

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ИНСТИТУТ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Бычкова Таисия Михайловна

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРОТОНОВ,
МОДИФИЦИРОВАННЫЕ СРЕДСТВАМИ ФИЗИЧЕСКОЙ И
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ

14.03.08 – авиационная, космическая и морская медицина
03.01.01. - радиобиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор А. А. Иванов
Научный консультант:
кандидат технических наук А.Г. Молоканов

Москва, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Протоны – основная часть космического излучения	11
1.2. Радиобиологические эффекты протонов	17
1.2.1. Радиобиологическое действие протонов на клеточном уровне	19
1.2.2. Радиобиологическое действие протонов на системном уровне	22
1.2.3. Радиобиологическое действие протонов на организменном уровне	24
1.2. Физическая радиационная защита.....	29
1.3.1. Взаимодействие протонов с веществом.....	29
1.3.2. Ядерные взаимодействия протонов в биологической ткани	31
1.4. Противолучевые средства потенциально эффективные при корпускулярном излучении	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
2.1 Источники ионизирующего излучения.....	42
2.2 Модификация терапевтического пучка протонов с энергией 171 МэВ с помощью гребенчатого фильтра	44
2.3. Модификация терапевтического пучка протонов с помощью элементов радиационной защиты МКС.....	47
2.4. Экспериментальные животные	48
2.5. Методы обследования животных	48
2.5.1. Методы оценки поведенческого статуса животных	48
2.5.2. Методы оценки иммуно-гематологического статуса	48
2.6. Лечебно-профилактические противолучевые средства	51
2.7. Статистическая обработка данных	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	53
3.1. Фоторегистрация прохождения пучка протонов через тело мыши	53
3.2. Процессы поражения органов кроветворения и иммунитета после протонного излучения с различным уровнем ЛПЭ	54
3.3. Восстановление органов кроветворения и иммунитета после протонного излучения с различным уровнем ЛПЭ	63
3.4. Влияние физической защиты на радиобиологические эффекты протонов.....	73
3.4.1. Модифицирующее действие гребенчатого фильтра в отношении радиобиологического эффекта протонов.....	73

3.4.2. Модификация радиобиологического эффекта терапевтического пучка протонов с помощью элементов радиационной защиты МКС	78
3.5. Исследование эффективности противолучевых средств при протонном излучении.....	86
3.5.1. Радиопротекторная активность вакцины «Гриппол» при введении до облучения	86
3.5.2. Результаты изучения противолучевых свойств меланина	88
3.5.2.1. Влияние меланина на течение радиационного поражения при однократном облучении в различных дозах	88
3.5.2.2. Лечебная эффективность меланина при фракционированном облучении.....	91
3.5.3. Лечебное действие рекомбинантной формы марганецсодержащей супероксиддисмутазы при протонном облучении.....	98
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ.....	106
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	113
ВЫВОДЫ.....	115
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	117

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Возрастание интереса к радиобиологическим исследованиям заряженных частиц обусловлено необходимостью обеспечения радиационной безопасности при освоении космического пространства, а также с расширяющимися возможностями использования протонов и ядер углерода в радиотерапии злокачественных новообразований. В настоящее время космическая радиация является одной из ключевых проблем на пути развития пилотируемой космонавтики при выходе за пределы орбиты Земли [144]. Ожидается, что в ближайшие десятилетия освоение космического пространства перейдет на новый уровень – человечество выйдет за пределы низкой околоземной орбиты [27]. Этот переход предполагает увеличение продолжительности космических миссий и повышение риска радиационного облучения, как от галактических, так и от солнечных космических лучей. Острое воздействие радиации после солнечных событий может стать причиной возможного срыва космической миссии [30, 167].

Обеспечение радиационной безопасности экипажей при длительных космических и особенно межпланетных полетах диктует необходимость разностороннего изучения биологических эффектов, обусловленных космическим излучением. Сложный состав космического излучения и широкий энергетический спектр входящих в него частиц предопределяет трудности адекватной оценки реальной радиационной опасности во время космического полета.

Протоны широкого энергетического спектра с большим диапазоном ЛПЭ являются основной компонентой галактического и солнечного космических излучений, а также радиационных поясов Земли (85-98%) [69]. Воздействие радиации во время космического полета может стать причиной как ранних, так и отдаленных эффектов поражения у космонавтов, как соматических, так и неврологических эффектов, что, в свою очередь, сделает космическую миссию невыполнимой [27, 158]. Воспроизвести влияние космического излучения в земных условиях в полной мере невозможно. Основным источником получения информации об опасности космического излучения для живых организмов до настоящего времени являются экспериментальные исследования на ускорителях заряженных частиц, позволяющие изучать влияние отдельных составляющих космического излучения. Проведено много исследований, однако, до сих пор остается не изученным ряд вопросов. Ввиду этого является актуальным исследование радиобиологических эффектов протонов с различной ЛПЭ.

В результате ядерных взаимодействий протонов с веществом ткани образуются вторичные нейтроны и γ -излучение, вклад в поглощенную дозу которых зависит от солнечной

активности и степени защищенности корабля [113]. Следует отметить, что оболочка космического корабля является сложной многокомпонентной структурой. Космический корабль оснащён кабельными сетями и всевозможным оборудованием, которое может так же модифицировать внешнее корпускулярное излучение [62]. Основная проблема космической радиобиологии состоит в создании фундаментальной основы обеспечения экипажам космических кораблей радиационной безопасности и защиту от потоков частиц космического излучения [14]. Это ставит перед исследователями радиобиологами конкретные задачи, связанные не только с обеспечением радиационной безопасности при околоземных (относительно кратковременных) космических полетах, но и при планируемом длительном космическом полете к Марсу [27, 28, 29]. На сегодняшний день не существует адекватного технического решения в вопросе радиационной защиты при полете на Марс [144]. Поскольку при межпланетных космических полетах радиационная обстановка в космосе существенно сложнее, необходимо совершенствовать как физическую, так и фармакологическую защиту, разрабатывать методы профилактики и лечения повреждений, вызываемых корпускулярными ионизирующими излучениями с различными значениями линейной передачи энергии. Во время космического полета осуществляется контроль уровня облучения с использованием физических методов дозиметрии, но из-за особенностей космического излучения и длительности облучения не всегда удается получить полную и объективную информацию о степени радиационной опасности для организма космонавта. Актуальным вопросом космической радиобиологии является понимание механизмов поражения биологических объектов, находящихся за элементами физической защиты при воздействии протонного излучения.

При изучении литературных источников становится очевидно, что большая часть исследований с применением противолучевых препаратов проводилась и проводится при облучении электромагнитным ионизирующим излучением (γ - и рентгеновскими лучами), хотя для космической радиобиологии актуальным является изучение противолучевых препаратов при воздействии корпускулярных излучений, в частности протонов, которые являются основным компонентом космического излучения.

Существующие противолучевые средства предназначены для применения непосредственно перед кратковременным острым облучением, либо в течение первых суток после радиационного воздействия [26]. Побочные реакции, сложность введения лекарственных препаратов, снижение или отсутствие эффекта при пролонгированном облучении в диапазоне средних и малых доз делает их непригодными, в частности, при оказании медицинской помощи в случаях длительного (хронического) облучения корпускулярным излучением с низкой мощностью дозы в условиях полета, что особенно актуально для космической медицины [50].

В связи с этим перед нами были поставлены задачи по изучению возможности защиты от действия протонных пучков с использованием физической и фармакологической защиты. Решение этих актуальных задач и будет способствовать повышению радиационной безопасности космонавтов во время космических полетов.

Цель и задачи исследования

Цель диссертационной работы – оценить биомедицинские эффекты протонов с различной ЛПЭ и способы их модификации применительно к решению задачи обеспечения радиационной безопасности космонавтов во время длительных полетов.

Для достижения поставленной цели были сформулированы **задачи** исследования:

- Создать экспериментальные условия для исследования действия протонов с различной ЛПЭ в диапазоне 0,49-1,6 кэВ/мкм in vivo при тотальном облучении.
- Исследовать зависимости доза-эффект протонов в расширенном пике Брэгга in vivo по показателям состояния центральных органов иммунитета и кроветворения.
- Оценить радиобиологический эффект протонов с энергией 171 МэВ, модифицированных элементами физической защиты космического корабля, по комплексу показателей функционального состояния системы кроветворения и центральной нервной системы.
- Определить эффективность использования известных противолучевых средств при облучении протонами.

Научная новизна исследования

На начало работы по данной теме в доступной нам литературе мы не встретили сообщений о влиянии тотального облучения протонами в модифицированном пике Брэгга на уровне целостного организма на состояние центральных органов кроветворения и иммунитета.

Для проведения экспериментов с тотальным облучением мышей в модифицированном пике Брэгга нами была сконструирована клетка из перфорированного термопластика, позволяющая облучать одновременно и изолированно друг от друга две мыши, находящиеся перпендикулярно по отношению к пучку, что позволяет протонам пройти поперек продольной оси тела животного. С помощью радиохромной пленки было показано интенсивное поглощение протонов в модифицированном пике Брэгга в теле мыши, что свидетельствует о корректности постановки эксперимента и доказывает равномерное облучение животных.

Нами показано, что в узком диапазоне изменения ЛПЭ от 0,49 до 1,6 кэВ/мкм наблюдается различие в биологическом эффекте протонов, при этом наиболее демонстративным показателем является число ядросодержащих клеток в костном мозге.

Нами впервые экспериментально показано, что при оценке радиобиологической эффективности протонов необходимо исследовать модифицирующее действие физической защиты космического корабля. В частности, было продемонстрировано, что использование физической преграды в виде изделия «Шторка защитная», в настоящее время используемая на РС МКС, и стеклянной пластины, имитирующей иллюминатор МКС и установленной на пути протонов с энергией 171 МэВ, увеличивает ЛПЭ протонов, что приводит к увеличению поглощенной дозы на 8% и усилению радиобиологического эффекта протонов.

Впервые была продемонстрирована противолучевая эффективность применения при протонном облучении водорастворимого меланина – биологически активной добавки к пище, рекомбинантной формы марганецсодержащей супероксиддисмутазы и вакцины «Гриппол».

Теоретическая и практическая значимость

Доказана взаимосвязь радиобиологической эффективности протонов и их линейной передачей энергии в узком диапазоне энергий, что необходимо учитывать при определении относительной биологической эффективности (ОБЭ) протонов. Экспериментально установлено, что показатель ОБЭ протонов является величиной, зависящей от ряда факторов. Полученные данные указывают на значение выбранного биологического показателя при определении величины ОБЭ.

Экспериментально подтверждено высказанное ранее предположение [182] о том, что физическая защита от корпускулярного излучения может явиться фактором, усиливающим радиобиологический эффект протонов космического излучения. Полученные данные о неэффективности физической защиты при корпускулярном излучении (резкое усиление радиобиологического эффекта при протонном облучении), указывают на необходимость проведения комплексных математических, физических (дозиметрических) и биологических исследований при проектировании радиационной защиты космических аппаратов. В таких экспериментах, по нашему мнению, следует испытать реальные элементы оболочки проектируемых космических кораблей на их способность защитить животных от корпускулярного излучения, в частности, протонов различных энергий и тяжёлых заряженных частиц, с учётом вторичного излучения.

Получены данные по радиопротекторной эффективности вакцины «Гриппол» при протонном облучении, которые демонстрируют целесообразность применения данной вакцины для контингентов групп риска облучения летальными дозами, в том числе и для космонавтов.

В ходе выполненных исследований обнаружены новые данные о противолучевых свойствах меланина, и получены доказательства его эффективности при применении внутрь

после кратковременного и многократного фракционированного облучения в летальных и не летальных дозах. Впервые получены данные по исследованию поведенческих реакций мышей в процессе применения раствора меланина в качестве лечебного препарата. Доказано, что приём меланина внутрь способствует более полному восстановлению ориентировочно-двигательных расстройств в период реконвалесценции после острого и фракционированного облучения, и данное обстоятельство важно, как для радиотерапии, так и космонавтики, т.к. прогнозируется неблагоприятное влияние космических лучей на ЦНС космонавтов при межпланетных космических полетах.

В эксперименте с препаратом γ MnSOD мы заменили внутрибрюшинный путь введения препарата на более приемлемый в медицинской практике (в частности космической медицины) подкожный путь введения. В результате была продемонстрирована возможность достижения позитивного эффекта как при рентгеновском облучении, так и при протонном, что открывает перспективы использования этого препарата в космической радиобиологии и медицине, а также для защиты здоровых тканей при осуществлении протонной терапии онкологических заболеваний.

Разработанные в данной работе экспериментальные условия для изучения влияния модифицированных протонов позволят экспериментаторам подойти к решению ряда фундаментальных проблем радиобиологии тяжелых ионов и практических задач космической радиобиологии, в том числе разработке противолучевых препаратов и совершенствованию радиационной безопасности космонавтов во время длительных космических полётов.

Положения, выносимые на защиту

1. Снижение энергии протонов со 171 МэВ до 30 МэВ приводит к увеличению их ЛПЭ и усилению радиобиологических эффектов.
2. Экспериментальное использование противорадиационной физической защиты мышей в виде комплекса из стекла, имитирующего иллюминатор космического аппарата, и салфеток, используемых на РС МКС в качестве дополнительной защиты от ионизирующего излучения «Шторка защитная» при облучении протонами с энергией 171 МэВ, приводит к снижению энергии пучка протонов, росту ЛПЭ и дозы облучения, при этом радиобиологические эффекты поражения органов кроветворения и иммунитета более выражены.
3. Традиционные противолучевые препараты в виде антиоксидантов: меланина и γ MnSOD, а также вакцина «Гриппол» оказывают лечебно-профилактическое действие при облучении протонами.

Внедрение в практику

Материалы диссертации были использованы при подготовке Методических рекомендаций по использованию биологически активной добавки к пище, содержащей меланин, в качестве средства повышения радиорезистентности. Методические рекомендации ФМБА России МР 12.79–15 Москва 2015 утверждены и введены в действие Федеральным медико-биологическим агентством 1 декабря 2015 года.

Получен патент №2551619 «Способ профилактики и лечения острой лучевой болезни в эксперименте», в соавторстве с Котенко К.В., Бушмановым А.Ю., Ивановым А.А., Абросимовой А.Н., Андриановой И.Е., Ворожцовой С.В., Дорожкиной О.В., Северюхиным Ю.С., Ставраковой Н.М.

Апробация диссертации

Основные результаты работы были представлены и обсуждены на XIV Конференции по космической биологии и авиакосмической медицине с международным участием, посвященной 50-летию создания ИМБП (Москва, 2013), Международной научной конференции «Радиобиологические основы лучевой терапии опухолей» памяти А.С. Саенко (Москва, 2013), XIII Конференции молодых ученых, специалистов и студентов, посвященной 50-летию полёта первого врача-космонавта Егорова Б.Б (Москва, 2014), VII Съезде по радиационным исследованиям (Москва, 2014), 40th Scientific Assembly COSPAR (Moscow, 2014), XIV Конференции молодых ученых, специалистов и студентов, посвященной 65-летию со дня рождения врача-космонавта Морукова Б.В (Москва, 2015), Российской научной конференции с международным участием «Медико-биологические проблемы токсикологии и радиобиологии» (Санкт-Петербург, 2015), Восьмом Международном Аэрокосмическом Конгрессе, посвященном 50-летию первого выхода человека в открытый космос и 70-летию ООН (Москва, 2015), Всероссийской научной конференции студентов и молодых специалистов "Актуальные вопросы современной медицины: взгляд молодого специалиста» (Рязань, 2015), XI Международной научно-практической конференции «Пилотируемые полеты в космос» (Звездный городок, 2015), Конференции молодых ученых, посвященной памяти академика А.Ф. Цыба «Перспективные направления онкологии и радиобиологии» (Обнинск, 2015), Международной конференции «Современные направления в радиобиологии и физиологии», посвященной 60-летию ОИЯИ (Дубна, 2016), Конференции молодых ученых на международном научно-практическом форуме «Ядерные технологии на страже здоровья» (Москва, 2016), XVI Конференции по космической биологии и авиакосмической медицине с международным участием (Москва, 2016), Первой всероссийской научной конференции «Токсикология и радиобиология XXI века» (Санкт-

Петербург, 2017), Международной конференции «Радиобиологические основы лучевой терапии» (Обнинск, 2017), XXIII съезде Физиологического общества им. И. П. Павлова (Воронеж, 2017), XVI Конференции молодых учёных, специалистов и студентов, посвящённой 60-летию с момента запуска первого искусственного спутника Земли (Москва, 2017), Школе-конференции молодых учёных с международным участием «Ильинские чтения» (Москва, 2018), 63rd Annual Meeting of the Health Physics Society (Cleveland, USA, 2018), XVII Конференции по космической биологии и авиакосмической медицине с международным участием (Москва, 2018), Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Радиобиология. От клетки до биосферы» (Челябинск, 2019).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 7 статей в рецензируемых изданиях из перечня ВАК РФ и баз данных Scopus/Web of Science. Получен патент на изобретение, разработаны методические рекомендации. Материалы диссертационной работы были доложены на российских и международных конференциях и опубликованы в 21 сборнике материалов конференций.

Структура и объем работы

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, использованных в работе, изложения полученных результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и библиографического списка. Работа изложена на 134 страницах печатного текста, включает 21 таблицу, 30 рисунков и список литературы из 217 источников, из которых 95 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Протоны – основная часть космического излучения

Протон – стабильная элементарная частица, имеющая единичный положительный электрический заряд и массу в 1836 раз большую массы покоя электрона. Протон представляет собой ядро атома водорода – протия. Протоны входят в состав всех ядер атомов химических элементов, число протонов в ядре соответствует порядковому номеру атома в периодической системе химических элементов Д.И. Менделеева [76]. Многие известные свойства протона систематически изложены в публикации Particle Data Group [43, 91, 118, 194].

Согласно классификации элементарных частиц, протон относится к адронам и он входит в класс барионов (протон – самый легкий из барионов). Протон состоит из трёх кварков (один d-кварк и два u-кварка) [7, 109]. В физике протон обозначается p (или p⁺). Химическое обозначение протона – положительного иона водорода – H⁺. Массу протона можно выразить в разных единицах (согласно данным CODATA 2014 года www.codata.org): 938,27 МэВ; 1,007 а. е. м.; $1,672 \cdot 10^{-27}$ кг; 1836,15 массы электрона.

Протон участвует в сильных взаимодействиях, а также во всех других фундаментальных взаимодействиях: электромагнитном, слабом и гравитационном [110, 112, 118].

Протоны являются основной компонентой космических лучей. По современным представлениям различают три вида космической радиации: галактические космические лучи, солнечные космические лучи и радиационные пояса Земли. Наиболее высокоэнергетичная составляющая корпускулярного потока в межпланетном пространстве – галактические космические лучи (ГКЛ) – представляют собой ускоренные до высокой энергии ядра химических элементов, среди которых 87% протонов (ядер водорода), 12% α-частиц (ядра гелия) и примерно 1% более тяжелых ядер с атомным номером (Z) до 92 (уран). ГКЛ по своей проникающей способности превосходят все другие виды радиации, кроме нейтрино. Для полного поглощения ГКЛ потребовался бы свинцовый экран толщиной около 15 м. Энергия частиц ГКЛ составляет в среднем около 10^{10} эВ, энергия отдельных частиц может достигать 10^{20} эВ и выше [90].

Наибольшую радиационную опасность для человека в условиях космического полета представляют протоны СКЛ [165], свободно проникающие через оболочку обычных отсеков современных космических кораблей. СКЛ состоят из протонов и частиц с $Z \geq 2$ с энергиями до 10 ГэВ на нуклон. Основным источником СКЛ – солнечные протонные события [19]. Солнечные вспышки представляют собой коронарный выброс массы, производятся солнечными магнитными бурями, непредсказуемы, быстро развиваются и могут длиться в течение нескольких часов и даже дней. Спектр энергии протонов отличается от одного события к другому, в результате чего сложно определить распределение поглощенной дозы [165].

Для некоторых солнечных вспышек эквивалентная доза облучения космонавта СКЛ составляет сотни, а для многих десятки бэр за вспышку. Если при полете за пределами магнитосферы Земли космонавт будет находиться во время солнечной протонной вспышки вне космического корабля, то доза облучения, обусловленная этим источником радиации, может во многих случаях превысить летальную дозу. Конструкция же отсеков пилотируемого космического корабля несколько ослабляет поток СКЛ. Однако в обычных отсеках космического корабля (бытовых, рабочих и лабораторных) это ослабление невелико, и СКЛ могут представлять серьезную опасность для здоровья космонавтов [34].

Авторами [165] были смоделированы три исторически крупных протонных события и определены теоретические дозы и мощности дозы для астронавтов при внекорабельной деятельности во время солнечных протонных событий (СПС). Дозы облучения, оцененные для кроветворных органов, варьировались от 37 сГр до 1,38 Гр для астронавтов во время выхода в открытый космос, в то время как для кожи – 32 Гр. Эти дозы приведут к симптомам ранней заболеваемости – легкой степени острого лучевого поражения, что может вызвать ухудшение работоспособности экипажа и помешать успеху миссии.

Радиационный пояс Земли (РПЗ) – это потоки заряженных частиц (протонов и электронов), захваченных геомагнитным полем и образующих области повышенной радиации. РПЗ является основным постоянным источником радиационной опасности при полетах в околоземном пространстве.

Рассматривают две области РПЗ: внутреннюю и внешнюю [18, 69]. Протоны внутреннего радиационного пояса достигают энергий до 800 МэВ, электроны во внешнем РПЗ имеют энергию 40 кэВ – 1 МэВ. Внутренний радиационный пояс Земли располагается на высоте 1000 км. Значительно меньшая высота (около 200 км) отмечается вблизи Южно-Атлантической аномалии, где магнитное поле сильно ослаблено. Потоки протонов РПЗ в области аномалии составляют основной источник радиационной опасности при космических полетах по орбитам, расположенным даже ниже РПЗ [3].

В центральной зоне внутренней области РПЗ, находящейся на расстоянии 2000-3000 км от поверхности Земли, мощность эквивалентной дозы облучения протонами РПЗ достигает нескольких Гр в сутки, так что радиационная опасность в этой области пространства исключительно большая. Полет пилотируемых космических кораблей в центральной зоне внутренней области РПЗ невозможен без специальной защиты космонавтов. Вместе с тем кратковременное пересечение РПЗ вполне допустимо, особенно если трасса полета не проходит через его центральную зону или если экипаж в момент пересечения пояса находится в более защищенном отсеке.

Вклад протонов в составе ГКЛ в эквивалентную дозу составляет от 10% до 42% по расчётам дозиметрического контроля на Российском сегменте МКС.

Таблица 1. Усредненные параметры потоков частиц высокой энергии в околоземном космическом пространстве [79]

Вид излучения	Состав	Энергия частиц, МэВ	Плотность потока, $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$
Радиационные пояса Земли	Протоны	1-30	$3 \cdot 10^{11}$
	Электроны	>30 0,1-1,0 >1,0	$2 \cdot 10^8$ $1 \cdot 10^{12}$ $1 \cdot 10^{10}$
Солнечные космические лучи	Протоны	$1 \cdot 10^4$	$10^7 \cdot 10^8$
Галактические космические лучи	Протоны Ядра гелия Более тяжелые ядра	$10^2 \cdot 10^{15}$ (для всех групп ядер)	$1,5 \cdot 10^4$ $1 \cdot 10^3$ $1,2 \cdot 10^1$

Основную долю частиц галактических космических лучей по потоку составляют протоны – порядка 90 % [Таблица 1; 138, 171, 214]. Рассчитано, что в течение полета к Марсу каждая клетка организма космонавта может поражаться протонами каждые три дня и ТЗЧ приблизительно раз в месяц [140].

На рисунке 1 показаны энергетические спектры космических частиц различной природы с кинетической энергией от 10 до 10^6 МэВ/нуклон [95]. Видно, что основную долю космических частиц составляют протоны, затем следуют ядра гелия, доля остальных ядер невелика.

