное противолучевое влияние на 6 видов животных (мыши, крысы, хомячки, морские свинки, собаки и обезьяны), сохраняет радиозащитное действие при облучении как в условиях низкой ЛПЭ ( $\gamma$ -кванты), так и при облучении нейтронами и высокоэнергетическими протонами, в том числе на крупных животных – собаках [63].



Коллектив авторов [4] использовал для предупреждения лучевых нарушений витаминно-аминокислотный комплекс, способный повышать естественную резистентность и радиорезистентность, и в то же время не вызывать неблагоприятных явлений, которые могли бы служить противопоказаниями к применению в условиях космического полета. В экспериментах на собаках, облученных протонами с энергией 275 МэВ в дозе 2,4 Гр и леченных комплексом препаратов, включающим в себя антибиотики (стрептомицин, тетрациклин), витамины (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, С и Р), гормоны (преднизолон), стимуляторы кроветворения, авторы установили, что наибольшего успеха можно добиться при действиях, направленных на предупреждение и борьбу с патологическими процессами, развивающимися прежде всего в системе кроветворения [4]. С помощью предложенного комплекса препаратов удалось предупредить гибель животных после воздействия протонов при ЛД<sub>50</sub> и увеличить выживаемость на 50–60 % при ЛД<sub>100</sub>. Далее были проведены развернутые эксперименты, в которых животные подвергались облучению протонами с энергией 126 МэВ в дозах 0,55, 0,89 и 1,6 Гр при мощности дозы 0,36 Гр/мин. Также было проведено повторное облучение группы животных в дозах 0,55 и 0,89 Гр с интервалом в 54 дня с суммарной дозой 1,44 Гр. В качестве фармакологической защиты вводили перорально 2 раза в день в течение 17–27 сут до и 12–18 сут после воздействия радиации комплекс витаминов, состоящий из аскорбиновой кислоты, тиамин, пиридоксин, цитрин (витамин Р), двух аминокислот – d,l-триптофана и гистидина.

Данные клинического наблюдения за облученными в дозах 0,55–1,6 Гр собаками показали нарастание выраженности симптомов лучевого поражения с увеличением дозы протонов; в свою очередь, использование защитно-лечебных средств смягчило клинические проявления лучевого поражения. По показателям свертываемости крови и количеству свободного гепарина у облученных собак не наблюдалось четкого положительного влияния от применяемого лечения. Назначение витаминно-аминокислотного комплекса ослабляло клинические проявления, предупреждая изменения слизистых, уменьшало выраженность и длительность существования геморрагий, изменения веса. Благоприятное влияние на кроветворение по показателям периферической крови было особенно четким при облучении в дозе 1,6 Гр. Сделан вывод, что применение указанного комплекса при облучении в нелетальных дозах оправдано с целью защиты и как лечебного средства. Использование средств биологической защиты в предполетный период подготовки космонавтов и во время полета, применение малотоксичных химических радиопротекторов при угрозе радиационной опасности от солнечных вспышек, дополнительное использование схемы с комплексом препаратов позволят разработать надежную систему радиационной безопасности космических полетов [4].

В условиях массового использования наиболее перспективными являются средства, обладающие выраженным действием при приеме внутрь, широким

спектром биологических свойств и низкой токсичностью. Это, как правило, фармакологические вещества, повышающие общую неспецифическую резистентность организма к воздействию различных экстремальных факторов, в частности к облучению [64].

К таким биомедицинским средствам относится меланин – природный высокомолекулярный пигмент, участвующий в работе живых систем различного уровня организации [65]. Нами были проведены исследования противолучевых свойств меланина при облучении в различных дозах. В качестве модели использовали однократное и фракционированное тотальное воздействие рентгеновским или  $\gamma$ -излучением в диапазоне доз, вызывающих костномозговую форму лучевой болезни у аутбредных мышей ICR CD-1. Водный раствор меланина мыши получали в виде питьевой воды *ad libitum* с 1-х по 30-е сут после облучения. Полученные результаты показали, что при однократном лучевом воздействии в дозах 6,0–7,5 Гр (ЛД<sub>30</sub> – ЛД<sub>100</sub>) лечение водорастворимым меланином во всех группах обеспечивало увеличение тридцатисуточной выживаемости на 13–18 % по сравнению с контролем. При фракционированном облучении ежедневно по 1 Гр в течение 5 дней и затем повторно через 2 дня в том же режиме (суммарно 10 Гр, ЛД<sub>60</sub>) прием меланина полностью предотвращал гибель мышей (рис. 4).