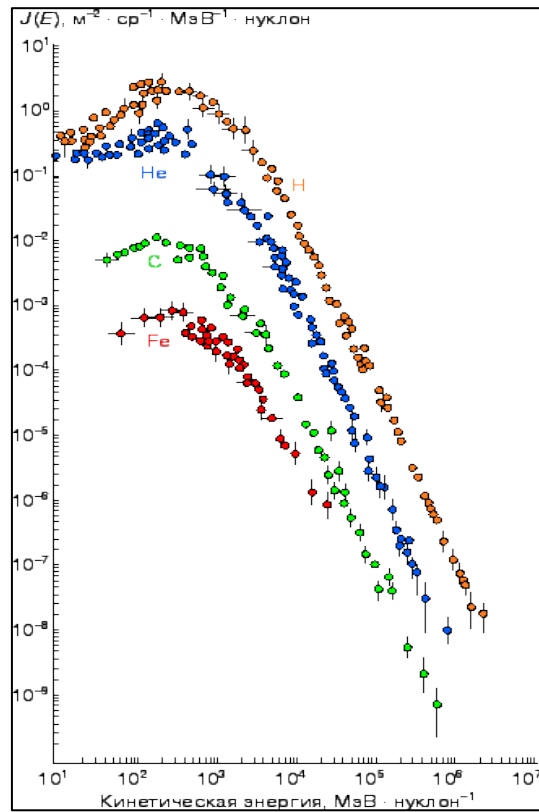


Рисунок 1. Дифференциальные спектры галактических космических лучей: протоны (H), ядра гелия (He), углерода (C) и железа (Fe) [95]

Таким образом, протонное излучение – основная составная часть космического излучения. В земных условиях в ускорителях заряженных частиц получают потоки протонов различных энергий. Будучи положительно заряженными частицами, протоны при прохождении через вещество взаимодействуют с отрицательно заряженными электронами атомов и вырывают их с электронных оболочек. В результате этого происходит ионизация атомов вещества (ионизирующее излучение). Плотность ионизации протонами резко возрастает в конце пробега частиц. Благодаря этому свойству протоны удобно использовать в лучевой терапии (протонная терапия) для избирательного облучения глубоко залегающих опухолей (например, гипофиза) [143, 170, 172, 173]. Протоны высоких энергий имеют малый угол рассеяния, что также способствует локализации дозы в одном месте. Протоны высоких энергий, преодолевающие кулоновское отталкивание, попадают в ядро и вызывают различные ядерные реакции, в результате которых образуются вторичные излучения – нейтронное, γ -излучение и др. В связи с этим при облучении вещества протонами высоких энергий ионизация среды происходит не только за счет первичных протонов, но и за счет вторичных излучений.

На Земле источниками интенсивного протонного излучения являются ускорители заряженных частиц [31, 63]. При помощи ускорителей получены пучки протонов с энергией в

десятки миллиардов электрон-вольт. Еще большие энергии протонного излучения встречаются в космическом пространстве.

Способность протонов проникать через слои вещества зависит от энергии пучка протонов и свойств вещества. Протоны с энергией 10 МэВ способны пройти слой воздуха (при нормальной температуре и давлении) около 1 м. При увеличении энергии протонов до 1000 МэВ толщина слоя возрастает почти до 3 км.

Для защиты от протонного излучения используют вещества, эффективно тормозящие протоны и образующие относительно мало вторичных частиц при ядерных взаимодействиях (графит, бетон, алюминий и др.).

В тяжелых веществах протоны задерживаются более тонкими слоями. Так, в свинце поток протонов с энергией 10 МэВ проходит около 1/3 мм, а с энергией 1000 МэВ – несколько менее 60 см. Протонное излучение с энергией выше 100 МэВ способно проникать в тело человека на глубину до 10 см и более. Проникающая способность и биологическое действие протонного излучения с энергией в сотни мегаэлектронвольт при остром облучении в общем аналогично действию рентгеновского и γ -излучений.

Вместе с тем биологическое действие протонов таких энергий имеет некоторые особенности по сравнению с рентгеновским и γ -излучением (менее отчетливая реакция со стороны органов кроветворения в ранние сроки, большая выраженность геморрагического синдрома и др.). При сравнительно небольших энергиях биологическая эффективность протонов выше, чем рентгеновского и γ -излучений. Это связано с более высокой ионизирующей способностью таких протонов. В отличие от рентгеновского и γ -излучений, протоны, проходя через биологическую ткань, способны производить ядерные реакции. В результате ядерных реакций образуются вторичные частицы, обладающие высокой ионизирующей способностью, что приводит к поглощению в малом объеме ткани относительно большого количества энергии и к соответствующим локальным поражениям ткани. Этим обстоятельством может быть обусловлено большее бластомогенное действие протонов по сравнению с рентгеновскими и γ -излучениями [30].

Для объяснения особенностей биологического действия протонов необходимо рассматривать физическое явление получившее название – пик Брэгга [114].

При прохождении через вещество тяжелые заряженные частицы теряют свою кинетическую энергию главным образом из-за ионизации атомов среды. У протонов глубинное распределение поглощенной дозы имеет форму кривой Брэгга, которая определяется возрастанием ионизирующей способности с глубиной проникновения частиц в среду. В начальной части кривой Брэгга доза медленно возрастает с глубиной, и затем следует резкий

дозный максимум – пик Брэгга, после которого поглощенная доза быстро падает до нуля. Протоны имеют прямолинейную траекторию. Ионизационные потери протонов возрастают с уменьшением их скорости. Поэтому на пути к глубинному очагу протоны наносят меньшее поражение, чем в конце пробега в пике Брэгга. Это выгодно отличает протонные пучки от пучка фотонов, которые поглощаются тканями по экспоненциальному закону. Регулируя энергию, можно «подогнать» пик Брэгга к объему облучаемой мишени. Узкий максимум дозой зависимости делает возможным облучение чрезвычайно малых объемов с дозой в 3-4 раза превышающей дозу на входе в тело. Глубина возникновения пика Брэгга зависит от энергии частиц, а это в свою очередь позволяет, регулируя данный параметр, достигать максимума ионизации в требуемой зоне, практически не повреждая ткани, расположенные за пределами пучка. Путем суперпозиции кривых Брэгга при варьировании энергии частиц в пучке, создается участок относительно постоянной дозы, так называемая модифицированная кривая Брэгга. Формирование модифицированной кривой Брэгга необходимо для того, чтобы равномерно облучить весь объем протяженной мишени с необходимой дозой. При этом доза за пиком так же быстро падает до нуля, доза на входе несколько возрастает по сравнению с немодулированным пучком, тем не менее, доза в расширенном пике по-прежнему превышает дозу на входе. На рисунке 2 показаны глубинные дозные распределения для пучков протонов в сравнении с дозными распределениями для электронов (22 МэВ), тормозного излучения (22 МэВ), нейтронов (14 МэВ), рентгеновского излучения (200 кэВ) и γ -излучения от источника ^{60}Co [64].

Протоны наиболее часто применяются для лечения опухолей, расположенных вблизи критических тканей. Протонная лучевая терапия необходимо тогда, когда другие методы лечения, такие как хирургия и обычная электронно-фотонная терапия, подвергают существенному риску сохранение функции облучаемого органа [103].

Особую значимость пик Брэгга имеет для понимания особенностей медико-биологических эффектов корпускулярного излучения после прохождения через физическую защиту и тело космонавтов. Совершенно очевидно, что значительная часть заряженных частиц будет создавать в теле космонавта очаги повышенного облучения на различной глубине, в том числе в критических органах. Кроме того, следует отметить, что при корпускулярном облучении создаются условия для неравномерного облучения, что существенно меняет радиобиологический эффект.



Рисунок 2. Глубинное распределение поглощенной дозы для протонов, электронов, тормозного излучения, нейтронов, γ -квантов и рентгеновского излучения [64]

Исходя из представленных данных следует отметить, что особую активность представляет изучение биомедицинских свойств протонов с энергией 10^2 - 10^3 МэВ – составляющие существенную долю энергетического спектра космических лучей. Особенности биологического действия протонов будут рассмотрены в следующей главе.

1.2. Радиобиологические эффекты протонов

Освоение космоса связано с высокой вероятностью нежелательных воздействий космических лучей на здоровье космонавтов. Для защиты космонавтов от неблагоприятных радиационных факторов космического пространства и космического полета необходимо изучить их биологическую эффективность на млекопитающих. Это изучение сложно осуществить в земных условиях и на орбите Земли и практически невозможным за её пределами. Основным источником получения сведений об опасности корпускулярного космического излучения для живых организмов является проведение экспериментальных исследований на ускорителях заряженных частиц, позволяющие изучать влияние отдельных составляющих космического излучения [61]. Нам представляется чрезвычайно важной попытка экспериментально оценить биомедицинские эффекты корпускулярных излучений после прохождения их через элементы защиты [123], поскольку именно в этих условиях моделируются эффекты на космическом корабле.

Актуальной проблемой космической радиобиологии является исследование медико-биологических свойств ускоренных заряженных частиц, обладающих, как известно, высоким радиобиологическим эффектом за счет высокой ЛПЭ. Исследования радиобиологических последствий воздействия тяжелых заряженных частиц является актуальной фундаментальной проблемой радиобиологии и такой ее области как космическая радиобиология.

Поскольку протоны широкого энергетического спектра и соответственно с большим диапазоном ЛПЭ являются основной составляющей частью космического излучения, то исследованию их биомедицинских эффектов уделялось большое внимание специалистов в области космической радиобиологии [30, 107].

Для заряженных частиц биологическая эффективность прямо связана с линейной передачей энергии данного типа частиц (средняя потеря энергии частицей на единицу длины пробега частицы в ткани). Исследование биомедицинских эффектов протонов в широком диапазоне энергий представляет интерес в радиотерапии и радиационной оценке риска [186]. Как правило, протоны имеют низкую ЛПЭ (т.е., редкоионизирующие, как γ -лучи), пока они не приближаются к концу их пробега. Таким образом, в момент прохождения кожного покрова для частицы протонов с энергиями 65 – 260 МэВ, обычно используемые в терапии, ЛПЭ находится в пределах 0,4 – 1,0 кэВ/мкм. В конце пробега ЛПЭ таких протонов приближается к ~ 100 кэВ/мкм [200], что сопоставимо с ЛПЭ тяжелых частиц.

Воздействие радиации во время космического полета способно немедленно повлиять на вероятность успешного завершения миссии [30, 60, 158] или может в дальнейшем привести к развитию отдаленных последствий радиационного поражения у космонавтов [165]. Избежать воздействия космических лучей невозможно. Таким образом, охрана здоровья является первостепенной проблемой при воздействии на космонавтов ГКЛ и СКЛ, протоны в которых составляют основной компонент, особенно во время СПС. Понимание радиобиологических эффектов протонов является принципиальным моментом как для оценки неблагоприятного действия радиации при орбитальных и межпланетных полетах, так и при протонной лучевой терапии. Физические характеристики протонных пучков были в большой степени исследованы, и особое внимание уделялось выявлению взаимосвязи вопросов биологического ответа на протонное воздействие и его физических характеристик. Однако ряд вопросов остается неизученным.

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 γ -излучения (рентгеновского излучения) к поглощенной дозе

рассматриваемого излучения, вызывающей при данных условиях такой же биологический эффект [39, 122, 153]. ОБЭ зависит от линейной передачи энергии, величины и мощности дозы, наличия или отсутствия кислорода [191]. Известно, что при фракционированном протонном облучении ОБЭ увеличивается. Протон при прохождении через вещество ионизирует почти каждый атом, встречающийся ему на пути, поэтому повреждения протонами приводит к возникновению тяжелых повреждений [11].

Литературные данные показывают, что ОБЭ протонов по отношению к γ -излучению ^{60}Co составляет от 0,8 до 1,5, и зависит от уровня дозы, энергии протонов (50-660 МэВ), биологического объекта, а также от протяженности модифицированного пика Брэгга [108, 129].

Оценка доли выживших опухолевых клеток после облучения имеет решающее значение для определения радиотерапевтической эффективности.

Облучение может привести к отсутствию репликации и/или гибели клеток с помощью ряда механизмов: потеря репродуктивной способности клеток, инициирование пути апоптоза, индуцирование остановки клеточного цикла и/или наступление преждевременного старения [153], функциональным нарушениям в ЦНС [106, 193] – большинство этих процессов были исследованы при облучении протонами. Много работ по изучению радиобиологического действия протонов выполнено в экспериментах на клеточном уровне.

1.2.1. Радиобиологическое действие протонов на клеточном уровне

В доступной литературе имеются сообщения об исследованиях биомедицинских эффектов протонов в области пика Брэгга на клеточном уровне [25]. 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 γ -излучению и определена на уровне 1, в то время как в области пика Брэгга составила 1,25. В работе [22] определена относительная биологическая эффективность терапевтического пучка протонов с энергией 150 МэВ при проведении фракционированного облучения клеток мышинных фибробластов СЗН10Т1/2 в максимально приближенных условиях при проведении радиотерапии 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 γ -излучению ^{60}Co определённая

по ЛД₉₀, ЛД₅₀ и ЛД₁₀ равна 1,0, это означает, что облучение протонами с энергией 150 МэВ и γ -излучение не отличаются по эффективности летального воздействия на изучаемые клетки в случае фракционированного облучения.

В статье Н. Paganetti [190], автор определял ОБЭ в водном фантоме и костной ткани, помещенной в воду, в разных точках протонного пучка с энергией 160 МэВ в области модифицированного пика Брэгга с учетом вклада энергии вторичных частиц. Результаты показали, что вклад вторичных частиц составил примерно 10% от общей дозы излучения. Было обнаружено, что в пике Брэгга, где основной вклад в дозу определяется протонами, ОБЭ составила 1,3, в то время как при вкладе вторичных частиц ОБЭ равна 1,2, вторичные частицы вызывают уменьшение ОБЭ на 8% при дозе 2 Гр.

В исследовании группы авторов [211] клетки китайского хомячка подвергались воздействию модулированных пучков протонов с энергией 65 МэВ и для сравнения γ -излучение с источником ¹³⁷Cs. Исследователи облучали в 4 различных точках: 2 мм на входе, и 10, 18, 23 мм глубиной 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 10 и 18 мм. Результаты показали, что значения 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 γ -облучения, тогда как по мере увеличения глубины и, следовательно, снижения энергии протонов, происходит увеличение ОБЭ, достигающую максимума на глубине 23 мм.

Calugaru V. et al. [136] подвергали клетки HeLa облучению протонами с энергиями 201 МэВ и 76 МэВ и определили значения ОБЭ в середине расширенного пика Брэгга равную 1 и 1,066, соответственно, при сравнении с γ -лучами ¹³⁷Cs, получив ОБЭ 1,070 и 1,141, соответственно, при сравнении с γ -лучами ⁶⁰Co. Энергия ⁶⁰Co в два раза выше, чем ¹³⁷Cs [166] (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 [130]. 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 [204].

Облучение протонами вызывает апоптоз в раковых клетках *in vitro*, при этом в исследованиях продемонстрирован повышенный уровень апоптоза после протонного облучения в сравнении с фотонным. Gerelchuluun A. et al. [150] заметили, что для лейкемической линии клеток MOLT4 облучение протонами с энергией 200 МэВ в расширенном пике Брэгга со средней

ЛПЭ 2,2 кэВ/мкм через 20 часов после воздействия привело к индукции апоптоза в два раза более выраженному, чем после 10 МэВ жесткого рентгеновского облучения в тех же дозах.

C. Di Pietro с коллегами [142] обнаружили, что через 48 ч после облучения фотонами клеток рака простаты человека (PC-3) происходит увеличение апоптотических клеток лишь на 4% даже в случае дозы в 20 Гр. Однако облучение протонами с энергией 26,7 МэВ уже через 8 ч после облучения в тех же дозах 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%. Во всех случаях 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 γ -лучами в аналогичных дозах было описано в работе Green L.M. et al. [155].

Группа авторов [201] проводила исследование апоптоза клеток меланомы человека (HTB140). Облучение проводили пучками протонов с энергией 62 МэВ и γ -квантами ^{60}Co . После облучения γ -квантами ^{60}Co в дозах 8-24 Гр существенной индукции апоптоза клеток не наблюдалось, однако, было установлено, что после воздействия протонов в тех же дозах радиационно-индуцированный апоптоз был значительно выше через 6 и 48 часов после облучения, достигая 25% после облучения протонами в дозе 16 Гр.

В целом, по приведенным результатам прослеживается определённая связь между индукцией апоптоза клеток и типом излучения, так как после облучения протонами выход апоптотических клеток выше, однако, данная область заслуживает дальнейшего изучения, так как разные виды излучения могут вызывать активацию апоптоза посредством включения различных ферментов [142, 177, 185]. Хорошо известно, что регулирование клеточного цикла является одним из ключевых факторов, определяющих чувствительность к ионизирующему излучению [195]. Н. Moertel et al. [184] сравнивали влияния протонов с достаточно высокими значениями ЛПЭ (5,7 и 7,0 МэВ) с рентгеновскими лучами с энергией 120 кэВ (7,27 и 6.23 кэВ/мкм) на здоровые клетки (фибробласты хомячков) и раковые клетки (глиобластома человека). Они отметили, что облучение протонами вызвало более продолжительную остановку фазы G2 клеточного цикла. Через 72 часа после облучения в дозе 1- Гр ОБЭ составила 1,57. Похожие результаты описаны в работе Antocchia A. et al. [125], в которой фибробласты человека облучали протонами с энергией 0,8 МэВ с ЛПЭ 28,5 кэВ/нм. Воздействие протонами вызвало заметно большее накопление клеток в фазе G2 по сравнению с облучением рентгеновскими лучами с энергией 250 кэВ. Кроме того, было показано, что пропорция клеток фибробластов, остающихся в G2 фазе после протонного облучения, уменьшалась медленнее (2,7% через 8 ч,

2,4% через 32 часа) по сравнению с клетками в фазе G2 после воздействия рентгеновскими лучами (1,6% через 8 ч, 0,9% через 24 ч). Напротив, Green L.M. et al. [154] не наблюдали существенных различий в G1/G2 распределениях как для протонов с низкой ЛПЭ с энергией 222 МэВ, так и для облучения рентгеновскими лучами при исследовании на клетках щитовидной железы крысы.

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 и достоверно увеличивается эффективность 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.

1.2.2. 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 [141]. Изучение радиобиологического действия протонов на системном уровне проводится в рамках лучевой терапии опухолей для определения наилучшего варианта лечения [139, 190, 205]. 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 [139]. Радиобиологический ответ трансформированных и здоровых клеток различен [122], 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 изучения моделирования протонным облучением многомасштабных взаимодействий между опухолями и тканями пациента [153].

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 γ -лучами [151, 156, 189, 206, 215]. В то же время, сложилось мнение, что ОБЭ протонов зависит от положения и глубины проникновения [128, 133, 136]. ОБЭ не является постоянной величиной и зависит от многих факторов, таких как энергия пучка, доза облучения, глубина проникновения, качество излучения, и структуры, сквозь которые проходит пучок [175, 192, 217].

Для терапевтических пучков протонов (65-260 МэВ) при различных дозах ОБЭ находится в пределах 1,1-1,2 в центре расширенного пика Брэгга [151, 162, 189]. Эти значения были получены главным образом исследованиями клеточной гибели, клоногенной выживаемости и значения LD_{50} .

В работе [213] 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, линейная передача энергии и ОБЭ наоборот увеличиваются. Giovannini G. et al. [152] 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. Gerweck L.E. и Kozin S.V. [151] 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 значениях 1,1-1,6 с тенденцией увеличения ОБЭ в зависимости от глубины проникновения излучения. 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 [191]. Также автором [191] показано, что при облучении протонами на входе величина ОБЭ равно 1,1, примерно 1,15 в центре пика, 1,35 – на краю, и 1,7 на спаде расширенного пика Брэгга. В статьях [145, 189] 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 [183].

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 [102] 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 суток не вызывает морфологических изменений в структуре слоев сетчатки. Однако авторы наблюдали разрывы ДНК, которые полностью репарировались за 10-15 часов 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 молекулярном, клеточном, биохимическом и поведенческом уровнях [30, 120, 121, 193]. Ранние изменения в ЦНС касаются передачи сигналов, ионной регуляции и синаптического взаимодействия. 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 [12]. 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, головокружения, 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 острой лучевой болезни 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 [11].

Таким образом, величина ОБЭ протонов при исследовании на системном уровне варьируется 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 глубины проникновения излучений в биологические ткани, необходимо изучение особенности действия протонного излучения на организменном уровне, с учетом межсистемных взаимодействий.

1.2.3. 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 [38]. В исследовании на собаках [39], облученных протонами с энергиями

126, 240 и 510 МэВ показано, что развиваются реакции, схожие с действием рентгеновского и γ -излучения. 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 [2]. Схожие результаты наблюдались и в экспериментах на обезьянах после облучения протонами с энергиями до 730 МэВ [210]. Важным отличием протонов от γ -излучения является более значительное подавление костномозгового кроветворения, в частности эритропоэтического ростка, изменение белкового состава и холинэстеразной активности сыворотки крови [107]. 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 представлялся преимущественно зрелыми клетками белого ростка и единичными нормобластами. ОБЭ протонов с энергией 120 МэВ был равен 1. Несколько иная картина наблюдалась при облучении мелких лабораторных животных протонами и γ -лучами [96]. У крыс после γ -облучения наблюдалась более выраженная степень максимальной аплазии кроветворной ткани, а восстановление числа кариоцитов костного мозга происходило интенсивнее. Автор [96] предполагает, что данные различия между мелкими и крупными лабораторными животными проистекают 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 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 направлена на изучение характера общей реакции организма и развитие изменений в критических органах и тканях, вызванных воздействием протонов [94]. 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. Стоит отметить, что детально изучены частота хромосомных aberrаций и изменения митотического индекса клеток костного мозга крыс и мышей при облучении протонами 50, 126, 660 МэВ и γ -излучения ^{60}Co [24, 119]. В представленных исследованиях было показано, что воздействие, как протонов, так и γ -лучей 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 равна 1,06 – 0,78. Близкие количественные отношения в эффектах наблюдалось и при исследовании в клетках эпителия роговицы и тонкого кишечника [20, 67]. В.М. Мастрюкова и А.Д. Стржижовский [67] сравнивали интенсивность восстановления митотической активности эпителия роговицы после воздействия протонов и γ -лучей, и определили значения ОБЭ протонов в этих тканях, составившие 1,2 и 2 для доз 7 и 2 Гр, соответственно. В эксперименте на мышах, облученных протонами [216], показано, что мощность дозы, фракционирование и энергия протонов не имели значимого влияния на снижение количества лимфоцитов и лейкоцитов крови. Животных облучали протонами с энергией 51,24 МэВ в дозе 2 Гр и мощностью дозы 0,05-0,07 Гр/мин, протонами с энергией 1 ГэВ в дозах 0,1, 0,2, 0,5, 1,0, 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 дозах до 2 Гр через 24 часа после воздействия радиации [216]. В то время, как эксперименты, проведенные на хорьках [203], свидетельствуют о том, что через 3 часа после облучения протонами с энергией 155 МэВ в дозах 0,75-2 Гр число лейкоцитов существенно снизилось при мощности дозы облучения 0,5 Гр/мин, при сравнении с облучением с мощностью дозы 0,5 Гр/час. Для сравнения было проведено облучение γ -квантами ^{60}Co . Полученное значение ОБЭ было значительно выше 1 и составляло 2,15 и 4,02 для протонов в дозе 0,75 Гр с низкой мощностью дозы (0,5 Гр/час) и высокой (0,5 Гр/мин), соответственно. Через 48 часов после облучения было показано, что воздействие протонами с мощностью дозы 0,5 Гр/мин привело к более выраженному снижению числа лейкоцитов, чем γ -излучение с той же мощностью дозы. При низкой мощности дозы (0,5 Гр/час) существенных различий между γ -квантами и протонами не установлено. Значения ОБЭ варьировались от 1,60 до 1,19 в дозе 0,75 Гр и 1,04-0,77 в дозе 2 Гр для протонов с высокой и низкой мощностью дозы, соответственно.

Коллектив авторов [202] провели исследование хромосомных нарушений на мышах, облученных протонным пучком с энергией 100 МэВ в дозах 0,5 и 1,0 Гр, с мощностью дозы 5 мГр/мин или 10 мГр/мин и γ -лучами ^{137}Cs в дозе 1,0 Гр при мощности дозы 10 мГр/мин. Значения ОБЭ варьировались от 1,16 до 1,5 в зависимости от времени исследования после облучения. Авторы предположили, что облучение 100 МэВ протонами в дозах 0,5 или 1 Гр способствует индуцированию геномной нестабильности в клетках.

В работах [157, 196] мышей C57BL6 подвергали тотальному облучению протонами с энергией 250 МэВ в дозах 0,5; 1,5 и 3,0 Гр с мощностью дозы 10 мГр/мин и 0,8 Гр/мин. Для сравнения было проведено облучение γ -лучами ^{60}Co . Через 4 дня после воздействия наблюдалось

дозозависимое снижение числа лейкоцитов, 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, гематокрита были снижены в зависимости от дозы, в то время как количество тромбоциты было лишь немного снижено. Данные показывают, что изменения в крови и селезенке были в значительной степени зависимы от суммарной дозы протонов излучения и 80-кратное различие в мощности дозы не является существенным фактором.