Меланин снижал степень потери массы тела и частоту развития бактериурии у пролеченных животных. Для исследования действия меланина на состояние нервной системы после облучения животных была изучена спонтанная двигательная активность, которая отражает психоэмоциональный статус животных [66]. Тестирование в «открытом поле» мышей, перенесших ОЛБ, показало, что лечебное применение меланина ускоряет восстановление локомоторной активности и психофизиологического статуса. На 34-е сут после облучения большинство показателей у леченных животных находились на существенно более высоком уровне, чем у контрольных.

Результаты, полученные по показателям выживаемости и общесоматического статуса, свидетельствуют о наличии у меланина (при его приеме внутрь)

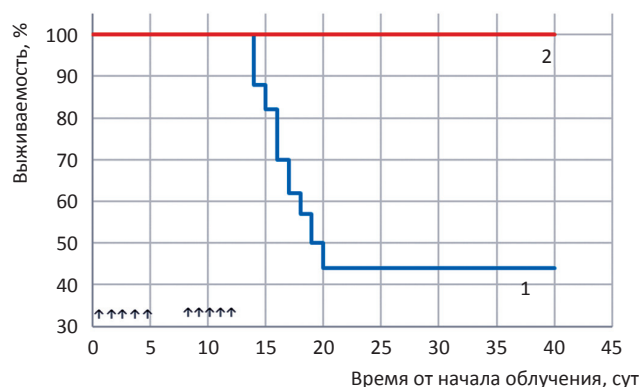


Рис. 4. Лечебный эффект меланина при фракционированном облучении (суммарная доза 10 Гр) в течение 12 сут (с перерывом 2 сут). ↑ – обозначено облучение по 1 Гр; контроль – 1; меланин – 2 (с первых сут от начала воздействия и далее до 30-х сут после его окончания)

лечебного действия при лучевой болезни, вызванной однократным и фракционированным воздействием [67]. Также было изучено влияние меланина при его курсовом приеме внутрь с питьевой водой на течение и исход лучевого поражения по основным показателям иммунитета и кроветворения [67]. В экспериментах на мышцах ICR CD-1 было показано, что меланин обладает лечебным и защитно-лечебным действием при костномозговой форме острой лучевой болезни. Заметное положительное действие на течение лучевого поражения отмечено также при комбинированном защитно-лечебном варианте использования меланина. Сочетание профилактического введения до облучения в абсолютно смертельной дозе с последующим продолжением приема на фоне развития ОЛБ способствовало увеличению выживаемости до 16 % ( $p < 0,01$  по сравнению с контролем) и средней продолжительности жизни погибших ( $14,3 \pm 0,2$  сут, в контроле  $12,5 \pm 0,45$  сут). Наилучший результат (40 %) был достигнут при 8-дневном приеме до и далее в течение 20 дней после воздействия радиации. Снижение дозы облучения до 6 Гр сопровождалось значительным ослаблением поражающего действия ( $LD_{30/30}$ ): в контроле из 11 мышей выжило 8 (72 %). Однако и в этих условиях лечебные свойства меланина при 30-суточном приеме внутрь проявились некоторым увеличением выживаемости – фактор изменения дозы (ФИД) составил 1,03. Изучение кроветворения на 8-е сут после облучения в сублетальной дозе 5 Гр показало, что масса тимуса  $32,0 \pm 2,9$  мг и селезенки  $38,9 \pm 5,3$  мг у пролеченных животных статистически значимо выше, чем у контрольных – соответственно  $22,1 \pm 2,0$  и  $25,8 \pm 1,6$  мг;  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ . Количество эндогенных колоний в селезенке мышей, получавших меланин, практически в 2 раза превышало показатель в контроле:  $6,3$  ( $7,9 \div 5,1$ ) и  $3,3$  ( $3,5 \div 3,2$ ) ( $p < 0,05$ ). Положительное действие меланина в разгаре заболевания приводит также к снижению степени поражения кроветворения, ослаблению инфекционных осложнений и нарушений в ЦНС [67].

Таким образом, в ходе выполненных исследований получены новые данные о противолучевых свойствах меланина и доказательства его эффективности при применении внутрь после кратковременного и многократного фракционированного облучения в летальных и нелетальных дозах. Низкая токсичность, простой и безопасный способ введения, возможность приема профилактически и после облучения расширяют доступность и условия применения меланина при различных ситуациях, связанных с воздействием ионизирующего излучения. Наши данные позволяют отнести меланин к средствам снижения лучевого поражения.

На мышцах CBAx57Bl F1 изучена радиопротекторная активность вакцины гриппол, вводимой за 10 сут до облучения протонами с энергией 170 МэВ при дозах 7–8,5 Гр. Результаты проведенной работы демонстрируют положительный эффект препарата – выживаемость составила 100 %. Полученные данные демонстрируют безопасность применения вакцины гриппол при облучении [68].

На модели сублетального тотального протонного облучения на фазотроне Объединенного института ядерных исследований (Дубна, Россия) была воспроизведена костномозговая форма ОЛБ у мышей. Мыши-самцы C57Bl/6 категории SPF со средней массой тела 24 г были облучены протонным пучком с энергией частиц 171 МэВ в дозе 4 Гр. Лечение животных выполнялось путем подкожного введения rMnSOD или физиологического раствора хлорида натрия. В ходе работы было установлено, что шестикратное ежедневное подкожное введение обеспечило статистически значимое ускоренное восстановление массы тимуса, массы селезенки и числа лейкоцитов в периферической крови на седьмые сутки после воздействия радиации при отсутствии восстановления по этим показателям в группе, получавшей физиологический раствор. Число кариоцитов в костном мозге у облученных животных на седьмые сутки после облучения превысило значение этого показателя в группе биоконтроля. В группе животных, подвергавшихся введению rMnSOD, гипервосстановление этого показателя было еще более значительным. Результаты, полученные по показателям состояния органов иммунитета и кроветворения, указывают на наличие лечебного эффекта у препарата rMnSOD при острой лучевой болезни на уровне сублетальной дозы протонного облучения [69].

Проведено доклиническое изучение свойств препарата семакс [70]. Изучение влияния официального препарата семакс (капли назальные 0,1 %) на поведенческие реакции, иммуногематологический статус и силу захвата передних лап мышей, а также морфологические нарушения в нервной ткани было проведено после облучения животных протонами с энергией 170 МэВ в дозах 2,28 и 2,85 Гр. Показано, что облучение мышей протонами вызывает статистически значимое поражение системы кроветворения и иммунитета. Интраназальное введение облученным животным нотропного препарата семакс не отягощало по большинству исследованных традиционных радиобиологических показателей (масса тимуса и селезенки, число кариоцитов в костном мозге и число лейкоцитов в периферической крови) тяжести лучевого поражения. При этом препарат после многократного интраназального введения статистически значимо влиял на сохранность показателя ориентировочно-исследовательской реакции, нарушенной у облученных животных при дозе 2,85 Гр. Препарат нормализует показатель эмоционального статуса на 7-е сут после воздействия. Облучение в исследованных дозах снижает величину силы скелетной мускулатуры мышей до  $81,3$ – $84,6$  % от уровня группы контрольных животных. Применение семакса восстанавливает уровень данного показателя до  $93,1$ – $100$  %, поднимая его до значений, присущих контрольной группе, различия статистически значимые. Установлено, что морфологическая картина в сенсомоторной коре головного мозга облученных животных, пролеченных с использованием семакса, соответствовала нормальной у необлученных животных. В коре головного мозга у облученных животных,

леченных семаксом, практически отсутствуют радиационные нарушения капилляров [70].

### Заключение

Протонное излучение сопровождает человека повсеместно на Земле и в космическом пространстве, формирует часть естественного радиационного фона и является угрозой радиационной безопасности в ходе космических полетов. Все более широкое распространение как в нашей стране, так и за рубежом получает протонная терапия. Указанные обстоятельства обуславливают необходимость глубокого изучения радиобиологических эффектов протонного излучения на различных уровнях организации живых систем, а также в условиях физической и фармакологической защиты. Цель этих исследований состоит в сохранении здоровья лиц, контактирующих с протонным излучением, и оптимизации применения протонов в лучевой терапии.