При изучении процессов поражения в клетках эпителия роговицы мышей, облученных протонами с различными энергиями, была получена зависимость биологической эффективности 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 [21].

При исследовании клеток кишечных крипт мышей ОБЭ определили равную 1,1 для протонного пучка в расширенном пике Брэгга шириной 10 см с исходной энергией 235 МэВ [124].

В работе [178] было проведено тотальное облучение мышей γ -квантами ^{60}Co в дозах 0,13; 0,25; 0,5; 1,0 и 2,0 Гр и протонами в расширенном пике Брэгга с энергиями 50 и 70 МэВ в дозах 0,25; 0,5; 1,0 и 2,0 Гр. Облучение проводили при разной интенсивности: 0,5 Гр/ч и 0,5 Гр/мин. При анализе данных через 24 часа после облучения показано, что воздействие γ -квантами и протонами с энергией 70 МэВ при высокой мощности дозы приводит к додозависимому уменьшению числа лейкоцитов крови у мышей; подобная тенденция наблюдается и при низкой мощности дозы облучения. ОБЭ при облучении 70 МэВ протонами с мощностью дозы 0,5 Гр/мин составила 1,05, и 1,1 при 0,5 Гр/ч, 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 γ -лучей. Таким образом, облучение протонами с энергией 70 МэВ и γ -квантами с низкой мощностью дозы является менее эффективным, по сравнению с вариантом облучения с высокой мощностью дозы. Подводя итог работы, авторы [178] заключают, что полученные данные демонстрируют додозависимое уменьшение числа лейкоцитов в крови мышей после воздействия 70 МэВ протонами и γ -лучами с высокой и низкой мощностью дозы, предполагая, что и у астронавтов может быть отмечено снижение числа лейкоцитов в циркулирующей крови.

В работе [163] 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 (три и десять фракций облучения с промежутком в 3,5 часа). 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 [163] 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 равное 1,1 является ниже экспериментальных, о чем сообщалось в других работах. Ранее этим коллективом авторов была проведена похожая работа, 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 ЛД₅₀ через 180, 210, 240 и 270 дней после облучения, соответственно [162]. Анализ литературы показал, что поражение исследованных уровней организации биосистем протонным излучением носит дозозависимый характер.

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 6,97-0,54 при облучении протонами с энергиями в пределах 10-645 МэВ при высокой и низкой мощностях дозы в исследованиях на мелких лабораторных животных и собаках.

Выявленная количественная закономерность при действии рассматриваемых излучений является отражением общебиологических закономерностей и может быть в ряде случаев распространена и на человека [94]. 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.

В доступной литературе мы не встретили систематических данных по изучению процессов поражения и восстановления костномозгового кроветворения и лимфоидных органов в условиях облучения протонами входа и протонами, модифицированными различными способами, в том числе физическими, биологическими и фармакологическими методами.

Имеющиеся данные носят противоречивый характер, в этой связи необходимы дополнительные исследования с целью решения данной проблемы.

На начало работы над диссертацией мы не встретили фундаментальных данных об исследовании состояния центральной нервной системы в условиях облучения протонами, но на сегодняшний день к этой проблеме привлечено внимание ряда исследователей [120, 131].

Решение части этих вопросов стало задачами диссертационной работы.

Поскольку экипаж во время космической миссии проводит свободное время и работает, за исключением вне корабельной деятельности, не в открытом космосе, а в кабине космического корабля, необходимо рассмотреть теоретические предпосылки модификации ионизирующих излучений физической защитой.

1.2. Физическая радиационная защита

Одним из направлений радиобиологии является защита от ионизирующих излучений. Радиационная защита представляет собой комплекс мероприятий, которые используются для защиты живых организмов от пагубного воздействия ионизирующего излучения, а также поиск способов ослабления эффектов поражения ионизирующего излучения. При защите от радиации учитывают следующие факторы: время, прошедшее с момента радиационного события, расстояние до источника облучения, длительность воздействия и экранирование от радиационного излучения. Для космической радиобиологии вышеизложенные факторы неприменимы, за исключением экранирования, однако, стандартные материалы, используемые на Земле, неприемлемы для космоса.

1.3.1. Взаимодействие протонов с веществом

По современным представлениям, во время длительных и дальних межпланетных полетов организм космонавта будет подвержен ГКЛ, излучению солнечных вспышек, нейтронному и γ -излучению, которые возникают в процессе ядерных взаимодействий первичного космического излучения с веществом космического корабля и биологической тканью, а также излучению от ядерно-энергетических и других радиоизотопных установок [28].

Процессы взаимодействия протонов с веществом можно разделить на процессы, обусловленные наличием у протона электрического заряда (электромагнитные взаимодействия) и происходящие при участии ядерных сил (ядерные взаимодействия) [65].

Электромагнитные взаимодействия в зависимости от параметра соударения приводят либо к потере части энергии протона на ионизацию и возбуждение атома и образование δ -электрона, либо к упругому кулоновскому рассеянию протона в поле ядра [75]. Упругое

кулоновское рассеяние играет существенную роль лишь при очень малых энергиях протонов (менее 0,1 МэВ). Энергия, теряемая протонами на ионизацию и возбуждение атома, называется ионизационными потерями энергии протонов [114]. Ионизационные потери протонов рассчитываются по формуле Бете-Блоха, которая в области энергии $10\text{-}10^4$ МэВ имеет вид:

$$-\left(\frac{dE}{dx}\right)_{\text{ион}} = 2C \frac{m_e c^2}{\beta^2} \left\{ \ln \left[\frac{2m_e v^2 \gamma^2}{I(Z)} \right] - 2 \ln(1 - \beta^2) - 2\beta^2 \right\}, \quad (1)$$

Где $C = 0,1536 \frac{Z}{A} \text{ см}^2/\text{г}$; Z и A – заряд и атомный вес ядра мишени; $I(Z)$ – средний потенциал ионизации.

При вычислении ионизационных потерь протонов в биологической ткани следует пользоваться формулой расчёта ионизационных потерь в сложных веществах:

$$-\left(\frac{dE}{dx}\right)_{\text{сл.вещ}} = -\sum_i \mu_i \left(\frac{dE}{dx}\right)_i \quad (2)$$

где μ_i – весовая доля i -го элемента в сложном веществе,

$\left(\frac{dE}{dx}\right)_i$ – ионизационные потери в i -м элементе (МэВ·см²/г), вычисленные по предыдущей формуле.

Snyder и Neufeld [207] вычислили зависимость ионизационных потерь от энергии протона начиная с энергии порядка 1 кэВ и вклад в потери энергии, обусловленный кулоновским рассеянием протонов на ядрах атомов ткани. Эти данные можно использовать для определения биологической дозы протонов с учётом концов пробегов, что важно, так как пробег значительной части протонов космических источников укладывается в пределы тела человека. Следует отметить, что ОБЭ больше для столкновений протонов с ядрами, чем для столкновений с электронами, так как при столкновении протонов с ядрами биологическое поражение прямо связано с изменением структуры молекул. Зависимость ионизационных потерь в ткани от энергии протонов в диапазоне энергий $10^{-3}\text{-}10^4$ МэВ показана на рисунке 3. Для области низких энергий ($10^{-3}\text{-}10$ МэВ) использованы данные [67, 207], для области энергий от 10 до 10^4 МэВ – данные работы [8]. Как видно на рисунке 3 – максимальное значение ионизационных потерь энергии протонов в биологической ткани составляет $1000 \text{ МэВ} \times \text{см}^2/\text{г}$ при энергии протонов около 70 кэВ. Минимальная ионизация приходится на энергию протонов примерно 3×10^3 МэВ.

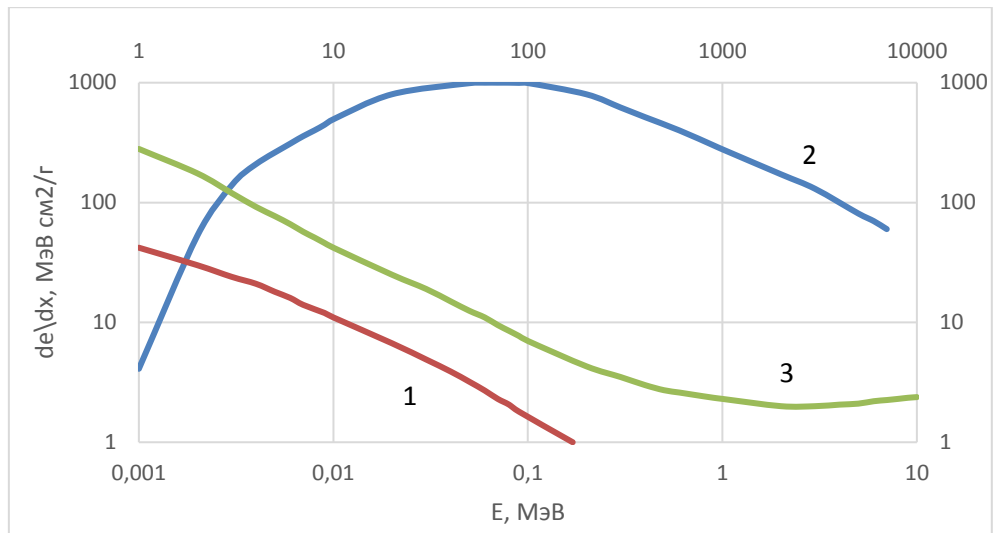


Рисунок 3. Зависимость ионизационных потерь энергии (1) и потерь, обусловленных кулоновским рассеянием от энергии протонов в ткани: (2) – интервал энергии 10^{-3} -10 МэВ; (3) – интервал энергии 1- 10^4 МэВ [67]

Пробегом заряженной частицы в веществе называют средний путь, пройденный частицей с данной энергией до остановки, т.е. до полной потери энергии. Для протонов с энергией менее 10^4 МэВ основным видом потерь энергии являются ионизационные потери, поэтому средний пробег протона можно определить по формуле:

$$R(T_p) = \int_0^{T_p} \frac{dR}{dE} dE = - \int_0^{T_p} \frac{dE}{\left(\frac{dE}{dx}\right)_{\text{ион}}} \quad (3)$$

Пользоваться этой формулой можно лишь в тех случаях, когда значения dE/dx известны в области очень малых энергий (менее 1 МэВ).

1.3.2. Ядерные взаимодействия протонов в биологической ткани

При прохождении протонов высоких энергий через тканеэквивалентное вещество наряду с потерей энергии на ионизацию они испытывают тоже ядерные взаимодействия [114]. В результате уменьшается поток первичных протонов, и вместе с тем происходит накопление вторичного излучения в ткани. С увеличением глубины в ткани происходит рост поглощённой дозы, обусловленный уменьшением энергии первичного пучка протонов и накоплением вторичных излучений в веществе ткани. Для первичных протонов высоких энергий (порядка 660 МэВ) увеличение дозы в результате уменьшения энергии протонов незначительно, поэтому возрастание поглощённой дозы с глубиной в ткани обусловлено целиком накоплением вторичных излучений, возникающих при взаимодействии протонов с ядрами ткани. С увеличением толщины ткани возрастает вероятность того, что протон испытает ядерное взаимодействие. Так для энергии первичных протонов с энергией более 150 МэВ и толщины

фантома примерно 30 см около 30% первичных протонов испытает одно ядерное взаимодействие и около 5% – два.

При прохождении через ткань протоны взаимодействуют в основном с ядрами кислорода. Доля соударений, приходящая на отдельные компоненты ткани, составляет: О – 62%, С – 21%, Н – 14%, N – 3%. Взаимодействие протонов с водородом ткани представляет собой упругое (p-p)- и (p-n)- рассеяние при энергии менее 400 МэВ. Для более высоких энергий первичных протонов возможны неупругие соударения протонов с образованием мезонов. Экспериментальные и теоретические оценки показывают, что при одном неупругом взаимодействии образуются в среднем один каскадный протон и один каскадный нейтрон. Число каскадных нуклонов существенно зависит от энергии первичного протона и заряда ядра мишени. В результате ядерных взаимодействий протонов в веществе ткани образуются вторичные протоны, нейтроны, γ -кванты, мезоны, дейтроны, альфа-частицы, ядра отдачи и т.д. Спектр этих частиц охватывает широкую энергетическую область вплоть до энергий, соответствующих энергиям первичных протонов. Результаты расчётов методом Монте-Карло показывают, что поглощённая доза в основном определяется ионизационными потерями первичных протонов. Вклад продуктов ядерных взаимодействия в этом случае не превышает 5-10%. Более значительный вклад дают продукты ядерных взаимодействий в биологическую дозу. Это обусловлено большой величиной ОБЭ низкоэнергетичных вторичных частиц, особенно тяжёлых частиц и ядер отдачи. В связи с этим вклад в биологическую дозу возрастает до 20-30% [42].

Оценки радиационного риска космического излучения и разработка эффективных мер защиты являются ключевыми вопросами в области пилотируемых исследований космоса, в частности для долгосрочных миссий на МКС и возможных полетов на Марс. Для точных оценок риска необходимы детальные исследования физических аспектов проблемы (изучение компонентов излучения и вторичных частиц, создаваемых при взаимодействии со стенками космического корабля, экранирующих структур и телом человека) и радиобиологических, т.е. изучение эффектов первичных и вторичных излучений на биологические мишени разных уровней, от ДНК и клеток тканей, до органов и организмов.

Для защиты от протонного излучения используют вещества, эффективно тормозящие протоны и образующие относительно мало вторичных частиц при ядерных взаимодействиях (графит, бетон, алюминий и др.) [3].

Определенный интерес в вопросе физической защиты при облучении протонами представляет уже используемые на борту МКС укладки из водосодержащих штатных гигиенических материалов без увеличения массы МКС, получивших название «Шторка

защитная» более подробный анализ, которой будет проведен в главах, посвященных материалам и методам, а также в обсуждении.

Все вышеперечисленное необходимо учитывать при оценке радиобиологических эффектов после прохождения протонов через физическую защиту и биологические ткани организма.

1.4. Противолучевые средства потенциально эффективные при корпускулярном излучении

В космическом пространстве на человека воздействует корпускулярное излучение, состоящее преимущественно из протонов, ядер гелия и очень малой части более тяжелых ядер. При изучении доступных литературных источников, сложно не заметить, что большая часть исследований проводилась и проводится при облучении электромагнитным излучением (γ - и рентгеновскими лучами), хотя для космической радиобиологии актуальным является изучение действия противолучевых препаратов при воздействии корпускулярных излучений в частности протонов, которые являются основной компонентой космического излучения (см. раздел 1.1.).

Существующие противолучевые средства предназначены для применения непосредственно перед кратковременным облучением, либо в течение первых суток после радиационного воздействия. Побочные реакции, парентеральный путь введения, снижение или отсутствие эффекта при пролонгированном облучении в диапазоне средних и малых доз делает их непригодными, в частности, для оказания медицинской помощи при длительном облучении корпускулярным излучением с низкой мощностью дозы [26, 50, 99, 122.] и в условиях полета, что особенно актуально для космической медицины (см. раздел 1.1.).

По существующей наиболее приемлемой классификации все радиозащитные вещества можно разделить на три группы [16]:

- радиопротекторы (сульфгидрильные соединения и антиоксиданты), осуществляют миело-, энтеро- и цереброзащиту;
- адаптогены (часто вещества растительного или животного происхождения), действующие как стимуляторы радиорезистентности, активируя антиоксидантные, репарационные и другие защитные системы организма. Адаптогены имеют наименьшую токсичность, могут влиять на регуляторные системы организма, направленные на активизацию защитных систем;
- адсорбенты, защищающие организм от внутреннего излучения и химических веществ, которые связывая радионуклиды. Увеличивают скорость их выведения из организма [32].

Препараты, обладающие антиоксидантной активностью, рассматриваются как перспективные радиозащитные средства, они имеют низкую токсичность, просты и удобны в применении [101]. Антиоксиданты – вещества, способные приводить к частичной или полной

инактивации различных реактогенных окислителей, активных форм кислорода и других свободных радикалов путем взаимодействия с ними.

Лекарственные препараты, обладающие антиоксидантной активностью, широко применяются в медицине с целью коррекции процессов свободнорадикального окисления при различных заболеваниях. Антиоксиданты позволяют эффективно корректировать энергетический метаболизм за счет нормализации функций дыхательной цепи митохондрий, осуществляющих окислительное фосфорилирование, и других метаболических путей, поставляющих энергетические субстраты. [77]. Антиоксиданты бывают прямого и косвенного действия. По происхождению все антиоксиданты подразделяют на две группы: ферментативной (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза) и неферментативной природы, которые подразделяют на вещества эндогенного (коэнзим Q10, глутатион, а-липоевая кислота и др.) и экзогенного происхождения – витамины А, С, Е, каротиноиды, полифенолы (флавоноиды) и их синтетические аналоги – низкомолекулярные соединения (убихинон, глутатион), микроэлементы (селен) [4, 117].

Исходя из требований к длительному повышению радиорезистентности космонавтов под влиянием фармакологических средств, наше внимание привлекли несколько препаратов: гриппол, меланин и СОД.

Известно [111], что вакцина «Гриппол» повышает специфическую устойчивость человека к заражению вирусом гриппа и обеспечивает повышение неспецифической антиинфекционной резистентности. В эксперименте авторы [48] получили данные, указывающие, что при введении препарата мышам и хомякам за 2 недели – 2 месяца до воздействия γ -лучей повышается радиорезистентность и выживаемость животных после облучения в летальных дозах, стимулируется ускоренное восстановление гемопоэза. Вакцина «Гриппол», введенная облученным в дозе 2,5 Гр крысам, существенно замедляет развитие пострadiационного канцерогенеза [86]. Указанное обстоятельство, а также и тот факт, что гриппозными вакцинами проиммунизированы сотни миллионов человек, в том числе и космонавты, и кандидаты в космонавты, представляет определённый интерес изучить влияние вакцины «Гриппол» на радиорезистентность при облучении протонами.

При облучении малыми дозами ионизирующего излучения снижение повреждающего эффекта достигается путем приема ряда фармакологических препаратов и биологически активных добавок к пище [160, 161]. В их числе авторы отмечают омега ненасыщенные кислоты, биофлавоноиды, кверцетин, меланины, L-селенометионин, мелатонин, глутатион, аскорбиновая кислота, препараты рибоксина, аминотетравита, тетрафолевита и др. [104]. Для профилактики острых лучевых поражений наилучшим средством является радиопротектор экстренного

действия – индралин, который оказывает выраженное противолучевое влияние на 6 видов животных (мыши, крысы, хомяки, морские свинки, собаки и обезьяны), сохраняет радиозащитное действие при облучении как в условиях низкой ЛПЭ – γ -лучи, так и при облучении нейтронами и высокоэнергетичных протонов, в том числе на крупных животных – собаках [17, 55].

Рогозкин В.Д. и соавт. [93] использовали 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, тетрацилин), витамины (В1, В2, В6, 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. С помощью предложенного комплекса препаратов удалось предупредить гибель животных после воздействия протонами при ЛД₅₀, и увеличить выживаемость на 50-60% при ЛД₁₀₀. 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 суток до и 12-18 суток 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 собаками в диапазоне доз 0,55-1,6 Гр показали нарастание выраженности симптомов лучевого поражения с увеличением дозы протонов; в свою очередь использование защитно-лечебных средств смягчает клинические проявления лучевого поражения. По показателям свертываемости крови и количеству свободного гепарина у облученных собак не наблюдалось четкого положительного влияния 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. Авторы [93] делают 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, позволит разработать надежную систему радиационной безопасности космических полетов [92].

В условиях массового использования наиболее перспективными являются средства, обладающие действием при приёме 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 [17].

К таким биомедицинским средствам относится меланин – природный высокомолекулярный пигмент, участвующий в работе живых систем различного уровня организации [44]. Меланины содержатся в микроорганизмах, тканях растений, животных, человека (придают окраску волосам, ресницам, коже), а также ряде пищевых продуктов (чай, кофе, гречиха и др.).

Меланин в настоящее время не является лекарственным средством и выпускается в виде пищевых добавок, производители которых рекомендуют его к использованию, в том числе, как препарат с радиопротекторной активностью. Однако к началу наших исследований экспериментально обоснованные данные, подтверждающие целесообразность перорального применения меланина для повышения радиорезистентности, практически отсутствовали. В единичных публикациях сообщается о повышении выживаемости мышей в результате профилактических инъекций меланина перед облучением [6, 176].

Меланины – высокомолекулярные соединения, образующиеся в результате полимеризации тирозина, диоксифенилаланина или катехоламинов на белковой матрице, обладают широким спектром биомедицинских и технических свойств. Известны сообщения о практическом применении синтетических, полусинтетических и выделенных из биологических источников меланинов в медицине, косметологии, пищевой и лакокрасочной промышленности, технике и электронике.

По данным доклинического фармакологического исследования водорастворимые меланины не токсичны. После однократного внутрижелудочного или внутрибрюшинного введения в дозах от 100 до 3000 мг/кг не отмечено гибели мышей. При введении в течение 15 суток не зафиксировано летальных исходов, нарушения общего состояния, патологических изменений внутренних органов, не выявлено канцерогенного действия [9, 44, 80].

В то же время опубликованные данные указывают на наличие у меланинов разнообразных фармакологических свойств.

В экспериментах на грызунах показано, что меланин обладает антистрессорным, противосудорожным [45] и антимуtagenным действием [73, 97], повышает физическую работоспособность, усиливает иммунную защиту [53, 54] организма, вызывает продукцию цитокинов, таких как, интерлейкины – 6 и 8, опухоленкротического фактора, ростового фактора эндотелия [146, 147, 188], ускоряет рост массы тела и нормализует гематологический статус.

Запатентовано противовирусное средство на основе меланина [87]. Мазь, изготовленная с использованием меланина (мазь: туба 15г, регистрационные №№ 11/12/947, 06.12.11), рекомендована в качестве фотопротектора для наружного применения. Меланин запатентован в качестве радиопротектора при введении до облучения [82] и стимулирующего средства репродуктивной активности мышей самцов [88].

При хроническом в течение 20-ти суток облучении беременных крыс в суммарной дозе ~ 1,25 Гр, не сопровождающемся развитием лучевой болезни, ежедневное внутрижелудочное введение суспензии меланина в крахмальном геле (10 мг/кг) устраняло в постнатальном периоде дефицит соматического развития крысят [53, 54].

Имеются указания на способность меланина снижать накопление радионуклидов в организме [83].

В опытах на мышах была исследована возможность использования водорастворимого меланина для повышения репродуктивной активности интактных мышей самцов и восстановления репродуктивной активности самцов, сниженной путем воздействия ионизирующего излучения [47]. Для стимуляции репродуктивной активности мышей-самцов в эксперименте проводили пероральное курсовое введение животным меланина с питьевой водой. Использовался меланин с водорастворимостью не менее 80% и концентрацией парамагнитных центров не менее 8×10^{17} спин/г, в растворенном виде в дистиллированной воде в эффективной концентрации. Воду с меланином животные (самцы) употребляли в качестве питьевой в течение 8-10 суток перед спариванием и в период спаривания. Стимулирующий эффект достигнут при курсовом приеме внутрь с питьевой водой из расчета 12,5-50 мг меланина на 100 мл, при этом достигается увеличение числа животных в приплоде в среднем в 1,34 раза у интактных мышей и в 1,23 раза у мышей со сниженной под влиянием облучения репродуктивной активностью.

Влияние меланина на кроветворение, по-видимому, связано с сохранением большего числа жизнеспособных клеток – предшественников, о чём свидетельствуют данные, полученные с нашим участием в методике эндогенного колониеобразования. По существующим представлениям [58], число образовавшихся на селезёнках эндоколоний отражает размер пула сохранивших жизнеспособность стволовых кроветворных клеток в организме, что служит

поддержкой в пользу предположения о наличии у меланина модифицирующего эффекта в отношении гемопоэза.

В реализации противолучевого действия меланина важную роль играет его выраженная антиоксидантная активность [44, 80]. Известно, что различные меланины, ингибируют перекисное окисление липидов благодаря их способности перехватывать супероксидный радикал O_2^- и перекисные радикалы органических соединений [78, 159].