Анализ литературы показал, что поражение биосистем исследованных уровней организации протонным излучением носит дозозависимый характер.

Установлено, что ОБЭ протонов является величиной переменной, зависящей от ЛПЭ частиц, величины и мощности дозы, наличия или отсутствия кислорода. ОБЭ протонов меняется в зависимости от объекта исследования, типа ткани, энергии протонов и глубины проникновения частиц, а также от метода оценки биологической эффективности протонов. В частности, показано, что величина ОБЭ протонов, принятая в лучевой терапии на уровне 1,1, является условной. Исследования, проведенные на клеточном, системном и организменном уровнях, показали, что ОБЭ протонов меняется в зависимости от объекта исследования, типа ткани, дозы и энергии протонов. Протоны высоких энергий с низкой ЛПЭ по уровню своего воздействия сопоставимы с фотонами на клеточном уровне, в то время как снижение энергии протонов до уровня менее 50–100 МэВ приводит к увеличению ЛПЭ с достоверным увеличением эффективности протонов. На системном уровне величина ОБЭ протонов варьирует в зависимости от их энергии в пределах от 1,1 до 1,7. На организменном уровне в силу различной проника-

ющей способности протонов величина ОБЭ меняется от 6,97 до 0,54 при облучении протонами с энергиями в пределах 10–250 МэВ при высокой и низкой мощностях дозы.

Перспектива освоения человечеством других планет Солнечной системы и вероятность нежелательных воздействий космического излучения на экипажи космических кораблей послужили мощным стимулом развития широких радиобиологических исследований с различными источниками радиации, элементами физической защиты и фармакологическими препаратами для защиты здоровья космонавтов. Использование элементов физической защиты космического корабля при воздействии протонов с энергией 170 МэВ в эксперименте на мышах приводит к увеличению ЛПЭ протонов и увеличению ОБЭ по показателю клеточности костного мозга. Фармакологические препараты, эффективные при фотонном облучении, эффективны и при воздействии пучком протонов. Показано, что природный пигмент меланин и рекомбинантная марганец-содержащая супероксиддисмутаза способствуют сохранению и ускорению восстановления кровотока у животных, облученных протонами. Вакцина гриппол повышает радиорезистентность при протонном облучении. Нейропептид семакс благоприятно влияет на состояние ЦНС и силу передних лап животных, облученных протонами в пике Брэгга в нелетальной дозе.

Таким образом, суммируя содержание обзора, следует отметить, что протонное излучение в силу корпускулярной природы и многообразия энергетического спектра не поддается однозначной оценке, как например,  $\gamma$ -излучение. Прогнозирование интенсивности радиобиологических эффектов в живых системах после облучения протонами требует комплексного математического, физического и биологического подхода. Это обстоятельство является чрезвычайно важным как для оценки радиационной безопасности при контакте с протонами, так и планировании лучевой терапии.

**Для цитирования:** Иванов А.А., Бычкова Т.М., Никитенко О.В., Ушаков И.Б. Радиобиологические эффекты протонов // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2019. Т. 64. № 3. С. 19–31.

DOI: 10.12737/article\_5cf2306a3b26d6.36140627

### Radiobiological Proton Effects

**A.A. Ivanov<sup>1,2,3</sup>, T.M. Bichkova<sup>1,2</sup>, O.V. Nikitenko<sup>1,2</sup>, I.B. Ushakov<sup>1</sup>**

1. A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia. E-mail: a1931192@mail.ru;
2. Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;
3. Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

A.A. Ivanov – Head of Lab., Dr. Sci. Med., Prof.; T.M. Bichkova – Junior Researcher; O.V. Nikitenko – Junior Researcher; I.B. Ushakov – Chief Researcher, Academician of the RAS, Dr. Sci. Med., Prof.

#### Abstract

The article contains an analysis of literature data and the author's own results on the radiobiological effects of protons at the cellular, systemic (intercellular) and organismic levels, as applied to the practical tasks of radiation therapy of oncological diseases and the protons effects on the astronauts' organism.

It is established that the proton RBE is a variable value, depending on the LET of the particles, the amount and dose rate, the presence or absence of oxygen. Proton RBE varies depending on the object of study, the type of tissue, proton energy and particle penetration depth, as well as the method for evaluating the biological efficiency of protons, which corresponds to general radiobiology.

In particular, it has been shown that the RBE of protons adopted in radiation therapy at the level of 1.1 is conditional. A firmly established and repeatedly confirmed is an increase in RBE with a decrease in proton energy and, accordingly, an increase in LET.

The use of elements of the physical protection of a spacecraft during exposure to protons with an energy of 170 MeV leads to an increase in LET and RBE of protons in terms of the cellularity of the bone marrow.

Pharmacological agents effective in photon irradiation are also effective when exposed to a proton beam. It has been shown that natural melanin pigment and recombinant manganese superoxide dismutase helps to preserve and accelerate the resumption of blood formation in animals irradiated by protons. The Grippol vaccine increases radioresistance during proton irradiation. Neuropeptide Semax has a positive effect on the central nervous system and the strength of the forepaws of animals irradiated with protons at Bragg's peak.

**Key words:** protons, RBE, Bragg peak, central nervous system, hematopoiesis, chromosomal aberrations, survival, radioprotective agents, radiation therapy, space radiation, mice, rat

Article received: 26.12.2018. Accepted for publication: 27.02.2019

## REFERENCES.

- Paganetti H. Relative biological effectiveness (RBE) values for proton beam therapy. Variations as a function of biological endpoint, dose, and liners energy transfer. *Phys Med Biol.* 2014 Nov 21;59(22):R419-72. DOI: 10.1088/0031-9155/59/22/R419.
- Gazenko OG, Calvin M. Foundations of Space Biology and Medicine. Vol I. Space as a Habitat. Moscow: Nauka; 1975; 430 p. (Russian).
- Nurlybaev K, Martinyuk Yu, Karakash A. Radiation Protection in Radiotherapy Using Electron Accelerators. ANRI. 2014;1(76):15-21. (Russian).
- Grigor'ev YuG. The biological effect of high-energy protons. Moscow: Atomizdat. 1967; 508 p. (Russian).
- Grigor'ev AI, Krasavin EA, Ostrovskij MA. Galactic heave charged particles damaging effect on biological structures. *Neuroscience and Behavioral Physiology – Sechenov Physiology Journal.* 2013; 99(3); 273-80. (Russian).
- Fedorenko BS. Radiobiological effects of corpuscular radiation: radiation safety of space flight. Moscow: Nayka. 2006; 189 p. (Russian).
- Cucinotta A, Durante M, Loeffler J. Editorial: Charged Particles in Oncology. *Front Oncol.* 2017 Dec 8;7:301. DOI: 10.3389/fonc.2017.00301.
- Durante M, Tommasino F. Proton radiobiology. *Cancers (Basel).* 2015 Feb 12;7(1):353-81. DOI: 10.3390/cancers7010353.
- Girdhani S, Sachs R, Hlatky L. Biological Effects of proton radiation: what we know and don't know. *Radiat Res.* 2013 Mar;179(3):257-72. DOI: 10.1667/RR2839.1.
- Butomo NV, Grebenyuk AN, Legeza VN, et al. Fundamentals of Medical Radiobiology. SPb.: Foliant. 2004; 258 p. (Russian).
- Belli M, Bettega D, Calzolari P, et al. Inactivation of human normal and tumor cells irradiated with low energy protons. *Int J Radiat Biol.* 2000 Jun;76(6):831-9.
- Ushakov I.B, Shtemberg A.S. The problems of studying the effects of far long-duration space mission factors on the higher nervous activity in model experiments with animals. *Aerospace and Environmental Medicine.* 2012; 46(1):5-16. (Russian).
- Parihar VK, Allen B, Tran KK, et al. What happens to your brain on the way to Mars. *Sci Adv.* 2015 May 1;1(4). DOI: 10.1126/sciadv.1400256.
- Pyatkin EK, Baranov AE, Filyushkin IV, et al. Estimation of the dose and uniformity of radiation in acute human radiation lesions using the analysis of chromosomal aberrations. Guidelines. Moscow: USSR Ministry of Health, 1988; 25 p. (Russian).