Однако на сегодняшний день препарат, основой которого является меланин не используется в качестве лекарственного средства, обладающего защитным действием при облучении протонами, как применительно к терапии опухолей, так и для защиты экипажей при космических полетах, хотя очевидно, что меланин может обладать противолучевыми свойствами. Чрезвычайно важным является наличие у меланина антистрессорного, противосудорожного, антимуtagenного действия, так же меланин повышает физическую работоспособность, выживаемость мышей, усиливает иммунную защиту, ускоряет рост массы тела и нормализует гематологический статус. Эти свойства позволяют рассматривать меланин как потенциальное противолучевое средство в космической радиобиологии.

Исходя из вышеизложенного, изучение противолучевых свойств меланина при протонном облучении стало одной из наших задач.

Кроме того, представляет интерес классический противолучевой препарат супероксиддисмутаза (СОД). Широко известным свойством этого фермента супероксиддисмутаза является его радиозащитная способность [11, 15, 212]. В существующей литературе такое свойство изоформ СОД касается в основном исследований, выполненных на прокариотах [169] или на клеточных культурах [149]. Ограниченное количество работ выполнено на грызунах [134]. В некоторых публикациях СОД рассматривается в качестве антиоксиданта и противолучевого средства, проявляющего эти свойства при нелетальных дозах ионизирующего излучения [11, 15].

СОД обладает радиопротекторной активностью при введении как до, так и после лучевой терапии, что выгодно отличает ее от большинства веществ с аналогичным действием, которые оказывают положительный эффект только до облучения [35]. Имеются данные, что СОД-содержащие препараты способствуют уменьшению числа морфологически измененных клеток и приводят к повышению выживаемости при облучении их высокими дозами γ -лучей [100, 137]. Работы по изучению влияния СОД на течение острой лучевой болезни после облучения проведены с использованием стандартных источников, но не протонными пучками, которые являются основной компонентой космической радиации. Учитывая интерес к освоению космического пространства, создание средств повышения радиационной безопасности

космонавтов является насущной задачей радиационной медицины. В дополнение к разработке медицинских средств неотложной помощи при радиационных авариях, особое внимание должно быть уделено получению препаратов, способных повысить резистентность онкологических больных к лучевой терапии, не снижая при этом радиочувствительность опухолевых клеток. В качестве предварительного шага к созданию таких препаратов могут рассматриваться сведения, опубликованные ранее, о способности rMnSOD повышать в клеточных культурах радиорезистентность нормальных клеток и, в то же время, радиочувствительность опухолевых клеток [134]. В этих экспериментах, выполненных на мышах, подвергавшихся тотальному рентгеновскому облучению, была продемонстрирована лечебная эффективность rMnSOD, выражающаяся в увеличении 30-суточной выживаемости животных и сохранении морфологической структуры таких органов как сердце, печень, почки и шейка матки [134]. Особое свойство новой изоформы rMnSOD состоит в том, что после введения она может свободно проникать в клетки, благодаря наличию нерасщепленной N-концевой пептидной последовательности [135, 179, 180]. Было показано, что rMnSOD является крайне эффективной при поглощении внутри- и внеклеточного кислорода, а также способствует облегчению патологических состояний, традиционно ассоциируемых с повышенным окислительным стрессом [134, 199]. Кроме того, rMnSOD показывает хорошее биораспределение во всех органах [164, 197]. Указанные факты свидетельствуют о том, что rMnSOD хорошо подходит для реверсирования окислительного стресса [179]. Показано, что rMnSOD имеет селективное положительное влияние на нормальные клетки MгC-5 и радиосенсибилизирующее влияние на опухолевые клетки MCF-7 и LСа после облучения протонами с энергией 62 МэВ *in vitro* [134]. Считается, что препараты с антиоксидантной активностью безопасны и обладают широким терапевтическим действием, что способствует целесообразности поиска и разработке новых эффективных антиоксидантных средств [117].

Таким образом, одной из целей работы стало исследование противолучевых свойств таких препаратов, как меланин растительного происхождения и рекомбинантная форма марганецсодержащей супероксиддисмутазы (rMnSOD), а также вакцина «Гриппол».

Заключение

Подводя итог всему вышенаписанному, можно выделить основные моменты, во-первых, протоны являются основной составной частью космического излучения. В ГКЛ протоны составляют 90% ядерной компоненты в диапазоне энергий от 10^6 до 10^{20} эВ. В результате солнечных протонных событий возникают солнечные космические лучи, которые более чем на

98% состоят из протонов различных энергий. В течение полета к Марсу каждая клетка организма космонавта может поражаться протонами каждые три дня и ТЗЧ приблизительно раз в месяц.

Протоны – элементарные частицы, имеющие положительный заряд и большую массу, двигаются по прямолинейной траектории. В конце пробега, вследствие замедления движения протона и более активного взаимодействия его с веществом, происходит более выраженная ионизация – пик Брэгга. Глубина проникновения пика Брэгга зависит от энергии частиц, а это в свою очередь позволяет, регулируя данный параметр, достигать максимума ионизации в требуемой зоне, практически не повреждая ткани, расположенные за пределами пучка, что актуально при протонной терапии онкологических заболеваний.

Во-вторых, при исследовании действия заряженных частиц важным этапом является определение относительной биологической эффективности (ОБЭ), которая характеризует эффективность биологического действия различных ионизирующих излучений. ОБЭ зависит от линейной передачи энергии, величины и мощности дозы, наличие или отсутствие кислорода. Известно, что при фракционированном протонном облучении ОБЭ увеличивается. Протон при прохождении через вещество ионизирует почти каждый атом, встречающийся ему на пути, поэтому повреждения протонами приводит к возникновению тяжелых повреждений.

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

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 достоверно увеличивается радиобиологическая 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 6,97-0,54 при облучении протонами с энергиями в пределах 10-645 МэВ при высокой и низкой мощности дозы в исследованиях на мелких лабораторных животных и собаках.

Выявленная количественная закономерность при действии рассматриваемых излучений является отражением общебиологических закономерностей и может быть в ряде случаев распространена и на человека. Исследования радиобиологических эффектов протонов имеют большое значение для формирования представлений о реальной опасности космического излучения для здоровья космонавтов.

В доступной литературе мы не встретили систематических данных по поражению и восстановлению костномозгового кровотока и лимфоидных органов в условиях облучения протонами входа и протонами, модифицированными с помощью физических средств защиты.

На начало работы над диссертацией мы не встретили данных об исследовании состояния центральной нервной системы в условиях облучения протонами, но на сегодняшний день уже имеются единичные работы.

В этой связи решение этих вопросов стало задачами диссертационной работы.

В-третьих, физическая защита существенно модифицирует радиобиологические эффекты протонов. По современным представлениям, во время длительных и дальних межпланетных полетов организм космонавта будет подвержен ГКЛ, излучению солнечных вспышек, нейтронному и γ -излучению, которые возникают в процессе ядерных взаимодействий первичного космического излучения с веществом космического корабля и биологической тканью, а также излучению от ядерно-энергетических и других радиоизотопных установок [27].

Определенный интерес в вопросе физической защиты при облучении протонами представляет уже используемые на борту МКС укладки из водосодержащих штатных гигиенических материалов – без увеличения массы МКС, получивших название «Шторка защитная» [56].

И наконец, наиболее важной задачей радиационной защиты от ионизирующего излучения представляет защита противолучевыми препаратами, в нашем случае это меланин растительного происхождения, который обладает антистрессорным, противосудорожным, антимуtagenным действием. Так же меланин повышает физическую работоспособность, выживаемость мышей, усиливает иммунную защиту, ускоряет рост массы тела и нормализует гематологический статус и все эти свойства позволяют рассматривать меланин как фармакологическое средство актуальное для космической радиобиологии. Также представляет интерес классический противолучевой препарат – антиоксидант супероксиддисмутаза (СОД), широко известным свойством которого является его радиозащитная способность. Поскольку протонное облучение, характерное для космического пространства, имеет определенные особенности в действии на организм млекопитающих по сравнению с γ -облучением, то представляет интерес получить экспериментальное подтверждение об универсальности противолучевых свойств вакцины «Гриппол», широко используемой в медицинской практике и повышающей резистентность по отношению к γ -облучению. Одной из целей работы стало исследование противолучевых свойств таких препаратов, как меланин растительного происхождения и рекомбинантная форма марганецсодержащей супероксиддисмутаза (rMnSOD) и вакцина «Гриппол».

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Источники ионизирующего излучения

Облучение мышей проводили терапевтическим пучком протонов с энергией 171 МэВ, созданном на фазотроне ОИЯИ (г Дубна) для проведения лучевой терапии пациентов (рисунок 4). Облучали в двух точках глубинного дозного распределения – на входе пучка протонов в объект и в области модифицированного пика Брэгга. ЛПЭ протонов с энергией 171 МэВ составила 0,49 кэВ/мкм, мощность дозы 0,37 Гр/мин. Спектр энергии замедленных протонов – 0–30 МэВ. Мощность дозы 1,1 Гр/мин. Среднее значение ЛПЭ в пике Брэгга составляет 1,6 кэВ/мкм (рисунок 5). В спектре ЛПЭ вклад в поглощенную дозу протонов с низкой ЛПЭ составил около 67%, с ЛПЭ 25–50 кэВ/мкм 23% и с высокой ЛПЭ (50–100 кэВ/мкм) 10%. Поток частиц протонов 171 МэВ составляет $1,16 \times 10^9 / \text{см}^2$. Для сравнения было проведено облучение γ -квантами ^{60}Co на аппарате для дистанционной лучевой терапии РОКУС–М МТК ОИЯИ. Средняя мощность дозы 1 Гр/мин. ЛПЭ γ -квантов ^{60}Co составила 0,3 кэВ/мкм. Рентгеновскими лучами облучение проводили на установке РУБ РУСТ М1. Эксперименты выполнены при облучении в диапазоне доз от 200 мГр до 8,5 Гр.



Рисунок 4. Облучение мышей терапевтическим протонным пучком

Терапевтический протонный пучок формируется в результате замедления в углеродных блоках генерируемых ускорителем протонов с энергией 660 МэВ до средней энергии 170 МэВ, наиболее оптимальной для облучения широкого класса мишеней.

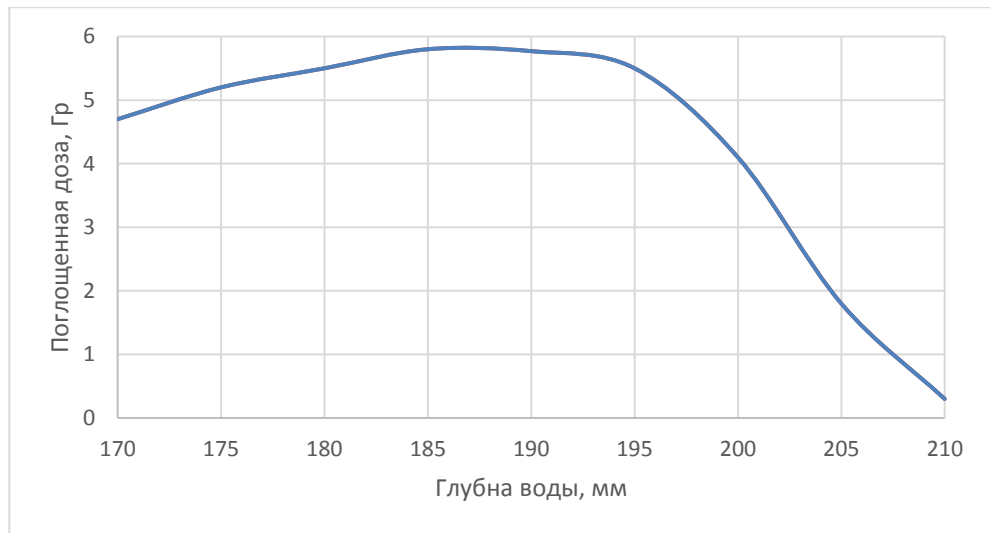


Рисунок 5. Спектр протонов модифицированного пика Брэгга, полученный с помощью гребенчатого фильтра

На рисунке 6 изображена схема канала для формирования замедленных терапевтических протонных пучков в двух процедурных кабинетах фазотрона. На рисунке 7 представлена схема формирования пучка протонов при облучении животных в эксперименте с использованием физической защиты, имитирующей элементы космического корабля и изделия «Шторка защитная».

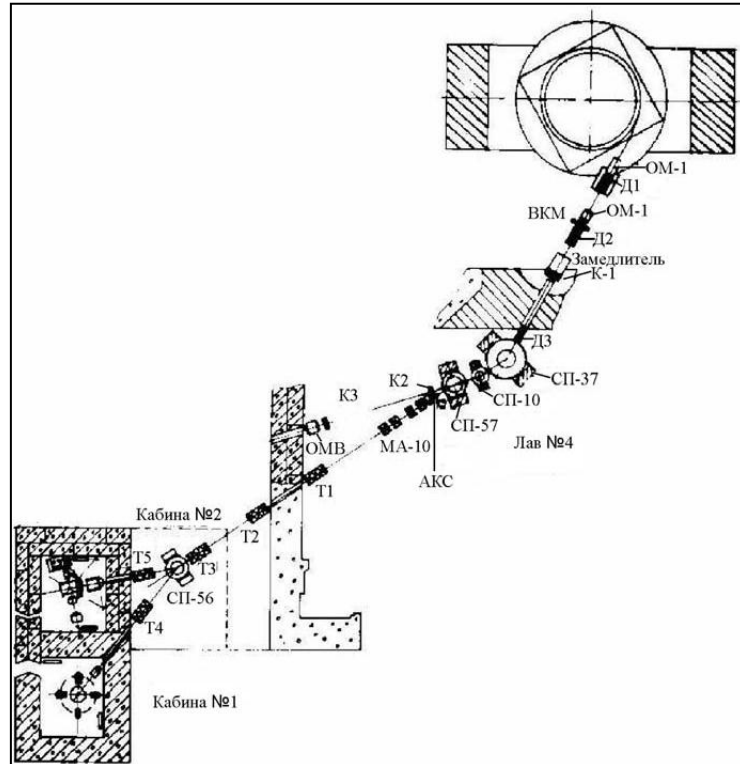


Рисунок 6. Схема канала для формирования замедленных терапевтических протонных пучков в двух процедурных кабинетах фазотрона ОИЯИ и расположения кабины №1 для эксперимента

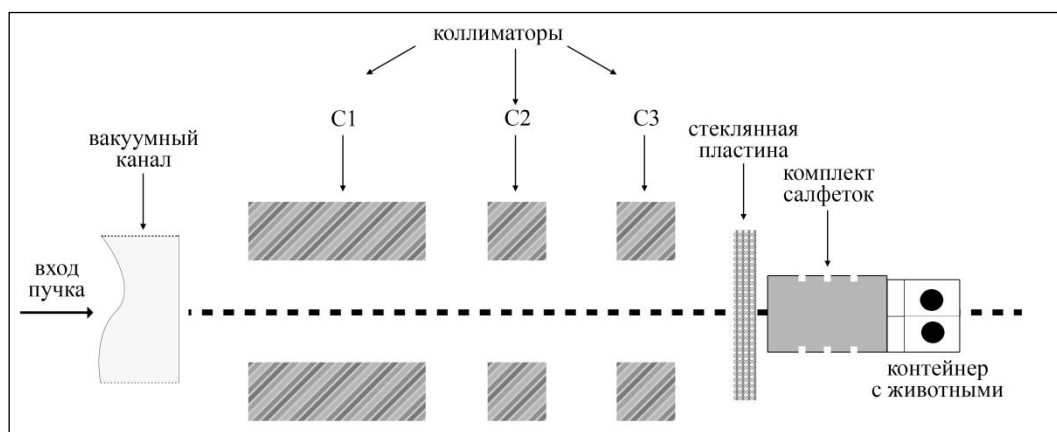


Рисунок 7. Схема формирования пучка протонов при облучении животных

Примечание: • – условное обозначение расположения мышей

Для уменьшения разброса частиц по энергии, возникающего при их замедлении, проводили магнитный анализ пучка.

Абсолютная дозиметрическая калибровка протонного пучка осуществлялась наперстковой ионизационной камерой VAK–253 и клиническим дозиметром CD–27012 (Германия), прокалиброванным на γ -источнике ^{60}Co установки РОКУС–М в соответствии с международными дозиметрическими протоколами [187]. Точность абсолютной калибровки протонного пучка составляет около 3%. Дозиметрическая калибровка установки РОКУС–М проведена относительно эталонного источника Института ядерной физики в Праге с точностью около 1% [13].

Режимы элементов магнитооптического канала транспортировки пучка в первую процедурную кабину медико–технического комплекса (МТК) подобраны таким образом, чтобы в месте облучения пациента пучок протонов был однороден в поперечном сечении. По 90%-му изоуровню мощности дозы его поперечный размер составляет 6×6 см.

2.2 Модификация терапевтического пучка протонов с энергией 171 МэВ с помощью гребенчатого фильтра

Исходя из задачи диссертации – исследования биомедицинских эффектов протонов с различными уровнями ЛПЭ нами предприняты попытки снизить энергию протонов и тем самым увеличить ЛПЭ. С этой целью был применен гребенчатый фильтр [70]. При прохождении через гребенчатый фильтр поток частиц составил $1,04 \times 10^9/\text{см}^2$. Модификация пика Брэгга в глубинное дозное распределение с плоской вершиной протяженностью около 2 см производится с использованием гребенчатого фильтра. Глубинные дозные распределения натурального и модифицированного пучков приведены на рисунке 8. На рисунке показано, что область доз выше

90-процентного уровня составляет около 2 см, что позволяет облучать объекты толщиной до 2 см практически равной мощностью дозы по глубине объекта.

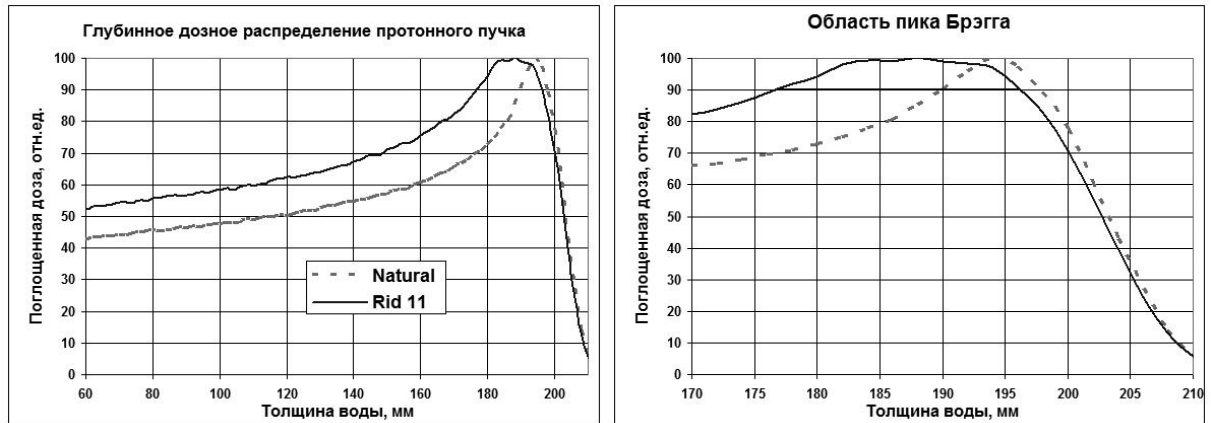


Рисунок 8. Глубинное дозное распределение протонного пучка. Пунктирная линия – натуральный пучок, сплошная – модифицированный пучок.

Протяженность натурального пика Брэгга исходного протонного пучка при прохождении через вещество не превосходит 8 мм эквивалента воды (по 90%-му изоуровню мощность дозы). Этого, как правило, бывает недостаточно для облучения реальных мишеней размером в несколько сантиметров. Поэтому специальное устройство – гребенчатый фильтр помещается на пути пучка заряженных частиц, толщина которого изменяется в поперечном сечении пучка по определенному закону. Частицы, проходя через различные участки гребенчатого фильтра и теряя при этом часть первоначальной энергии, образуют набор пиков Брэгга с уменьшенным пробегом. С помощью рассеивателя пучок перемешивается и в результате суммирования этих сдвинутых пиков с незамедленной частью пучка формируется модифицированное (расширенное) дозное распределение [70].

Для облучения мышей модифицированными протонами была изготовлена специальная клетка из перфорированного термопластика, из которого для сеансов фракционированного облучения пациентов изготавливаются индивидуальные иммобилизирующие маски (рисунок 9).

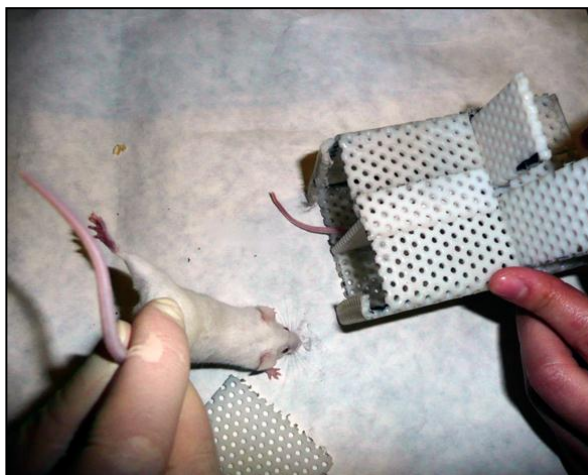


Рисунок 9. Клетка из перфорированного термопластика

Клетка сконструирована таким образом, что в ней могут находиться две мыши изолированно друг от друга, при этом каждое экспериментальное животное во время облучения остается в исходном положении – перпендикулярно по отношению к потоку протонов, что позволяет пучку протонов пройти непосредственно через тело мыши. Клетка представляет собой короб размером 10x7x7 см, разделенный на две части перегородкой из этого же материала, каждая секция клетки закрывается индивидуальной крышкой.

Для визуализации пространственного распределения дозы в эксперименте по проверке использована радиохромная пленка Gafchromic RTQA-1010P, произведенная компанией International Specialty Products (США), состоящая из активного слоя, расположенного между тонкими листами полиэстера, имеющая толщину 0,3 мм. Эта пленка, по данным производителя, позволяет измерить дозу протонного облучения в диапазоне 0,2 Гр-8 Гр. Оценка состоит в определении соответствия степени потемнения РХП от дозы облучения. На рисунке 10 проиллюстрировано использование пленки в эксперименте [1].

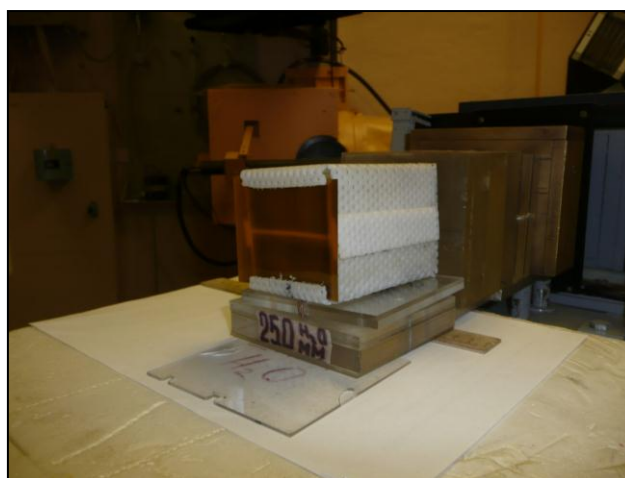


Рисунок 10. Использование радиохромной пленки Gafchromic RTQA-1010P

2.3. Модификация терапевтического пучка протонов с помощью элементов радиационной защиты МКС

При решении проблемы радиационной защиты экипажей космического корабля разработчики оптимизируют соотношение масса защиты-эффективность для уменьшения стартовой массы космического корабля. Определенные успехи в вопросе повышения радиационной безопасности экипажей МКС достигнуты с помощью укладок из водосодержащих штатных гигиенических материалов – без увеличения массы МКС, получивших название «Шторка защитная» [56]. Защитная эффективность изделия была подтверждена с помощью расчетов и экспериментально в каюте служебного модуля МКС. Учитывая изменения характеристик космического излучения при переходе от орбитальных полетов к межпланетным, актуальным становится совершенствование радиационной защиты. В связи с этим перед нами была поставлена цель провести, комплексную с помощью физических и биологических экспериментов, оценку возможной модификации протонного пучка высоких энергий с помощью элементов радиационной защиты космического корабля. В качестве таковых мы применили стеклянную пластину, имитирующую иллюминатор, и укладку из штатных гигиенических салфеток «Шторка защитная» (рисунок 11). Для характеристики и сопоставления свойств различных веществ, применяемых для физической защиты от радиации, используется термин «массовая толщина» [168]. Массовая толщина равна произведению толщины поглощающего слоя на его плотность [57] и выражается в г/см^2 ($\text{г}\cdot\text{см}^{-2}$). Для того чтобы сравнивать массовую толщину веществ различного химического состава по величине радиозащитного эффекта используется понятие водного эквивалента массовой толщины. В эксперименте [56] массовая толщина «Шторки защитной» составила в пересчете на водный эквивалент $\sim 6,2 \text{ г/см}^2$. Она полностью поглощает протоны с энергией до 100 МэВ, но протоны с более высокими энергиями только замедляются и проходят через данную защиту. В связи с тем, что протоны высоких энергий составляют до 85% в структуре галактического космического излучения [98], представляется целесообразным дозиметрическое изучение указанных элементов физической противорадиационной защиты на протонах с энергией более 100 МэВ. При физических исследованиях модифицирующего влияния алюминия и полиэтилена на пучке протонов с энергией 160 МэВ установлены особенности изменения поглощенной дозы излучения [123].

В качестве имитатора стекла иллюминатора использовали 7 стеклянных фотопластинок, сложенных в одну конструкцию размером $13 \times 18 \times 2,0 \text{ см}^3$, а суммарная массовая толщина конструкции из стекла $4,9 \text{ г/см}^2$, что эквивалентно $4,0 \text{ г/см}^2$ воды (далее по тексту стеклянная пластина «СП»). Использовали также конструкцию из 4-х слоёв гигиенических салфеток («ГС»), применяющихся в изделии «Шторка защитная», общим размером $7,6 \times 7,8 \times 6,8 \text{ см}^3$ с суммарной массовой толщиной конструкции 5 г/см^2 (что эквивалентно $5,0 \text{ г/см}^2$ воды).



Рисунок 11. Использование конструкции из 4-х слоев гигиенических салфеток и 7-ми стеклянных фотопластинок

2.4. Экспериментальные животные

Эксперименты выполнены на мышах: самцах линии C57Bl6, гибридах (CBA×C57Bl)F1 и аутбредных самцах и самках ICR (CD-1) SPF категории (питомник РАН, г. Пущино). Общее количество животных 910. Возраст к началу экспериментов превышал 2 месяца. Животные были размещены в групповых клетках, получали стандартный брикетированный корм и воду *ad libitum*, содержались в конвенциональных условиях.

2.5. Методы обследования животных

2.5.1. Методы оценки поведенческого статуса животных

Изменения в поведении животных оценивали с помощью теста «Открытое поле», который позволяет оценить исследовательские реакции в новой среде, общую двигательную активность и тревожность у грызунов. Использовали установку «Открытое поле» («Open Science») белого фона с диаметром арены 63 см, разделенную на 18 секторов и центр, с 13 круглыми отверстиями в полу. В центр установки помещали мышь и наблюдали в течение 3 минут. Ориентировочно-исследовательские реакции оценивали по показателям количества заходов в сектора, центр, заглядывание в норки (круглое отверстие пола камеры диаметром 1,0 см), стойки с упором и без упора, к эмоциональному статусу животных относятся груминг, замирания и движения на месте.

2.5.2. Методы оценки иммуно-гематологического статуса

Животных выводили из эксперимента методом декапитации через 24 часа и 8 суток после облучения. В первые сутки радиационного поражения организма не происходит наложения

эффектов восстановления подверженных радиации систем, через 8 суток регистрируются эффекты восстановления.

Для оценки радиобиологического эффекта были использованы показатели числа кариоцитов костного мозга, числа лейкоцитов в периферической крови, массы тимуса и селезенки. Массу тела животных определяли на электронных весах Zelmer с ценой деления 1,0 г. Массу тимуса и селезенки определяли на весах Ohaus с ценой деления 1 мг. Для определения массы селезенки производили вскрытие брюшной полости лабораторного животного. При помощи пинцета и ножниц селезенку доставали из брюшной полости, очищали от соединительной ткани и взвешивали на весах.

Тимус извлекали при помощи пинцета при вскрытии верхней части грудной клетки. Как и селезенку, тимус очищали ножницами от соединительных тканей и взвешивали на весах.

Состояние периферической крови и костного мозга облученных животных исследовали стандартными методиками.

При пробирочном методе взятия крови для подсчета лейкоцитов в пробирку наливали 0,4 мл раствора 5% уксусной кислоты. Кровь собирали на часовое стекло. Капиллярной пипеткой набирали из свежей капли 20 мкл крови (разведение в 20 раз), осторожно выдували ее в пробирку с реактивом и ополаскивали пипетку. Смесь хорошо перемешивали, чистое и сухое покровное стекло притирали к камере так, чтобы в месте соприкосновения образовались радужные кольца. Кровь, разведенную в пробирке, хорошо перемешивали. Концом круглой стеклянной палочки отбирали каплю крови и подносили к краю шлифованного стекла камеры. После заполнения камеры ее оставляют на 1 мин в покое для оседания лейкоцитов. Считали лейкоциты при малом увеличении (объектив $\times 8$ или $\times 9$, окуляр $\times 10$ или $\times 15$) при затемненном поле зрения (при опущенном конденсоре или суженной диафрагме). Подсчет лейкоцитов производился в 100 больших квадратах. Количество лейкоцитов определяли по формуле:

$$X = \frac{20 \cdot 10 \cdot 400}{1600} \cdot n, \quad (4)$$

где 20 – разведение крови, 10 – глубина камеры Горяева, 400 – площадь малого квадрата камеры, 1600 – число малых квадратов в 100 больших квадратах камеры Горяева, n – число лейкоцитов в больших квадратах.

На практике обычно количество лейкоцитов, просчитанных в больших квадратах камеры Горяева, умножают на 50, что соответствует приведенной формуле.

Определение количества кариоцитов в бедренной кости ($n \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро): очищенную от мышцы бедренную кость животного промывали 5% раствором уксусной кислоты объемом 4 мл, вымывая содержимое кости шприцем [181], а затем подсчитывали число ядродержащих клеток в камере Горяева. Считали клетки костного мозга при малом увеличении

(объектив $\times 8$ или $\times 9$, окуляр $\times 10$ или $\times 15$). Подсчет производился в 5 больших квадратах, разделенных на 16 маленьких. Полученное число умножали на 0,2 – число клеток костного мозга в бедренной кости мыши.

Цитогенетический анализ. Критериями изменений в клетках костного мозга являлись величина митотического индекса и количество клеток с аберрантными митозами, для анализа которых использовался анафазный метод. Приготовление препаратов костного мозга: извлекали бедренную кость, очищали ее от мышц, извлекали костный мозг с помощью шприца, выдувая из кости на часовое стекло в 2 капли цитрата натрия (лимоннокислый натрий 3-х замещенный 1, 12%, приготовление: 1,12 г. лимоннокислого натрия помещали в мерный стакан на 100 мл и доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали до полного растворения). Цитрат капали с помощью стеклянной палочки и ею же растирали костный мозг в течение 1 - 2 минут, пока вся капля не стала равномерно мутной. Клетки в этом растворе набухают. Палочкой наносили на предметное стекло небольшие капли и делали мазки. От каждого животного приготавливали 2 - 3 препарата. Препараты подсушивали и фиксировали в метиловом спирте 10 мин. Вновь подсушивали на лотке.

Гидролиз препаратов: в водяную баню ставили стакан с 1-нормальной соляной кислотой (82 см³ соляной кислоты довести до 1000 см³ дистиллированной водой). Нагревали до 55-54 °С. По секундомеру выдерживали препараты строго 10 мин. Затем вынимали и на 5 минут ставили под проточную воду и сразу же окрашивали.

Окраска препаратов костного мозга для цитогенетического исследования: в стакан емкостью 100 см³ наливали 5% раствор Гимза. Погружали в него препараты на 10 минут. Вынимали, промывали под струей водопроводной воды и оставляли для просушивания.

Для определения митотического индекса клеток костного мозга просматривали 3000 клеток, отмечая клетки в стадии деления. По 1000 клеток насчитывали в верхней, средней и нижней частях препарата.

Для подсчета количества аберрантных клеток препарат просматривали, используя объектив 90x с иммерсией, окуляр 10x. Находили 50 - 100 клеток в стадии поздней анафазы ранней телофазы и среди них отмечали клетки с нарушенным митозом. Учитывали такие нарушения, как мосты и фрагменты.

Цитологические и цитогенетические исследования периферической крови и костного мозга лабораторных животных были проведены согласно утвержденной в ГНЦ РФ – ИМБП РАН Методике определения состояния периферической крови и костного мозга животных № 1-104-9-92, 1992.

2.6. Лечебно-профилактические противолучевые средства

Для решения задачи радиационной защиты от ионизирующего излучения фармакологическими препаратами было проведено три группы экспериментов, в которых использовались препараты: пищевая добавка, состоящая из меланина, рекомбинантная форма марганецсодержащей супероксиддисмутазы и вакцина «Гриппол».

В эксперименте с рекомбинантной формой марганецсодержащей супероксиддисмутазы после облучения различным группам животных подкожно вводилась либо rMnSOD (1 мкг/0,5 мл физиологического раствора), либо 0,5 мл официального физиологического раствора (ФР). Три группы облученных животных получали rMnSOD. Две из них получали инъекцию rMnSOD однократно сразу после облучения и были обследованы – одна через 43 ч, другая – через 7 суток после облучения. Третья группа ежедневно получала по одной инъекции препарата в течение шести суток, начиная с первой инъекции сразу после облучения. Обследование этой группы проведено на седьмые сутки после облучения. Три другие облученные группы получали официальный ФР и тестировались параллельно с группами, принимающими препарат rMnSOD. Контрольная необлученная группа не получала никакого лечения. Фермент rMnSOD, используемый в этом исследовании, произведен в лаборатории доктора Aldo Mancini в группе молекулярной биологии и вирусной онкологии Отдела экспериментальной онкологии Национального института рака IrCCS (Неаполь, Италия).

В эксперименте с иммунизацией животных использовали вакцину «Гриппол» производства ФГУП НПО «Микроген» серия С116–1107. Одна доза для человека 0,5 мл содержит 5 мкг гемагглютинаина штаммов вируса гриппа подтипов А(Н₁Н₁ и Н₃Н₂), 11 мкг – типа В, 500 мкг иммуномодулятора – полиоксидония, 50±7,5 мкг мертиолята. Иммунизацию осуществляли в объеме 0,2 мл подкожно в область левой задней лапы (30 голов). Контрольные животные получали по 0,2 мл физиологического раствора хлористого натрия (30 голов). Иммунизацию проводили за 10 суток до облучения. Интактный биоконтроль – 8 голов.

Меланин из производственных отходов гречихи получен в НИИ биологии Иркутского государственного Университета [84], представлен в форме пищевой добавки к пище «Фитоцен». Растворимость в воде на уровне 95-98%, концентрация парамагнитных центров не менее 6×10^{17} спин/г. Меланин растворяли в дистиллированной воде из расчёта 12,5 мг сухого вещества на 100 мл воды. Раствор меланина мыши получали *ad libitum* вместо питьевой воды. Контрольные животные в аналогичных условиях получали дистиллированную воду.

2.7. Статистическая обработка данных

Анализ полученных результатов проведен с помощью общепринятых методов вариационной статистики: нахождение среднего арифметического значения с использованием ошибки среднего, непараметрического критерия Манна-Уитни для расчета статистической значимости на уровне $p < 0,05$, χ^2 , критерия Фишера и программы STATISTICA 10 и Microsoft Office Excel 2010.

Эксперименты по теме диссертации проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12.08.1977) и «Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных» Совета международных медицинских научных организаций (CIOMS), Женева, 1985 г.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Фоторегистрация прохождения пучка протонов через тело мыши

На рисунке 12 представлены результаты регистрации протонного излучения с энергией 171 МэВ на входе в объект и модифицированного гребенчатым фильтром (расширенный пик Брэгга) после прохождения через облучаемый объект на радиохромных пленках GafchromicRTQA-1010P – доза облучения 5 Гр.

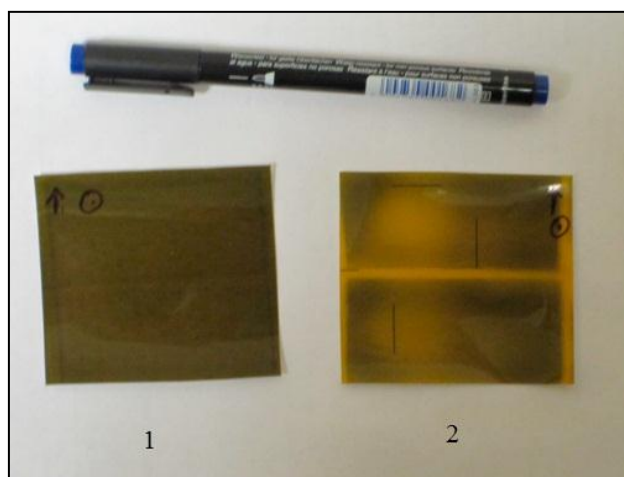


Рисунок 12. Результаты регистрации протонного излучения на радиохромных пленках после прохождения через облучаемый объект (мыши): 1 – протоны с энергией 171 МэВ ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм; 2 – протоны, модифицированные гребенчатым фильтром ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм

Одна пленка (1) была прикреплена к задней крышке клетки с животным на выходе из объекта при облучении протонами с энергией 171 МэВ – эта пленка темная, что свидетельствует о том, что протоны с энергией 171 МэВ, пробег которых в воде или биологической ткани около 20 см, пересекают тела двух мышей, расположенных друг над другом перпендикулярно к оси пучка протонов, практически без потерь и поперечное дозное распределение после прохождения облучаемого объекта практически однородное.

На второй пленке (2) представлен результат фоторегистрации пучка протонов при облучении протонами, модифицированными гребенчатым фильтром. На данной пленке, особенно на верхней части, отображается отчетливое очертание мишени – тела одной из мышей, расположенной перпендикулярно к оси пучка протонов, и это доказывает, что максимальное значение поглощенной дозы (пик Брэгга) было в теле мыши и пленка, находившаяся за телом мыши, находилась в области спада дозы за пиком Брэгга. Часть пучка, прошедшая мимо мыши, воздействовала на пленку, что привело к потемнению. Это изображение подтверждает правильность условий облучения.

Таким образом, очевидно, что протоны с энергией 171 МэВ в минимальной степени поглощаются объектом – телом мыши, в то время как протоны, модифицированные гребенчатым фильтром (в области пика Брэгга) интенсивно поглощаются.

Представленная фоторегистрация прохождения протонного пучка демонстрирует методическую корректность постановки эксперимента.

3.2. Процессы поражения органов кроветворения и иммунитета после протонного излучения с различным уровнем ЛПЭ

Результаты поражения центральных органов иммунитета и кроветворения: клеток костного мозга, селезенки и тимуса, числа лейкоцитов в периферической крови, а также цитогенетических показателей в клетках костного мозга после облучения протонами с разной ЛПЭ в дозах от 1,0 до 5,0 Гр представлены в таблицах 2, 3, 4.

Как видно на таблице 2 облучение в дозе 1 Гр всеми использованными видами излучений через 24 часа после облучения вызывает статистически значимое снижение массы лимфоидных органов: тимуса и селезенки. После облучения протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм среднее значение массы тимуса ниже, чем в остальных изученных группах, наибольшая разница с группой, облучение которой происходило под воздействием протонов с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм, однако, различия не были статистически значимыми. При сравнении результатов, полученных по числу ядродержащих клеток в костном мозге получены статистически значимые различия между группами, облученными протонами с различным уровнем ЛПЭ, так при облучении протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм число кариоцитов костного мозга равно $18 \pm 1,2 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро, при воздействии протонов с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм данный показатель был равен $22,3 \pm 1,6 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро, различия статистически значимы. По числу лейкоцитов в периферической крови значимых различий не было достигнуто между группами, облученными протонами. Было получено статистически значимое различие с группой, облученной для сравнения γ -квантами ^{60}Co в тех же дозах – большее поражение при облучении протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм $1,4 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ и $1,5 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм по сравнению с $2 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$ у группы мышей, облученных γ -квантами ^{60}Co .

Как известно, наиболее чувствительными к ионизирующему излучению являются быстро пролиферирующие клетки [132]. В эксперименте были изучены клетки костного мозга. Самыми информативными показателями в таком случае являются: митотический индекс и количество aberrantных митозов. В таблице 2 приведены цитогенетические показатели клеток костного мозга интактных и облученных животных.

Таблица 2. Влияние облучения мышей CD-1 самок протонами с различным уровнем ЛПЭ в дозе 1,0 Гр на состояние кроветворения и иммунитета ($M \pm m$) через 24 часа после воздействия радиации

№	Группа	Число мышей (n)	Масса тела (г)	Масса тимуса (мг)	Масса селезенки (мг)	Число ядросодержащих клеток в костном мозге $n \times 10^6$ /бедро	Число лейкоцитов в периферической крови $n \times 10^9$ /л	Цитогенетические показатели клеток костного мозга	
								Митотический индекс (%)	Количество абберрантных митозов (%)
1	Протоны ЛПЭ1,6 кЭВ/мкм	11	28,3±0,4	32,8±3,3#	71,3±6,9#	18±1,2**, #	1,4±0,1***, #	1,3±0,4	17,8±1,4
2	Протоны 171 МэВ ЛПЭ 0,49 кЭВ/мкм	12	28,5±0,7	38,2±4,2#	73±7,2#	22,3±1,6	1,5±0,1***, #	1,4±0,03	14,4±1,2#
3	γ-кванты ⁶⁰ Со ЛПЭ 0,3 кЭВ/мкм	6	27,7±0,91	34,8±5,7#	74,2±3,8#	16,8±2,3**, #	2±0,2	1,2±0,2	11,9±1,4*, #
4	БК	7	29,7±0,6	62,3±5,7	100,6±11,9	26,2±1,2	5,2±1,6***	1,7±0,2	1,5±0,7*

Примечание: * статистически значимая разница по сравнению с 1-ой группой, $p < 0,05$;

** статистически значимая разница по сравнению со 2-ой группой, $p < 0,05$;

*** статистически значимая разница по сравнению с 3-ой группой, $p < 0,05$;

статистически значимая разница по сравнению с 4-ой группой, $p < 0,05$

В группе животных, облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм, количество aberrantных митозов было выше $17,8 \pm 1,4\%$ по сравнению с группой животных, облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм – $14,4 \pm 1,2\%$, и выше, чем у группы животных, облученных γ -квантами ^{60}Co $11,9 \pm 1,4\%$, в последнем случае полученная разность статистически значима. Полученная разница между группами экспериментальных животных, облученных протонами с различными уровнями ЛПЭ статистически не значима. Митотический индекс у группы животных облученных протонами с высокой ЛПЭ ниже, чем у групп экспериментальных животных, облученных протонами с низкой ЛПЭ и выше, чем у животных, подверженных воздействию γ -квантами ^{60}Co , однако, разница статистически не значима. Таким образом, наиболее чувствительным показателем, характеризующим радиобиологический эффект протонов с различным уровнем ЛПЭ при облучении в дозе 1 Гр, является число кариоцитов в костном мозге (рисунок 15).

Увеличение дозы облучения до 2,5 Гр привело к увеличению радиобиологического эффекта по показателям масс лимфоидных органов и системы кроветворения (таблица 3). Видно, что в изученных группах произошло снижение массы тимуса. Выраженное снижение отмечено в группе экспериментальных животных, облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм до $33,1 \pm 3,6$ мг по сравнению с группой биоконтроля ($40 \pm 2,7$ мг). В группах мышей, облученных в дозе 2,5 Гр, прослеживается та же тенденция, что и при облучении в дозе 1 Гр, т.е. масса тимуса после облучения протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм ниже, чем после облучения протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм. Еще ниже этот показатель был в группе животных, облученных γ -квантами ^{60}Co . По массе селезенки поражающий эффект между группами протонов не различается.

По числу ядросодержащих клеток в костном мозге статистически значимых различий между группами, облученными протонами с разной ЛПЭ достигнуто не было, после облучения протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм поражение на 8% более выражено. Однако наивысший поражающий эффект отмечен при облучении γ -квантами. Разница с группой экспериментальных животных, подверженных облучению γ -квантами ^{60}Co была более чем двукратная. Показатель у животных, облученных γ -квантами ^{60}Co составил $9,2 \pm 0,4 \times 10^6$ ядросодержащих клеток на бедро по сравнению с $19 \pm 1,4 \times 10^6$ ядросодержащих клеток на бедро и $20,6 \pm 0,8 \times 10^6$ ядросодержащих клеток на бедро, соответственно, для животных, облученных протонами, различия статистически значимы, т.е. поражающее действие γ -излучения превзошло радиобиологический эффект протонного излучения. Иной характер носит радиобиологический эффект протонов и γ -квантами ^{60}Co по показателю числа лейкоцитов в периферической крови. Так для протонов с высоким и низким уровнем ЛПЭ этот показатель равен $0,7 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ и $0,5 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$, а для γ -квантами ^{60}Co $1,05 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$, разница статистически значима.

Таблица 3. Влияние облучения мышей CD-1 самок протонами с различным уровнем ЛПЭ в дозе 2,5 Гр на состояние кроветворения и иммунитета ($M \pm m$) через 24 часа после воздействия радиации

№	Группа	Число мышей (n)	Масса тела (г)	Масса тимуса (мг)	Масса селезенки (мг)	Число ядродержащих клеток в костном мозге $n \times 10^6$ /бедро	Число лейкоцитов в периферической крови $n \times 10^9$ /л
1	Протоны ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм	6	29±0,4	33,1±3,6	67,33±2,6**	19±1,4*	0,7±0,1*,**
2	Протоны 171 МэВ ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм	6	30±0,6	34,5±3,1	67±4,1**	20,6±0,8*	0,5±0,03*,**
3	γ -кванты ^{60}Co ЛПЭ 0,3 кэВ/мкм	6	31±0,6	28,67±2,3**	60,67±2,7**	9,2±0,4	1,05±0,1
4	БК	9	30,3±0,7	40±2,7	96,6±5,9	21±1,3*	3,8±0,9*

Примечание: * статистически значимая разница по сравнению с 3-ой группой, $p < 0,05$;

** статистически значимая разница по сравнению с 4-ой группой, $p < 0,05$;

При облучении животных пучками протонов с различным уровнем ЛПЭ в дозе 5 Гр наблюдаемые радиобиологические эффекты становятся более выраженными. Представленные в таблице 4 данные показывают, что через 24 часа после облучения у животных снижается масса тимуса и селезенки – центральных органов иммуногенеза, кроме того, заметно отчетливое снижение числа клеток в костном мозге и периферической крови. Что касается цитогенетических показателей клеток костного мозга, то у группы мышей, облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм количество абберрантных митозов больше, а митотический индекс ниже, по сравнению с другими экспериментальными группами. Данные, приведенные в таблице 4, демонстрируют тенденцию усиления радиобиологического эффекта протонов с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм по сравнению с протонами с энергией 171 МэВ с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм по всем изученным показателям.

У группы мышей через 24 часа после облучения протонами с высоким уровнем ЛПЭ масса селезенки меньше, чем у мышей, облученных в той же дозе протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм ($55,8 \pm 7,2$ мг и $64,6 \pm 12,9$ мг, соответственно). По массе тимуса отмечена та же тенденция: после облучения протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм его масса органа ниже, чем при облучении протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм.

После облучения γ -квантами ^{60}Co поражающий эффект по показателям массы тимуса и селезенки и числа клеток в костном мозге по сравнению с протонами был статистически значимо выше. По числу лейкоцитов в периферической крови после облучения ^{60}Co поражающий эффект значительно ниже, чем при облучении протонами, особенно с высоким уровнем ЛПЭ ($1,9 \pm 0,4 \times 10^9/\text{л}$ и $1,04 \pm 0,3 \times 10^9/\text{л}$).

В таблице № 4 и рисунках 13, 14 приведены цитогенетические показатели клеток костного мозга интактных и облученных животных. У группы животных, облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм количество абберрантных митозов выше на 6% ($63,4 \pm 2,3\%$) по сравнению с группой животных, облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм ($57,4 \pm 3,2\%$), и на 21% выше, чем у группы животных, облученных γ -квантами ^{60}Co ($42,5 \pm 5,9\%$), полученная разность статистически значима. Однако различие между группой экспериментальных животных, облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм и животных, облученных протонами с энергией 171 МэВ (ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм) статистически не значимо. Различия по митотическому индексу в исследуемых группах статистически не значимы.