- Govorun RD, Deperas-Kaminska M, Zaitseva EM, et al. Study of chromosomal abnormalities in human cells after irradiation with a therapeutic beam of protons of the phasotron of the Joint Institute for Nuclear Research. *Letters to ECHA.* 2006;3(1):92-101. (Russian).
- Dorozhkina OV, Bulynina TM, Ivanov AA. Effect of individual and group housing of mice on the level of radioresistance. *Saratov. Nauch.-Med. Zh.* 2015;60(5):653-6. (Russian).
- Fedorenko BS, Shevchenko VA, Snigireva GP, et al. Cytogenetic studies of blood lymphocytes of cosmonauts after long-ter, space flights. *Radiation Biology. Radioecology.* 2000;40(5):596-602. (Russian).
- Nugis VYu. Estimation of radiation dose from cytogenetic studies of peripheral blood and bone marrow. In: *Radiation damage of humans.* Ed. L.A. Ilyin. Moscow: Izd. At. 2001. Vol. 2:249-53 (Russian).
- Hayata I. Biological dosimetry by chromosome analysis. *Radiation and Risk.* 1996;(7):72-5.
- Voskanian KSh, Mitsyn GV, Gaevsky VN. Effectiveness of the biological action of protons and gamma-radiation on cells C3H10T1/2. *Aviakosm Ekolog Med.* 2005;39(5):50-3. (Russian).
- Tang JT, Inoue T, Yamazaki H, et al. Comparison of radiobiological effective depths in 65 MeV modulated proton beams. *Br J Cancer.* 1997;76(2):220-5.
- Calugaru V, Nauraye C, Noel G, et al. Radiobiological characterization of two therapeutic proton beams with different initial energy spectra used at the Institute Curie Proton Therapy Center in Orsay. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011 Nov 15;81(4):1136-43. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2010.09.003.
- Sgura A, Antoccia A, Cherubini R, et al. Micronuclei, CREST-positive micronuclei and cell inactivation induced in Chinese hamster cells by radiation with different quality. *Int J Radiat Biol.* 2000 Mar;76(3):367-74.
- Gerelchuluun A, Hong Z, Sun L et al. Induction of in situ DNA double-strand breaks and apoptosis by 200 MeV protons and 10 MV X-rays in human tumour cell lines. *Int J Radiat Biol.* 2011 Jan;87(1):57-70. DOI: 10.3109/09553002.2010.518201.
- Di Pietro C, Piro S, Tabbi G, Ragusa M, Di Pietro V, Zimmitti V, et al. Cellular and molecular effects of protons: apoptosis induction and potential implications for cancer therapy. *Apoptosis.* 2006 Jan;11(1):57-66.
- Green LM, Tran DT, Murray DK, et al. Response of thyroid follicular cells to gamma irradiation compared to proton irradiation: II. The role of connexin 32. *Radiat Res.* 2002 Oct;158(4):475-85.
- Ristic-Fira AM, Todorovic DV, Koricanac LB, et al. Response of a human melanoma cell line to low and high ionizing radiation. *Ann NY Acad Sci.* 2007 Jan;1095:165-74.
- Lee KB, Lee JS, Park JW, et al. Low energy proton beam induces tumor cell apoptosis through reactive oxygen species and activation of caspases. *Exp Mol Med.* 2008 Feb 29;40(1):118-29.
- Pawlik TM, Keyomarsi K. Role of cell cycle in mediating sensitivity to radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004 Jul 15;59(4):928-42.
- Moertel H, Georgi JC, Distel L, et al. Effects of low energy protons on clonogenic survival, DSB repair and cell cycle in human glioblastoma cells and B14 fibroblasts. *Radiation Oncol.* 2004 Dec;73 Suppl 2:S115-8.
- Antoccia A, Sgura A, Berardinelli F, et al. Cell cycle perturbations and genotoxic effects in human primary fibroblasts induced by low-energy protons and X/gamma-rays. *J Radiat Res.* 2009 Sep;50(5):457-68.
- Desouky O, Ding N, Zhou G. Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. *J Radiat Res Appl Sci.* 2015;8(2):247-54. DOI: 10.1016/j.jrras.2015.03.003.