Таблица 4. Влияние облучения мышей CD-1 самок протонами с различным уровнем ЛПЭ в дозе 5,0 Гр на состояние кроветворения и иммунитета ($M \pm m$) через 24 часа после воздействия радиации

№	Группа	Число мышей (n)	Масса тела (г)	Масса тимуса (мг)	Масса селезенки (мг)	Число ядродержащих клеток в костном мозге $n \times 10^6$ /бедро	Число лейкоцитов в периферической крови $n \times 10^9$ /л	Цитогенетические показатели клеток костного мозга (%)	
								Митотический индекс	Количество aberrantных митозов
1	Протоны ЛПЭ 1,6 кЭВ/мкм	6	27,8±2,03	40,6±13,4	55,8±7,2**	14,7±0,7**	1,04±0,3	1±0,05**	63,4±2,3*,**
2	Протоны 171 МэВ ЛПЭ 0,49 кЭВ/мкм	6	28,5±2,46	44,5±9,6*	64,6±12,9**	17,5±2,3*	1,8±0,7	1,06±0,3**	57,4±3,2*,**
3	γ -кванты ^{60}Co ЛПЭ 0,3 кЭВ/мкм	6	30,1±0,8	25±2,7	48,6±4,1**	11,6±1,7	1,9±0,4	1,09±1,2	42,5±5,9**
4	БК	12	29,4±1,03	52,9±10,4*	103,5±10,2	21,3±1,4*	4,5±1,8	1,8±0,1	1,58±0,4*

Примечание: * статистически значимая разница по сравнению с 3-ой группой, $p < 0,05$;

** статистически значимая разница по сравнению с 4-ой группой, $p < 0,05$

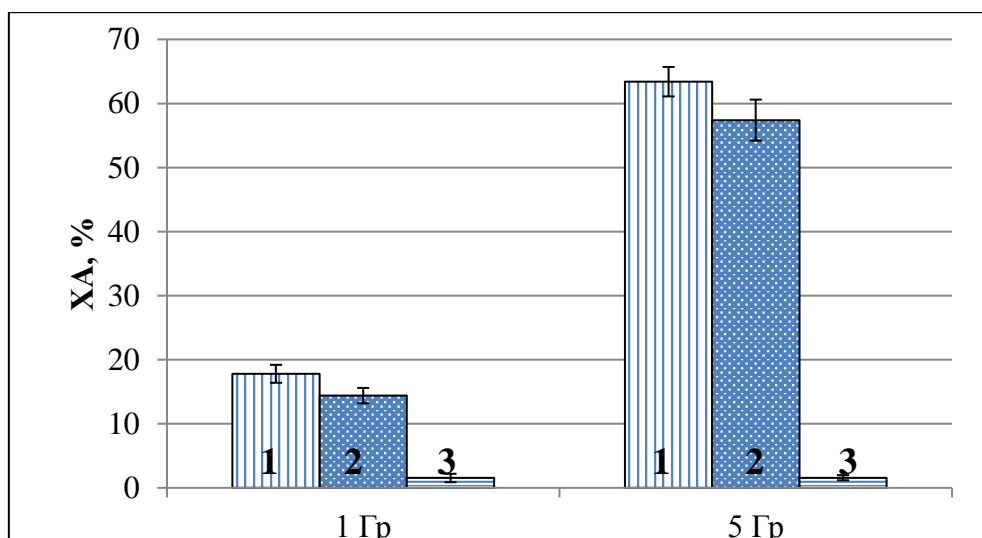


Рисунок 13. Уровень хромосомных aberrаций (ХА) клеток костного мозга мышей CD-1 через 24 часа после облучения протонами с различным уровнем ЛПЭ в разных дозах
 1 – протоны ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм; 2 – протоны ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм; 3 – БК

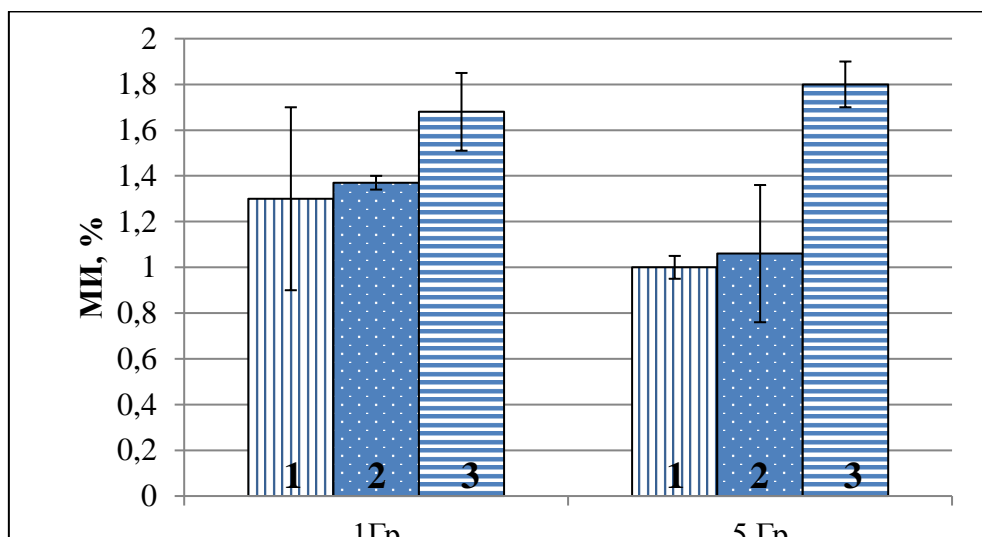


Рисунок 14. Митотический индекс (МИ) клеток костного мозга мышей CD-1 через 24 часа после облучения протонами с различным уровнем ЛПЭ в разных дозах
 1 – протоны ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм; 2 – протоны ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм; 3 – БК

На рисунке 15 проведено сопоставление влияния облучения мышей CD-1 протонами с различным уровнем ЛПЭ на уровень ядросодержащих клеток в костном мозге через 24 часа после воздействия радиации. Как видно на рисунке облучение протонами с высоким уровнем ЛПЭ во всем дозовом диапазоне приводит к увеличению радиобиологического эффекта по сравнению с протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм, причем наибольшее различие наблюдается при облучении в дозе 1 Гр. После облучения γ -квантами ^{60}Co отмечается явное усиление поражающего действия в дозе 2,5 Гр по сравнению с протонным облучением, различия статистически значимы.

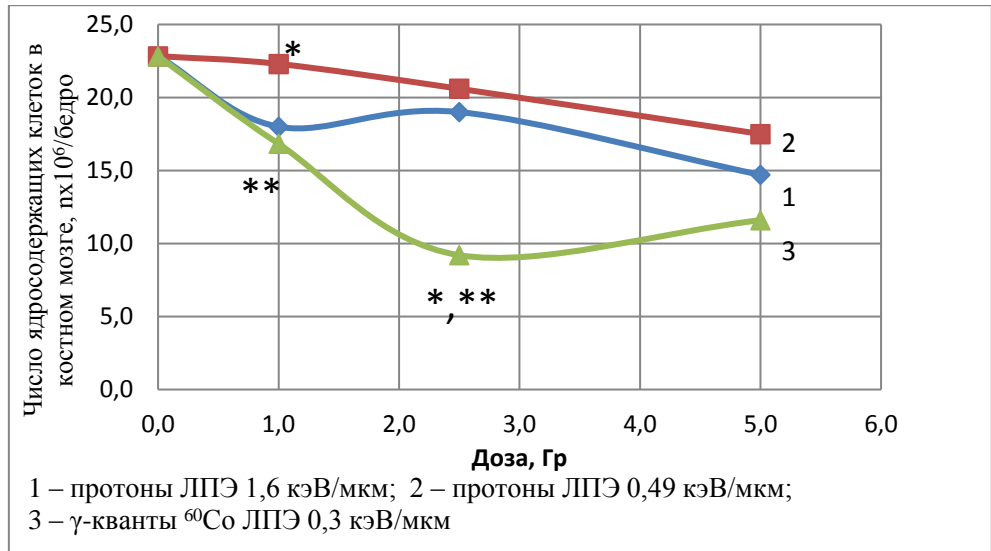


Рисунок 15. Влияние облучения мышей CD-1 протонами с различным уровнем ЛПЭ на уровень ядросодержащих клеток в костном мозге через 24 часа после воздействия радиации

* статистически значимая разница по сравнению с 1-ой группой, $p < 0,05$; ** статистически значимая разница по сравнению со 2-ой группой, $p < 0,05$

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. Можно сделать вывод о том, что протоны с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм обладают большим поражающим эффектом в сравнении с протонами (171 МэВ) с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм. Полученные нами данные хорошо согласуются с результатами изучения клеточных культур и изолированных клеток, демонстрирующими большой поражающий эффект протонов в области пика Брэгга по сравнению с высокоэнергетичными протонами [25, 190]. В то же время следует отметить, что поражающий радиобиологический эффект γ -излучения ⁶⁰Со оказался в большинстве опытов выше, чем у протонов в первые 24 часа после облучения, что может указывать на величину ОБЭ для протонов исследуемых энергий равную или меньше 1,0. По показателям цитогенетических исследований ОБЭ протонов больше 1,0 при облучении в дозах 1 и 5 Гр. В работе [21] была показана зависимость ОБЭ протонов от их ЛПЭ, эта зависимость была получена при изучении действия протонов различных энергий на эпителий роговицы мышей и ОБЭ стремилась к 7 для случая протонов с энергией 10 МэВ, однако, для протонов с энергией 50-645 МэВ ОБЭ была близка 1, что согласуется с полученными в нашей работе данными, что свидетельствует о близком характере поражения протонами и γ -излучением. Можно заключить, что ОБЭ является величиной переменной, зависящей от ЛПЭ частиц, величины и мощности дозы,

наличие или отсутствие кислорода. ОБЭ протонов меняется в зависимости от объекта исследования, типа ткани, дозы и энергии протонов.

Полученные данные указывают на преимущественное значение выбранного для определения величины ОБЭ показателя, так по лимфоидным органам: тимуса и селезенки ОБЭ при дозе облучения 1 Гр больше 1, при дозах облучения 2,5 и 5 Гр – меньше 1; по числу ядросодержащие клеток костного мозга ОБЭ во всех изученных дозах меньше 1; по числу лейкоцитов в периферической крови ОБЭ во всех дозах больше 1; по количеству хромосомных aberrаций ОБЭ в дозах 1 и 5 Гр больше 1; по уровню митотического индекса при дозах 1 и 5 Гр ОБЭ носит разнонаправленный характер. Таким образом, ОБЭ имеет переменный характер в зависимости от дозы и показателя, выбранного для изучения.

Данное обстоятельство может найти объяснение как с точки зрения особенностей взаимодействия протонов с тканями организма, так и следствием неравномерности облучения.

Представленные результаты в определенной мере согласуются с литературными данными [25, 42, 67], касающимися особенностей эффективности протонного облучения, а с другой, дополняют их, поскольку в одном эксперименте получены сведения, указывающие на разнонаправленность показателя ОБЭ – меньше или больше 1,0, как например, по показателям числа кардиоцитов в костном мозге и числа лейкоцитов в периферической крови.

Подводя итог вышеизложенному в данном разделе, стоит отметить, что нами получены статистически значимые различия при облучении протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм в дозе 1 Гр по показателю числа ядросодержащих клеток в костном мозге в сравнении с группой мышей, облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм ($18 \pm 1,2 \times 10^6$ и $22,3 \pm 1,6 \times 10^6$ ядросодержащих клеток на бедро), обследование проводилось через 24 часа после облучения. Также было отмечено статическое значимое различие по данному показателю между группами мышей, облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм и γ -квантами ^{60}Co ($22,3 \pm 1,6 \times 10^6$ и $16,8 \pm 2,3 \times 10^6$ ядросодержащих клеток на бедро). По выходу aberrантных митозов также отмечено статистически значимое различие между группами мышей, облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм и γ -квантами ^{60}Co ($17,8 \pm 1,4\%$ и $11,9 \pm 1,4\%$, соответственно). По показателю числа лейкоцитов в периферической крови отмечены статистически значимые различия между группами мышей, облученных протонами с разной ЛПЭ по отношению к γ -облучению, где этот показатель был выше, т.е. более выраженное снижение этого показателя отмечено после облучения протонами. Схожая картина наблюдается после облучения в дозе 2,5 Гр. Отмечается статистически значимое более глубокое снижение числа ядросодержащих клеток в костном мозге после облучения γ -квантами ^{60}Co по сравнению с группами мышей, облученных протонами с разной ЛПЭ. Уровень лейкоцитов в периферической крови после облучения γ -квантами ^{60}Co в дозе 2,5 Гр в два раза выше, чем при

облучении протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм, различия статистически значимы. Разница между группами, облученными протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм и γ -квантами ^{60}Co менее выражена, однако, статистически значима ($0,7 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ и $1,05 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$, соответственно). Снижение уровня лейкоцитов в периферической крови облученных протонами животных, по сравнению с группой, облученных γ -квантами ^{60}Co мы склонны связать с замедлением выхода лейкоцитов из костного мозга. Полученные нами данные согласуются с работой [216], в которой, по мнению авторов, снижение количества лейкоцитов и лимфоцитов определяется главным образом дозой облучения, и вклад мощности дозы и энергии протонов в радиобиологические эффекты минимален.

При дозе облучения 5 Гр, отмечено статистическое значимое различие по массе тимуса между группами облученными протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм и γ -квантами ^{60}Co ($44,5 \pm 9,6$ мг и $25 \pm 2,7$ мг, соответственно). Число ядродержащих клеток в костном мозге имеет схожую тенденцию – статистически значимый более низкий уровень этого показателя после облучения γ -квантами ^{60}Co по сравнению с протонами (ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм). По количеству абберрантных митозов наблюдаются статистически значимые различия между группами протонов и γ -квантами ^{60}Co ; уровень этого показателя выше у группы протонов с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм, что свидетельствует о более выраженном повреждении клеток костного мозга ($63,4 \pm 2,3\%$ по сравнению с $42,5 \pm 5,9\%$ у γ -квантами ^{60}Co).

Полученные нами данные, согласуются с экспериментами на крысах, в которых отмечалось более выраженное поражение кроветворной ткани после γ -облучения по сравнению с протонным пучком с энергией 120 МэВ, и восстановление числа клеток костного мозга происходило интенсивнее [96].

3.3. Восстановление органов кроветворения и иммунитета после протонного излучения с различным уровнем ЛПЭ

Данные об уровне восстановления органов кроветворения и иммунитета мышей через 8 суток после протонного излучения с различным ЛПЭ в дозах 1,0, 2,5 и 5,0 Гр представлены в таблицах 5, 6, 7.

По результатам, полученным в работе, видно, что после облучения в дозе 1 Гр произошло гипервосстановление массы тимуса в группах животных, облученных протонами как с высоким уровнем ЛПЭ, так и с низким на 11 и 5%, соответственно, по сравнению с биоконтролем (таблица 5). Наибольшее гипервосстановление отмечено у группы животных, облученных γ -квантами ^{60}Co . По массе селезенке произошло отчетливое восстановление во всех группах животных, подвергшихся воздействию γ -квантов ^{60}Co . Можно отметить, что воздействие протонов в дозе 1 Гр приводит к более интенсивному восстановлению при ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм как тимуса, так и

селезенки. При сопоставлении результатов после облучения протонами (ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм) и γ -квантами ^{60}Co получено статистически значимое различие по показателю массы тимуса, числу кариоцитов костного мозга и лейкоцитов в периферической крови, что свидетельствует об ускоренном восстановлении после облучения γ -квантами ^{60}Co . По показателям кроветворения, можно отметить ускоренное восстановление числа ядродержащих клеток в костном мозге после облучения протонами с низкой ЛПЭ по сравнению с протонами с высокой ЛПЭ. По числу лейкоцитов в периферической крови наблюдается похожая ситуация – восстановление в группе с низкой ЛПЭ опережает показатели в группе с высокой ЛПЭ.

У группы мышей, облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм число aberrантных митозов выше, чем у группы мышей, облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм на 40%, полученная разница статистически значима. Различия показателя митотического индекса у группы животных, облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм, по сравнению с животными, облученными протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм статистически не значимы.

При увеличении дозы воздействия до 2,5 Гр (таблица 6) стоит отметить практически полное восстановление массы тимуса у экспериментальных животных после облучения протонами, как с низким, так и с высоким уровнем ЛПЭ, однако, после воздействия протонов с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм восстановление более выражено ($37,3 \pm 3$ мг и $32 \pm 2,4$ мг, соответственно). По массе селезенки отмечается та же тенденция. Восстановление массы селезенки наблюдается как при облучении протонами с низким, так и высоким уровнем ЛПЭ, однако, при облучении протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм восстановление более выражено ($90,8 \pm 7,4$ мг и $82,3 \pm 4,2$ мг, соответственно).

Таблица 5. Влияние облучения мышей CD-1 самок протонами с различным уровнем ЛПЭ в дозе 1,0 Гр на состояние кроветворения и иммунитета ($M \pm m$) через 8 суток после воздействия радиации

№	Группа	Число мышей (n)	Масса тела (г)	Масса тимуса (мг)	Масса селезенки (мг)	Число ядросодержащих клеток в костном мозге $n \times 10^6$ /бедро	Число лейкоцитов в периферической крови $n \times 10^9$ /л	Цитогенетические показатели клеток костного мозга	
								Митотический индекс (%)	Количество абберрантных митозов (%)
1	Протоны ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм	6	28,67±0,5	55,3±2,92	100±8	16,7±0,6	1,9±0,7	1,3±0,1	12,1±1,6
2	Протоны 171 МэВ ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм		29,83±0,87	52,17±5,27	89,33±6,14	19,67±2,82	2,28±0,22	1,5±0,2	7,5±0,7*
3	γ -кванты ^{60}Co ЛПЭ 0,3 кэВ/мкм		28±0,58	65,5±2,28*,**	99,67±3	20,23±1,65*	3,47±0,29*,**	–	–
4	БК	9	29,33±0,88	49,67±8,88	97,67±16,97	25,07±0,68	11,08±1,31	1,7±0,6	1,6±0,5*,**

Примечание: * статистически значимая разница по сравнению с 1-ой группой, $p < 0,05$

** статистически значимая разница по сравнению со 2-ой группой, $p < 0,05$

Таблица 6. Влияние облучения мышей CD-1 самок протонами с различным уровнем ЛПЭ в дозе 2,5 Гр на состояние кроветворения и иммунитета ($M \pm m$) через 8 суток после воздействия радиации

№	Группа	Число мышей (n)	Масса тела (г)	Масса тимуса (мг)	Масса селезенки (мг)	Число ядросодержащих клеток в костном мозге $n \times 10^6$ /бедро	Число лейкоцитов в периферической крови $n \times 10^9$ /л
1	Протоны ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм	12	31,4±1	37,3±3*	90,8±7,4**	20,4±0,6*	2,4±0,8**
2	Протоны 171 МэВ ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм	6	31,2±0,8	32±2,4	82,3±4,2**	23,3±3,4	3,4±0,6*
3	γ -кванты ^{60}Co ЛПЭ 0,3 кэВ/мкм	6	33±0,82	29,17±2,32**	86,17±7,93**	16,43±0,87**	1,7±0,18**
4	БК	9	31,6±1	37,6±3,2	112±7,3	24±1,2	5,2±0,6

Примечание: * статистически значимая разница по сравнению с 3-ой группой, $p < 0,05$

** статистически значимая разница по сравнению с 4-ой группой, $p < 0,05$

Немного иная картина по числу ядродержащих клеток костного мозга – более выраженное восстановление у группы экспериментальных животных, облученных протонами с низким уровнем ЛПЭ, по сравнению с облучением протонами с высоким уровнем $23,3 \pm 3,4 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро и $20,4 \pm 0,6 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро, соответственно. Число лейкоцитов периферической крови у группы животных, облученных протонами с высоким уровнем ЛПЭ, было в два раза ниже, чем у группы биоконтроля, и на 30% ниже, чем при облучении протонами с низким уровнем ЛПЭ, что согласуется с данными по костномозговому кроветворению.

Масса тимуса, как после облучения протонами в дозе 5 Гр (таблица 7) с низкой ЛПЭ, так и после облучения протонами с высокой ЛПЭ, восстановилась практически до уровня биоконтроля. У группы мышей, облученных γ -квантами ^{60}Co в этой же дозе восстановление показателя отстает от групп мышей, облученных протонами, и составляет $30,4 \pm 4$ мг по сравнению с $41,6 \pm 10,7$ мг и $36,3 \pm 3,5$ мг, соответственно, для протонов с высоким и низким уровнем ЛПЭ. Показатели массы селезенки указывают на замедление восстановления. При этом, в группе животных, облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм, масса селезенки немного выше по сравнению с массой селезенки у группы мышей, облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм, однако, разница статистически не значима. После облучения γ -квантами ^{60}Co в дозе 5 Гр масса селезенки у мышей на 8 сутки после облучения составила $36,8 \pm 2,9$ мг, что практически в 3 раза ниже, чем у интактных животных, и на 5-12% ниже, чем у групп мышей, облученных протонами с различным уровнем ЛПЭ, однако, разница статистически не значима.

Согласно полученным данным после облучения в дозе 5 Гр число лейкоцитов в периферической крови имеет отчетливую тенденцию к восстановлению как у животных облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм, так и в группе мышей облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм. Число клеток костного мозга также имеет отчетливое стремление к восстановлению после облучения протонами обоих видов. Если сравнивать группу мышей, облученных с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм, и группу мышей, облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм, то отмечается тенденция более быстрого восстановительного процесса в группе мышей, облученных протонами с низкой ЛПЭ, так же как и при дозе облучения 2,5 Гр. Число ядродержащих клеток в костном мозге в группе мышей, облученных γ -квантами ^{60}Co , равно показателю в группе животных, подвергшихся воздействию протонов с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм, и выше, чем у мышей, облученных протонами с высоким уровнем ЛПЭ, по числу лейкоцитов в периферической крови после воздействия γ -квантами ^{60}Co восстановление отстает, разница статистически не значима.

Таблица 7. Влияние облучения мышей CD-1 протонами в области пика Брэгга в дозе 5,0 Гр на состояние кроветворения и иммунитета (M±m) через 8 суток после облучения

№	Группа	Число мышей (n)	Масса тела (г)	Масса тимуса (мг)	Масса селезенки (мг)	Число ядродержащих клеток в костном мозге $n \times 10^6 / \text{бедро}$	Число лейкоцитов в периферической крови $n \times 10^9 / \text{л}$	Цитогенетические показатели клеток костного мозга (%)	
								Митотический индекс	Количество абберрантных митозов
1	Протоны ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм	6	30,3±1,3	41,6±10,7	42,2±3,4	13,5±2,3**	2,1±0,5	0,9±0,15	43,9±1,1**
2	Протоны 171 МэВ ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм	6	30,1±1,54	36,3±3,5	49,5±8,12**	16,3±3,1	2,02±0,3	1,7±0,11*	31,7±3,4*,**
3	γ-кванты ^{60}Co ЛПЭ 0,3 кэВ/мкм	6	25±2	30,4±4	36,8±2,9**	16,2±1,8**	1,5±0,3	–	–
4	БК	6	30,3±1,08	42,1±12,3	105,3±20,1*	22,7±1,8	4,3±1,9	1,7±0,5	1±0,1

Примечание: * статистически значимая разница по сравнению с 1-ой группой, $p < 0,05$

** статистически значимая разница по сравнению с 4-ой группой, $p < 0,05$

У группы мышей, облученных протонами (ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм) абберантных митозов больше, чем у группы мышей, облученных протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм на 12%, полученная разница статистически значима (рисунок 16). Митотический индекс у группы животных, облученных протонами с низкой ЛПЭ, практически в два раза выше, по сравнению с животными, облученными протонами с высокой ЛПЭ, разница статистически значима (рисунок 17).

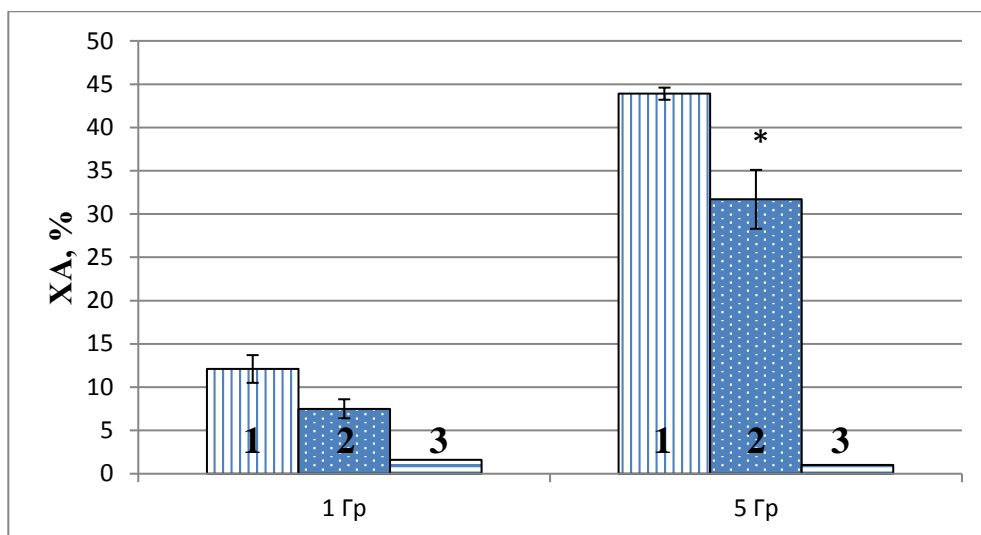


Рисунок 16. Уровень хромосомных aberrаций (ХА) клеток костного мозга мышей CD-1 через 8 суток после облучения протонами с различным уровнем ЛПЭ в разных дозах

1 – протоны ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм; 2 – протоны ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм; 3 – БК

* статистически значимая разница по сравнению с 1-ой группой, $p < 0,05$

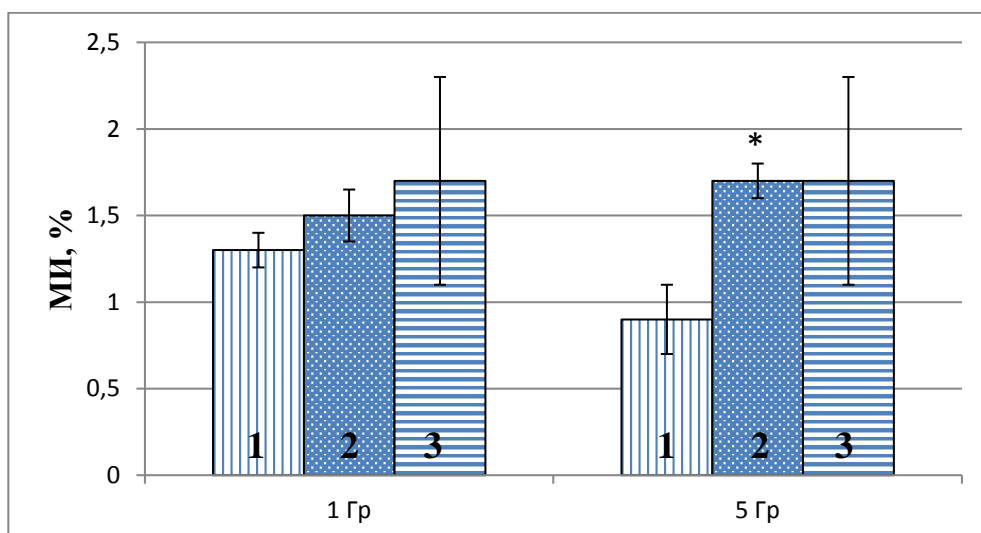


Рисунок 17. Митотический индекс (МИ) клеток костного мозга мышей CD-1 через 8 суток после облучения протонами с различным уровнем ЛПЭ в разных дозах

1 – протоны ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм; 2 – протоны ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм; 3 – БК

* статистически значимая разница по сравнению с 1-ой группой, $p < 0,05$

Поскольку восприятие объемных таблиц является достаточно затруднительным, мы сочли необходимым проиллюстрировать результаты по числу ядросодержащих клеток в костном мозге рисунками.

На рисунке 18 продемонстрированы результаты эффекта восстановления показателя клеточности костного мозга на 8 сутки после облучения, т.е. в период восстановления. Как видно на рисунке восстановление после воздействия протонами с высоким и низкой ЛПЭ имеет схожую зависимость во всем диапазоне доз, т.е. восстановление этого показателя у мышей, облученных протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм медленнее, чем после облучения протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм. Следует отметить отсутствие дозовой зависимости процессов восстановления после облучения протонами, в отличие от эффектов после облучения γ -квантами ^{60}Co .

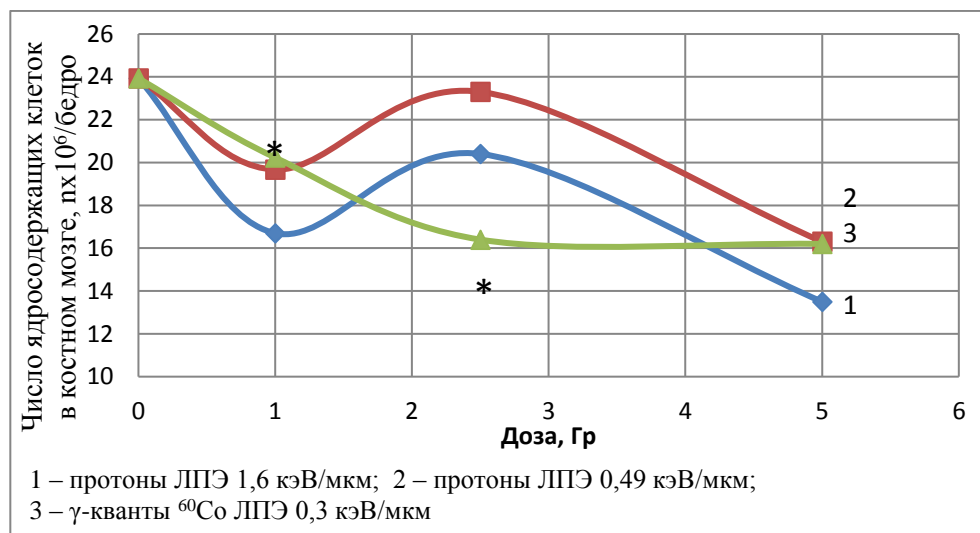


Рисунок 18. Влияние облучения мышей CD-1 протонами с различным уровнем ЛПЭ на уровень ядросодержащих клеток в костном мозге через 8 суток после воздействия радиации
* статистически значимая разница по сравнению с 1-ой группой, $p < 0,05$

Таким образом, во всех исследуемых группах, по массе тимуса, числу кардиоцитов костного мозга и числу лейкоцитов в периферической крови отмечаются тенденции к восстановлению показателей. После облучения в дозе 5 Гр протонами с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм эти показатели, а также цитогенетические показатели восстанавливаются медленнее, чем после облучения протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм.

В наших экспериментах показано, что облучение протонами с увеличенным ЛПЭ обладает более выраженным эффектом поражения кроветворения по сравнению с протонами на входе в объект по большинству изученных показателей. Установлено, что после облучения протонами с высокой ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм несколько снижается течение восстановительных процессов центральных органов гемопоэза и иммунитета по сравнению с действием протонов с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм.

Для более наглядной картины полученных результатов была составлена сводная таблица № 8 выраженности поражающего эффекта облучения протонами с различным уровнем ЛПЭ по отношению друг к другу и к γ -квантам ^{60}Co . Можно отметить, что полученные в работе различия

между исследуемыми группами не везде статистически значимы, однако, по таблице 8 видно, что при дозах излучения 1,0 и 5,0 Гр поражающий эффект протонного облучения с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм в большинстве случаев выше, чем при облучении протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм. В то же время, поражающий эффект протонного излучения по сравнению с γ -квантов ^{60}Co ниже, в то время как цитогенетические эффекты при облучении протонами более существенны.

Таблица 8. Качественное сопоставление уровня поражающего эффекта протонов с различной ЛПЭ

Показатели	Поражающий эффект протонов с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм больше, чем поражающий эффект протонов с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм	Поражающий эффект γ -квантов ^{60}Co больше, чем поражающий эффект протонов
Гематологические	10*/12#	7**/12
Цитогенетические	2/4	1/4

Примечание: *числитель – число показателей, свидетельствующих о большем поражающем эффекте протонов с высоким уровнем ЛПЭ, по сравнению с протонами с низким ЛПЭ; **числитель – число показателей, свидетельствующих о большем поражающем эффекте γ -квантов ^{60}Co ; знаменатель – общее число рассмотренных показателей.

#Различия статистически значимы по критерию χ^2 и составляет 6,635; $p < 0,01$

Полученные результаты позволяют сделать следующие заключения. Различия в повреждающем эффекте γ -излучения ^{60}Co и протонов, а также процессы восстановления зависят от дозы облучения и критерия оценки. При облучении в дозе 1 Гр γ -кванты ^{60}Co обусловили большее снижение числа клеток костного мозга и в то же время меньшее поражение хромосомного аппарата. Лимфоидные органы поражались практически в одинаковой степени. При этой дозе облучения по показателям массы тимуса, числа клеток костного мозга и числу хромосомных aberrаций поражающий эффект протонов с высокой ЛПЭ превысил действие протонов с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм.

При увеличении дозы облучения до 2,5 Гр отмечен больший поражающей эффект γ -квантов по сравнению с действием протонов по показателям массы лимфоидных органов и числа клеток в костном мозге. Разницы в действии протонов различных энергий не отмечено.

При дальнейшем увеличении дозы облучения до 5 Гр различия в поражающем действии γ -квантов ^{60}Co по отношению к эффекту протонов сохранилась: лимфоидные органы и костный мозг повреждаются сильнее при облучении γ -квантами ^{60}Co по сравнению с протонами. Повреждающее действие протонов с высоким уровнем ЛПЭ по всем изученным показателям превысило эффекты протонов с низкой ЛПЭ. Полученные нами данные о биологической эффективности протонов с ЛПЭ 0,49 и 1,6 кэВ/мкм в определенной мере согласуются с литературными данными [см. главу 1, раздел 2.3.] указывающими на то, что в экспериментах на

грызунах ОБЭ протонов в широком энергетическом спектре колеблется от 0,54 до 6,97 в зависимости от физических факторов и биологического показателя, выбранного для оценки радиобиологического эффекта.

Принципиальным отличием является существенно больший цитогенетический эффект протонов в отношении клеток костного мозга, особенно при облучении в дозе 1 Гр, тогда как различия в общем числе кариоцитов в костном мозге были не столько значительными, так же, как и различия по состоянию лимфоидных органов.

Появление в клетках мостов и фрагментов хромосом является, как правило, предвестником гибели клеток. Учитывая это обстоятельство, можно предположить, что в ходе дальнейшего развития лучевого поражения значительная часть клеток костного мозга погибает и таким образом в определенной мере нивелируются различия в числе клеток в костном мозге между группами животных, облученных γ -квантами и протонами, и радиобиологический эффект этих видов излучения сравнивается. В этом случае величина ОБЭ приблизится к 1,0 и кажущееся противоречие с литературными данными будет нивелировано.

Во всем исследованном диапазоне доз радиобиологический эффект протонов с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм по показателям числа кариоцитов в костном мозге и уровню цитогенетических повреждений превышал эффект протонов с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм. Полученные результаты согласуются с данными [46], демонстрирующими увеличение числа повреждений хромосомного аппарата лимфоцитов периферической крови человека, ОБЭ протонов с энергией 171 МэВ близка к стандартному γ -излучению и определена на уровне 1, в то время как в области пика Брэгга составила 1,25.

Несколько иные закономерности мы наблюдаем при анализе результатов, характеризующих уровень пострадиационного восстановления, при этом также имеет место быть зависимость как от вида облучения и дозы радиации, так и от исследованного критерия. При дозе облучения 1 Гр масса тимуса, число кариоцитов в костном мозге и число лейкоцитов в периферической крови выше после γ -облучения, нежели после воздействия протонов, эти различия практически нивелируются при увеличении дозы облучения до 2,5 и 5,0 Гр.

Во всем дозовом диапазоне по большинству изученных показателей восстановление в группе животных, облученных протонами с низкой ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм, опережает таковые после воздействия протонов с высоким уровнем ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм.

Таким образом, можно сделать заключение о более высокой радиобиологической эффективности протонов с высоким уровнем ЛПЭ в экспериментах *in vivo*, регистрируемой даже в весьма небольшом интервале величин ЛПЭ от 0,49 до 1,6 кэВ/мкм, при этом ОБЭ протонов – величина переменная, зависящая от величины дозы облучения и показателя радиобиологической эффективности. Предложенные в данной работе экспериментальные условия для изучения

влияния протонов с высоким уровнем ЛПЭ при облучении в расширенном пике Брэгга позволит экспериментаторам подойти к решению ряда фундаментальных проблем радиобиологии тяжелых ионов и практических задач космической радиобиологии, в том числе разработке противолучевых препаратов и совершенствованию радиационной безопасности космонавтов во время длительных полётов. Большое количество исследований в радиобиологии проведены с использованием моноэнергетичных пучков, в то время как реальная ситуация во время космического полета в космосе диктует необходимость проведения экспериментов для изучения влияния корпускулярного излучения после прохождения частиц через физическую преграду (стенки космического аппарата) – максимально приближенная ситуация нахождения в КА космонавтов во время космической миссии.

3.4. Влияние физической защиты на радиобиологические эффекты протонов

3.4.1. Модифицирующее действие гребенчатого фильтра в отношении радиобиологического эффекта протонов

В настоящем разделе гребенчатый фильтр мы рассматривали как сложную физическую преграду в виде набора пластиковых пластин, установленных на пути пучка протонов с энергией 171 МэВ. Как было показано в разделе 3.2 использование гребенчатого фильтра позволяет получить расширенный пик Брэгга, существенно повысить ЛПЭ протонов, что обеспечило увеличение их биологической эффективности в сравнении с протонами входа. Однако на этом эффект физической преграды не исчерпывается, так как после фильтра значительно увеличивается мощность дозы протонного излучения и возникает вторичное излучение. 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. Таким образом, физическая преграда в виде гребенчатого фильтра, ввиду особенностей корпускулярного излучения в сравнении с фотонным привела к повышению мощности дозы облучения. В практическом плане это означает, что для достижения равной дозы облучения от протонов после прохождения через гребенчатый фильтр понадобится существенно меньше времени нежели без него. Проведенный анализ радиобиологического эффекта протонов после прохождения через гребенчатый фильтр с позиции увеличения ЛПЭ и мощности дозы облучения приведен в этом разделе.

Результаты поражающего действия протонов на кроветворную систему представлены в таблице 9 и на рисунках 19 (А, Б).

Таблица 9. Влияние облучения мышей CD-1 протонами, модифицированными гребенчатым фильтром в дозах от 1,0 до 5 Гр на состояние массы селезенки и числа ядросодержащих клеток в костном мозге на бедро (% от БК) через 24 ч после воздействия радиации

Группа	Масса тела, г	Доза облучения, Гр	Масса селезенки, %	Число ядросодержащих клеток в костном мозге, %
Протоны, модифицированные гребенчатым фильтром	28,7±0,5	1	71,1	66,2
	31,4±1	2,5	67,2	45,0
	30,3±1,3	5	55,7	23,2
Протоны с энергией 171 МэВ	29,8±0,9	1	72,8	87,3
	31,2±0,8	2,5	66,8	55,7
	30,1±1,5	5	64,5	31,5

Полученные данные свидетельствуют о том, что через 24 часа после облучения у животных снижается масса селезенки. Наши результаты демонстрируют тенденцию усиления радиобиологического эффекта модифицированного гребенчатым фильтром пучка протонов по сравнению с протонами с энергией 171 МэВ (рисунок 19 А) по показателю массы селезенки особенно при облучении в дозе 5 Гр.

Нами было показано (рисунок 19 Б), что через 24 часа после облучения, как протонами, модифицированными гребенчатым фильтром, так и протонами на входе пучка протонов в объект, наблюдается отчётливое дозозависимое поражение костномозгового кроветворения: степень аплазии костного мозга после облучения повышается 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% выживаемости клеточности костного мозга отмечено усиление радиобиологического эффекта модифицированных протонов в 1,3 раза (рисунок 19 Б). 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 пластиковые пластины фильтра.

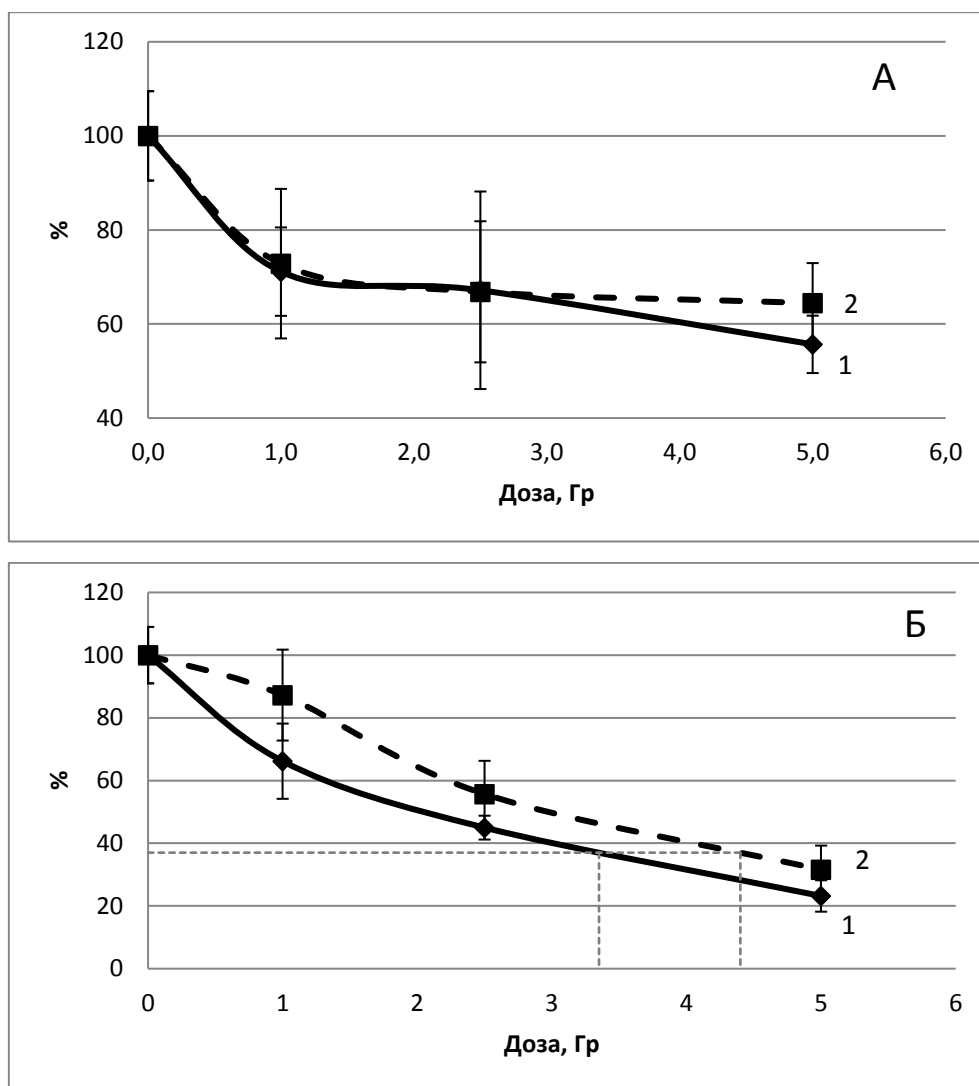


Рисунок 19. Зависимость «доза-эффект» поражения селезенки (А) и костного мозга (Б) мышей CD-1 через 24 часа после воздействия протонами, модифицированными гребенчатым фильтром (1) и протонами на входе в объект (2)

Примечание: пунктиром показан способ определения дозы облучения, необходимой для достижения равного 37% радиобиологического эффекта. По оси ординат – уровень снижения массы селезенки и числа кардиоцитов костного мозга по отношению к БК

В обоих случаях при облучении протонами входа и использовании гребенчатого фильтра мощность дозы на входе была одинаковой, тогда как после прохождения через гребенчатый фильтр мощность дозы резко увеличилась. Таким образом, для достижения одинаковой дозы на облучаемый объект при прохождении протонов через гребенчатый фильтр потребовалось существенно меньше времени.

На рисунках 20 (А, Б) вышеизложенные данные мы представили с позиции времени воздействия протонного излучения на объект, учитывая, таким образом, время пребывания в радиационном поле. Проведение анализа с этой позиции является необходимым с точки зрения

понимания выявленной, как будет показано ниже, возможности негативного радиобиологического эффекта физической защиты.

Нами были проиллюстрированы результаты влияния продолжительности протонного облучения, модифицированного гребенчатым фильтром и на входе в объект по массе селезёнки и показателю уровня ядродержащих клеток костного мозга через 24 часа после облучения. По массе селезёнки наблюдается резкое снижение при непродолжительном облучении, достижение минимального значения и выход на плато (рисунок 20 А). Видно, что снижение массы селезенки имеет зависимость от модификации протонного пучка – при использовании физической защиты за меньшее время достигается больший эффект поражения селезёнки.

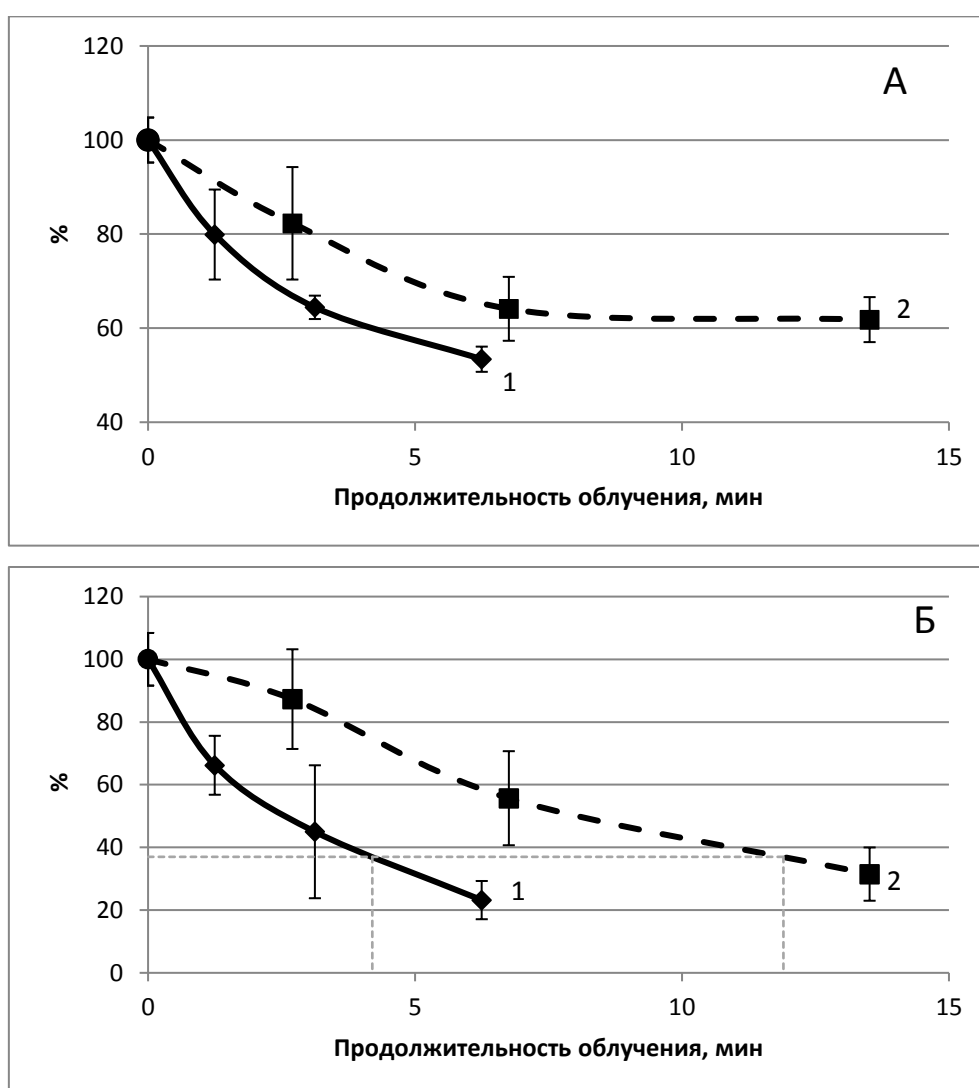


Рисунок 20. Зависимость «время облучения – эффект» поражения селезенки (А) и костного мозга (Б) мышей CD-1 через 24 часа после воздействия протонами, модифицированными гребенчатым фильтром (1) и протонами на входе в объект (2)

Примечание: 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 БК

Как видно на рисунке 20 Б, пучок протонов, модифицированный гребенчатым фильтром, который можно рассматривать в качестве физической защиты, в значительной степени поражает костный мозг, причем резкое снижение уровня клеток костного мозга начинается с минимальной продолжительности облучения – порядка одной минуты, что свидетельствует о высокой биологической эффективности. Однако достигнув предела до 25% от исходного числа кариоцитов костного мозга, снижение уровня ядросодержащих клеток остановилось и вышло на плато, по-видимому, за счёт радиорезистентных стромальных элементов, в результате чего, показатели у обеих групп сравнялись при более длительном облучении, что соответствует литературным данным [5]. Этими авторами показано, что при увеличении дозы γ -облучения с 4,0 до 7,0 Гр дальнейшее (ниже 24% от исходного уровня) снижение уровня ядросодержащих клеток в костном мозге не происходило.