33. Childs SK, Kozak KR, Friedmann AM, et al. Proton radiotherapy for parameningeal rhabdomyosarcoma: clinical outcomes and late effects. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012 Feb 1;82(2):635-42. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2010.11.048.
34. Sheets NC, Goldin GH, Meyer AM, et al. Intensity-modulated radiation therapy, proton therapy, or conformal radiation therapy and morbidity and disease control in localized prostate cancer. *JAMA*. 2012. Apr 18;307(15):1611-20. DOI: 10.1001/jama.2012.460.
35. Yarmonenko SP, Weinson AA. *Radiobiology of Humans and Animals*. Moscow: Vysshaya shkola. 2004. 549 p. (Russian).
36. Gerweck LE, Kozin SV. Relative biological effectiveness of proton beam in clinical therapy. *Radiother Oncol*. 1999 Feb;50(2):135-42.
37. Skarsgard LD. Radiobiology with heavy charged particles: a historical review. *Phys Med Biol*. 1998 Jul;14 Suppl 1:1-19.
38. Wambersi A, Menzel HG, Andreo P, et al. Isoeffective dose: a concept for biological weighting of absorbed dose in proton and heavier-ion therapies. *Radiat Prot Dosimetry*. 2011 Feb;143(2-4):481-6. DOI: 10.1093/rpd/ncq410.
39. Kase Y, Yamashita W, Matsufuji N, et al. Microdosimetric calculation of relative biological effectiveness for design of therapeutic proton beams. *J Radiat Res*. 2013 May;54(3):485-93. DOI: 10.1093/jrr/rrs110.
40. Gueulette J, Bohm L, Slabbert JP, et al. Proton relative biological effectiveness (RBE) for survival in mice after thoracic irradiation with fractionated doses. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000 Jul 1;47(4):1051-8.
41. Tilly N, Johansson J, Isacson U, et al. The influence of RBE variations in a clinical proton treatment plan for a hypopharynx cancer. *Phys Med Biol*. 2005 Jun 21;50(12):2765-77.
42. Giovannini G, Böhlen T, Cabal G, et al. Variable RBE in proton therapy: comparison of different model predictions and their influence on clinical-like scenarios. *Radiat Oncol*. 2016 May 17;11:68. DOI: 10.1186/s13014-016-0642-6.
43. Matsumoto Y, Matsuura T, Wada M, et al. Enhanced radiobiological effects at the distal end of a clinical proton beam: *in vitro* study. *J Radiat Res*. 2014 Jul;55(4):816-22. DOI: 10.1093/jrr/rrt230.
44. Tronov VA, Vinogradova YuV, Poplinskaya VA, et al. Investigation of the adaptive response of the retina in mice to proton irradiation: connection with DNA repair and photoreceptor cell death. *Letters to ECHA*. 2015;12(1):241-55 (Russian).
45. Sapetsky AO, Ushakov IB, Sapetskiy NV, et al. Radiation neurobiology of distant space flights. *Successes of Modern Biology*. 2017;137(2):165-94 (Russian).
46. Taketa ST, Castle BL, Howard WH et al. Effects of acute exposure to high-energy protons on primates. *Radiat Res Suppl*. 1967;7:336-59.
47. Bushmanov AYu, Torubarov FS. Neurological aspects of radiation damage. *Radiation Medicine*. Ed. Ilyin L.A. Vol. 2. – Moscow: Izd. At. 2001; 275-305. (Russian).
48. Darenskaya NG. Reaction of the hematopoietic system. *Radiation Medicine*. Vol. 1. Moscow: Izd. At. 2004. P. 295-307. (Russian).
49. Darenskaya NG, Kozlova LB, Akoev IG, Nevskaya TF. *Relative Biological Efficiency of Radiation. The Time Factor of Exposure*. Moscow: Atomizdat. 1968. 376 p. (Russian).
50. Seraya VM. Investigation of hematopoietic systems in experimental animals irradiated with 120 MeV protons: PhD Med: Moscow. 1970. 155 p. (Russian).
51. Ryzhov NI. Biological Action of Protons. In: Ugolev A.M. editors. *Biophysical bases of the action of cosmic radiation and accelerator radiation*. L.: Science. 1989;60:170-8. (Russian).
52. Shmakova NL, Yarmonenko SP. Cytological analysis of the action of high-energy protons: 1. Cellular degeneration and mitotic activity of the bone marrow of mice subjected to proton irradiation. *Radiobiology*. 1963;3:291-3. (Russian).
53. Ware JH, Sanzari J, Avery S, et al. Effects of proton radiation dose, dose rate and dose fractionation on hematopoietic cells in mice. *Radiat Res*. 2010 Sep;174(3):325-30. DOI: 10.1667/RR1979.1.
54. Sanzari JK, Wan XS, Krigsfeld GS, et al. The effects of gamma and proton radiation exposure on hematopoietic cells counts in the ferret model. *Gravit Space Res*. 2013 Oct;1(1):79-94.
55. Rithidech KN, Honikel LM, Reungpatthanaphong P, et al. Effects of 100 MeV protons delivered at 0,5 or 1 cGy/min on the *in vivo* induction of early and delayed chromosomal damage. *Mutat Res*. 2013 Aug 30;756(1-2):127-40. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2013.06.001.
56. Gridley DS, Pecaut MJ, Dutta-Roy R, Nelson GA. Dose and dose rate effects of whole-body proton irradiation on leukocyte populations and lymphoid organs: Part I. *Immunol Lett*. 2002 Jan 1;80(1):55-66.
57. Vorozhtsova SV, Bulynina TM, Molokanov AG, Ivanov AA. Cytogenetic damage to the corneal epithelium of mice due to the *in vivo* exposure to ionizing radiation with different levels of linear energy transfer. *Aviakosm Ekolog Med*. 2015;49(1):50-6 (Russian).
58. Ando K, Furusawa Y, Suzuki M, et al. Relative Biological Effectiveness of the 235 MeV Proton Beams at the National Cancer Center Hospital East. *J Radiat Res*. 2001 Mar;42(1):79-89.
59. Ivanov AA, Molokanov AG, Ushakov IB, et al. Radiobiological effects of total mice irradiation with bragg's peak protons. *Aviakosm Ekolog Med*. 2013;47(6):49-54 (Russian).
60. Ivanov AA, Bulynina TM, Molokanov AG, et al. Demonstration of likelihood of the negative effect of physical protection during total proton irradiation of mice. *Aviakosm Ekolog Med*. 2015;49(4):26-30. (Russian).
61. Maks CJ, Wan XS, Ware JH, et al. Analysis of White Blood Cell Counts in Mice after Gamma- or Proton-Radiation Exposure. *Radiat Res*. 2011 Aug;176(2):170-6. DOI: 10.1667/RR2413.1.
62. Gueulette J, Slabbert JP, Böhm L, et al. Proton RBE for early intestinal tolerance in mice after fractionated irradiation. *Radiother Oncol*. 2001 Nov;61(2):177-84.
63. Ilyin LA, Rudny NM, Suvorov NN, Chernov GA. Indralin is an emergency radio protector. *Anti-radiation properties, pharmacology, mechanism of action, clinic*. Moscow. 1994. 436 p. (Russian).
64. Vasin MV. *Means of Prevention and Treatment of Radiation Injuries*. Moscow: VTSMK Protection. 2006. 340 p. (Russian).
65. Zherebin YuM, Bondarenko NA, Makan SYu, et al. Pharmacological properties of enomelanin pigments. *Reports of the Academy of Sciences of the Ukrainian SSR. Series 5*. 1984;(3):64-7. (Russian).
66. Zorina ZA, Poletaeva II. *Zoopsychology. Elementary thinking of animals: study guide*. Moscow: Aspect-Press. 2008. 320 p. (Russian).
67. Ivanov AA, Andrianova IE, Bulynina TM, et al. Pharmacological effects of melanin in irradiated mice. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2015;60(5):5-11. (Russian).
68. Ivanov AA, Abrosimova AN, Bulynina TM. Effects of the vaccine Grippol on resistance of mice after irradiation by protons. *Saratov. Nauch.-Med. Zh*. 2015;11(4):656-8. (Russian).
69. Ambesi-Impombato FS, Ivanov AA, Mancini A, et al. Effect of recombinant manganese superoxide dismutase (rMnSOD) on the hematologic status in mice irradiated by protons. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2014;59(6):5-11.
70. Lyakhova KN, Ivanov AA, Molokanov AG, et al. Effect of neuropeptide semax on the exploratory behavior reaction and strength of skeletal musculature of proton-irradiated mice. *Aviakosm Ekolog Med*. 2018;52(4):71-6. (Russian).

**For citation:** Ivanov AA, Bichkova TM, Nikitenko OV, Ushakov IB. Radiobiological Proton Effects. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2019;64(3):19-31. (Russian).

DOI: 10.12737/article\_5cf2306a3b26d6.36140627