Нами был рассчитан временной показатель, при котором достигается 37% подавление числа кариоцитов костного мозга. Для пучка протонов, модифицированного гребенчатым фильтром, временной показатель, при котором достигается 37% выживание клеточности костного мозга, составил 4,2 минуты. Для пучка протонов 171 МэВ понадобилось 11,9 минут для достижения подобного эффекта, т.е. модифицированный протонный пучок более чем в 2,5 раза интенсивнее снижает уровень ядросодержащих клеток костного мозга.

Суммируя вышеизложенное, следует отметить, что после прохождения протонов через физическую преграду происходит увеличение ЛПЭ и мощности дозы облучения. Результатом этих обстоятельств является резкое усиление радиобиологического эффекта протонного излучения.

Быстро делящиеся клетки кроветворных органов, таких как костный мозг и селезенка, наиболее чувствительны к действию радиации, поэтому система кроветворения чрезвычайно быстро реагирует на облучение. Развитие аплазии костного мозга является основным показателем радиационного воздействия [5].

При общем лучевом поражении наблюдается клеточное опустошение кроветворных органов, в частности селезенки [11] – масса селезенки облученных животных уменьшается пропорционально дозе облучения. При этом известно, что в изменении числа лейкоцитов периферической крови имеются фазы снижения и подъёма, которые могут затруднить интерпретацию полученных данных [40].

Таким образом, наши опыты подтверждают реальность предположения [182] о том, что физическая защита от корпускулярного излучения может явиться фактором, усиливающим радиобиологический эффект протонов, входящих в состав радиационных поясов Земли. Данное предположение в определенной мере нашло подтверждение в оригинальном эксперименте [72], в котором физическая защита от излучения была смоделирована перпендикулярными по

отношению к пучку протонов рядами экспериментальных животных. Также полученные данные согласуются с данными [126], указывающими на возрастание вклада нейтронов в эквивалентную дозу в период минимума солнечной активности до 60% в хорошо защищенном отсеке КК «Спейс шаттл», в сравнении с 5-8% вкладом в период максимальной солнечной активности в отсеке со слабой защитой. Также расчетные значения эквивалентных доз от нейтронного излучения за толщиной защиты более 40 г/см^2 для орбитальной станции «Мир» указывают на возможность превышения эквивалентной дозы от нейтронного излучения суммарной эквивалентной дозы от ГКЛ и РПЗ [115].

Следует отметить, что оболочка космического корабля является сложной структурой. Кроме того, корабль насыщен кабельными сетями и всевозможным оборудованием. Все это может существенным образом модифицировать внешнее корпускулярное излучение [105]. Указанные обстоятельства учитываются при моделировании и математических расчётах эффективности физической защиты [116, 127]. Тем не менее на наш взгляд, для полной уверенности в выводах, основанных на расчётах, необходима постановка прямых радиобиологических экспериментов на животных. В таких экспериментах, по нашему мнению, следует испытать реальные элементы оболочки проектируемых космических кораблей на их способность защищать животных от корпускулярного излучения, в частности, протонов различных энергий и тяжёлых заряженных частиц, с учётом исследованных нами обстоятельств и значения вторичного излучения.

3.4.2. Модификация радиобиологического эффекта терапевтического пучка протонов с помощью элементов радиационной защиты МКС

Физическая защита в виде изделия «Шторка защитная», состоящая из гигиенических салфеток используется на борту МКС [56]. В настоящем разделе представлены результаты исследования модифицирующего эффекта стеклянных пластин массовой толщиной $4,9 \text{ г/см}^2$, имитирующих иллюминатор космического аппарата и конструкции из 4-х слоев гигиенических салфеток с суммарной массовой толщиной в пересчете на водный эквивалент $\sim 5 \text{ г/см}^2$.

Данные физической дозиметрии после облучения протонами с энергией 171 МэВ на входе пучка в дозе 200 мГр приведены в таблице 10.

Таблица 10. Показатели дозиметрии пучка протонов с энергией 171 МэВ

№	Протоны	Массовая толщина, г/см ²	Массовая толщина по водному эквиваленту, г/см ²	Поглощенная доза, мГр	Линейная плотность энергии (ЛПЭ), кэВ/мкм
1	На входе	–	–	200	0,5
2	После прохождения через СП	4,9	4,0	202,9-206,0 (204,4*)	0,55
3	После прохождения через ГС	5,0	5,0	216,2-220,1 (21,82*)	0,55
4	После прохождения через СП+ГС	9,9	9,0	229,4-234,5 (232,0*)	0,6

*Примечание: * – средняя по двум экспериментам*

Как видно на таблице оба вида физической преграды и их комбинация на пути протонов с энергией 171 МэВ увеличивают ЛПЭ и поглощенную дозу протонов, и возможно, вызывает образование вторичного излучения, вклад в биологическую дозу которых может быть существенен – 16%.

Результаты, демонстрирующие влияние облучения мышей протонами на массу тела, систему кроветворения и иммунитета суммированы в таблице 11. На таблице видно, что через 22-24 часа после облучения не отмечено существенных различий по массе тела между экспериментальными группами.

Таблица 11. Влияние физической защиты при облучении протонами с энергией 171 МэВ в дозе 200 мГр на состояние кроветворения и иммунитета ($M \pm m$) мышей самок CD-1 через 24 часа после облучения

№	Группа	Масса тела (г)	Масса тимуса (мг)	Масса селезенки (мг)	Число кариоцитов в костном мозге ($n \times 10^6/\text{бедро}$)	Число лейкоцитов в периферической крови ($n \times 10^9/\text{л}$)
1	На входе	28,3±0,3	71,8±3,7	101,3±5,7	16,7±1,1**	2,9±0,4
2	После прохождения через СП	27,5±0,6	62,1±3,6	101,6±6,2	15,6±1**	4,1±0,5
3	После прохождения через ГС	27,4±0,5	62,9±4,2	94±6,5**	15,1±0,7**	5,2±0,8*
4	После прохождения через СП+ГС	27,6±0,3	54,7±2,7*,**	94,2±5,2**	13,9±0,5*,**	4,6±0,8*
5	БК	29,8±0,5	65,7±4	111,8±5,3	21,2±0,6	4,0±0,4

Примечание: статистически значимые отличия по сравнению: * – с 1 группой; ** – с 5 группой; $P < 0,05$

Облучение протонами входа не оказало статистически значимого влияния на массу тимуса. Снижение массы тимуса отмечено в группах 2, 3, 4 облученных модифицированными протонами, при этом максимальное снижение зарегистрировано в группе 4, животные которой были облучены при защите СП+ГС. Масса селезенки после облучения протонами несколько понизилась, при этом в группах 3 и 4 снижения были статистически значимыми по отношению к биоконтролю. В группе 2 не отмечено статистически значимого снижения массы селезенки.

Облучение протонами входа (группа 1) достоверно понизило число лейкоцитов в периферической крови (снижение статистически значимое), тогда как в группах 2, 3, 4 снижение не отмечено, напротив, в группах 3 и 4 этот показатель несколько повысился.

После облучения протонами входа (группа 1) отмечено статистически значимое снижение числа ядросодержащих клеток в костном мозге. В группах 2 и 3 этот показатель имел тенденцию к еще большему снижению, а в группе 4 (модификация СП+ГС) отмечено статистически значимое понижение показателя по сравнению с группой 1, после облучения протонами входа.

Результаты влияния протонного пучка на спонтанную двигательную активность мышей и силу захвата передних конечностей представлены в таблице 12. Как видно на таблице облучение протонами вызвало статистически значимое снижение двигательной активности животных исследуемых групп (ОИР). Модифицирующего действия ГС и комбинации ГС + СП по сравнению с протонами входа на этот показатель не выявлено, в то время как в группе с использованием СП отмечено нормальное значение ОИР. Статистически значимого изменения показателя ЭС не отмечено ни в одной из экспериментальных групп.

Таблица 12. Влияние физической защиты при облучении протонами с энергией 171 МэВ в дозе 200 мГр на спонтанную двигательную активность (ОИР и ЭС) и силу захвата передних лап ($M \pm m$) мышей самок CD-1 через 24 часа после облучения

№	Протоны	СДА, n		Сила захвата	
		ОИР	ЭС	абс, г	%
1	На входе	101,1±9,4*	7±1	140,9±4	108,1
2	После прохождения через СП	133±11,5*	7,2±1,7	110,2±3,4*, “	84,6
3	После прохождения через ГС	109,9±5,5”	7,9±1	123,2±5,6*, **	94,6
4	После прохождения через СП+ГС	117,8±13,7	6±1,4	120,9±5*, **	92,8
5	БК	147,8±11,6*	5,9±0,8	130,3±9,3	100

Примечание: статистически значимые отличия по сравнению: * – с 1 группой; ** – со 2 группой; “ – с 5 группой; $P < 0,05$

Количество животных в группах в этой и следующей таблицах – по 12 особей

После облучения протонами входа (группа 1) у мышей не отмечено статистически значимого изменения силы захвата передних конечностей (таблица 12). В то же время в группе животных, облученных модифицированными протонами, отмечена отчетливая тенденция снижения показателя – наиболее выраженная в группе 2 – животных, облученных протонами, модифицированными СП. Таким образом, использование силикатного стекла и водосодержащих гигиенических салфеток в целях защиты от протонного пучка с энергией 171 МэВ может приводить к увеличению поглощенной дозы, создаваемой пучком, и модификации радиобиологических эффектов. Так же, модифицирующее действие стеклянной пластины и материала салфеток (материалов различного химического состава), на физические и биологические показатели 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. Число ядродержащих клеток в костном мозге мышей через 24 часа после облучения в испытанных дозах может использоваться в качестве дозозависимого критерия.

Полученные нами данные по физической дозиметрии хорошо согласуются с данными чешско-японской группы авторов [123], исследовавших вклад в дозу облучения частиц с высокими значениями ЛПЭ при прохождении 160 МэВ протонов через вещество. Прохождение протонов через алюминий с массовой толщиной 16,2 г/см² и полиэтилен с массовой толщиной 13,7 г/см² обусловило двукратное и четырехкратное увеличение поглощенной дозы частиц с высокими значениями ЛПЭ, определенной с помощью трековых детекторов с 0,11 мГр до 0,21 мГр по алюминию и с 0,11 мГр до 0,45 мГр по полиэтилену.

При анализе результатов физической дозиметрии обращает внимание определенное соответствие данных о массовой толщине (по водному эквиваленту) для СП и блока ГС (4,0 и 5,0 г/см²), и данных, свидетельствующих о различиях по поглощенной дозе этих конструкций 204,4 и 218,2 мГр. Возможную причину некоторых различий кроме массовой толщины можно объяснить наличием в первом случае эффекта многократного рассеяния за счет взаимодействия протонов с атомами кремния, входящими в состав стекла. Атом кремния (28 а.е.м.) существенно превосходит атом водорода (1 а.е.м.), кислорода (16 а.е.м.), углерода (12 а.е.м.), входящих в состав салфеток, и в случае кремния рассеяние компенсирует увеличение дозы за счет повышения ЛПЭ. При этом следует отметить меньшую модифицирующую способность СП по сравнению с ГС, что согласуется с меньшей массовой толщиной по водному эквиваленту у СП – 4,0 г/см², а у ГС – 5,0 г/см². Для объяснения этого эффекта требуются дополнительные исследования.

Достаточно сложным оказался выбор биологического показателя, чувствительного и линейно зависящего от дозы облучения, при построении зависимости доза-эффект в столь узком

диапазоне доз от 200 мГр до 232 мГр, с которым мы столкнулись. Функционирование центральной нервной системы, мышечная сила, масса тела, масса тимуса и селезёнки, число лейкоцитов в периферической крови являются интегральными показателями, зависящими от целого ряда, иногда противоположно направленных, эндогенных факторов. Этому вопросу посвящен ряд монографий [36, 37, 52]. Наиболее приемлемым, по мнению ряда исследователей [38], является показатель клеточности костного мозга, пострадиационное опустошение которого общеизвестно. В этой связи нами проанализирована зависимость доза-эффект по этому показателю (рисунок 21 А,Б).

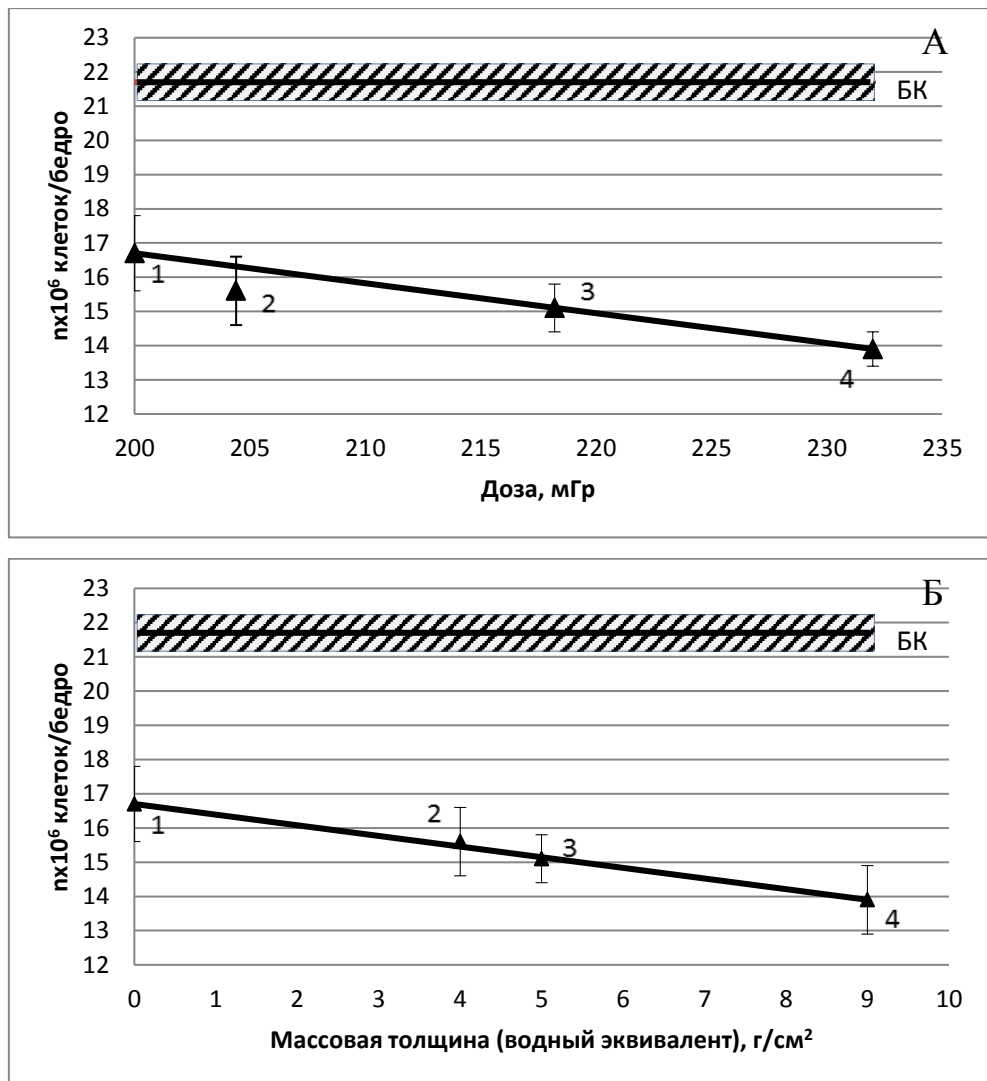


Рисунок 21. Влияние дозы протонного облучения (171 МэВ) (А) и массовой толщины физической защиты по водному эквиваленту (Б) на число кариоцитов в костном мозге мышей через 24 часа после воздействия радиации ($M \pm m$)

Примечание: 1 – протоны входа; 2 – протоны, модифицированные СП; 3 – протоны, модифицированные ГС; 4 – протоны, модифицированные СП+ГС

На рисунке 21 А явно просматривается прямая зависимость доза-эффект, однако, в эту зависимость не укладывается группа 2 – животные, облученные протонами, модифицированными СП. Отмеченное минимальное несоответствие мы склонны связать с особенностями вторичного излучения, образующегося после взаимодействия протонов с СП. Для подтверждения этого предположения необходимо углубленные ядерно-физические и дозиметрические исследования с включением дополнительных методов, включая трековые детекторы, детекторы нейтронов и вторичного излучения, создаваемого заряженными частицами, в том числе осколками ядер.

Отмеченные противоречия не просматриваются при анализе зависимости массовая толщина-эффект по водному эквиваленту (рисунок 21 Б), что подтверждается рисунком 22, на котором показано глубинное распределение поглощенной дозы при облучении в протонном пучке 171 МэВ. Снижение числа кариоцитов костного мозга после облучения оказалось прямо пропорционально массовой толщине физической преграды различной природы, определенной по водному эквиваленту, и очевидна суммация эффекта двух конструкций из СП+ГС.

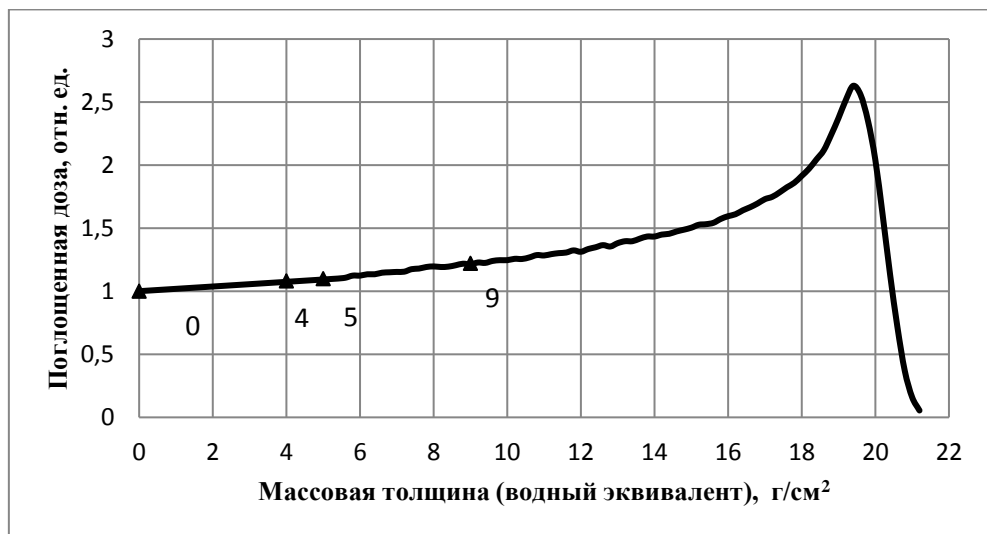


Рисунок 22. Глубинное распределение поглощенной дозы при облучении в протонном пучке 171 МэВ

Примечание: треугольниками указаны точки облучения, цифры около дозовой кривой показывают массовую толщину по водному эквиваленту, г/см²; 0 – исходный пучок, 4 – СП, 5 – ГС, 9 – СП+ГС

Обращает внимание несоответствие между уровнями показателей ОИР и силы захвата передних конечностей с одной стороны и дозы облучения в группе СП с другой: особенность физических и радиобиологических эффектов в этой группе мы обсуждали выше. Отмеченный факт требует постановки специальных нейрофизиологических [36] и физиологических

(нагрузочных тестов) [23] экспериментов по оценке влияния модифицированных протонов на центральную нервную систему.

Число лейкоцитов через 24 часа после облучения оказалось повышенным в группах животных, облученных модифицированными протонами по сравнению с показателями в группе животных, облученных протонами на входе. Первичный лейкоцитоз, отмечаемый в первые часы и сутки после облучения, общеизвестен [38] для больших доз облучения и связан с ускоренным выходом лейкоцитов из костного мозга. Это явление при малых дозах облучения изучено недостаточно и не может быть однозначно трактовано. Данные обстоятельства могут указывать на необходимость совершенствования методов дозиметрии с одной стороны и целесообразность проведения разносторонних радиобиологических исследований при оценке эффекта физической защиты с другой.

Безусловно, полученные нами данные требуют дальнейшего экспериментального анализа и теоретического осмысления с учетом спектра протонов и тяжелых заряженных частиц космического излучения, с учетом характера его взаимодействия с веществами конструкции и конструктивных особенностей космического корабля. На наш взгляд данная проблема чрезвычайно актуальна для космонавтики. От правильности решения этой проблемы во многом зависит обеспечение радиационной безопасности космонавтов при будущих полетах. Подводя итог, следует отметить, что физическая защита от корпускулярного излучения может стать фактором, усиливающим радиобиологический эффект протонного излучения. Использование физической защиты в виде гребенчатого фильтра приводит к увеличению ЛПЭ протонов входа с энергией 171 МэВ с 0,49 кэВ/мкм до 1,6 кэВ/мкм и повышает биологическую эффективность протонов в 1,3 раза по числу кариоцитов костного мозга при сравнении доз облучения, вызывающих 37% угнетение костномозгового кроветворения. При использовании физической защиты происходит увеличение мощности дозы излучения с 0,37 Гр/мин для протонов входа до 1,1 Гр/мин для замедленных протонов, что в 2,5 раза, сокращает время облучения, необходимое для достижения равных радиобиологических эффектов.

Физическая преграда в виде изделия «Шторка защитная», изготовленного из влажных гигиенических салфеток, и стеклянной пластины, имитирующей иллюминатор МКС установленная на пути протонов с энергией 171 МэВ увеличивает их ЛПЭ и приводит к увеличению поглощенной дозы и усилению радиобиологического эффекта. При совместном использовании двух видов преграды в виде стеклянной пластины и влажных гигиенических салфеток, поглощенная доза увеличилась с 200 мГр до 232 мГр. Выявлены различия в модифицирующем действии материалов разного химического состава (стекла и воды в салфетках) по физическим и биологическим показателям после облучения протонами. Установлено отчетливое дозозависимое снижение числа кариоцитов костного мозга в диапазоне

доз от 200 до 232 мГр через 24 часа после облучения. Модифицирующего действия на спонтанную двигательную активность мышей салфеток и комбинации салфетки со стеклом по сравнению с протонами входа не выявлено. В группе с использованием стеклянной пластины отмечено нормальное значение ориентировочно-исследовательской реакции животных и сниженная сила захвата передних конечностей у мышей.

Оболочка космического корабля является сложной многокомпонентной структурой. Кроме того, корабль насыщен кабельными сетями и всевозможным оборудованием. Все это может существенным образом модифицировать внешнее корпускулярное излучение. При обосновании способов физической защиты экипажей космических кораблей целесообразно наряду с физической дозиметрией (ионизационные камеры, термомлюминесцентные, трековые детекторы и др.) использовать радиобиологические критерии, установленные в экспериментах на животных. Проведение наземных экспериментов по изучению физической защиты космонавтов необходимо, поскольку экранирование, применяющееся на Земле для защиты от радиации, например, свинцовые пластины, невозможно, во-первых, из-за увеличения массы космического аппарата, и во-вторых, из-за возможности образования вторичного излучения.

В таких экспериментах, по нашему мнению, следует испытать реальные элементы оболочки проектируемых космических кораблей на их способность защищать животных от корпускулярного излучения, в частности, протонов различных энергий и тяжёлых заряженных частиц, с учётом вторичного излучения.

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

3.5. Исследование эффективности противолучевых средств при протонном излучении

3.5.1. Радиопротекторная активность вакцины «Гриппол» при введении до облучения

Вакцины и продукты микробного происхождения, как известно [66, 89, 174] обладают противолучевыми свойствами. Особой интерес в этом плане имеют гриппозные вакцины, поскольку ежегодно от гриппа прививаются сотни миллионов человек во всем мире, в том числе и космонавты. В нашей работе иммунизацию проводили в объеме 0,2 мл подкожно в область левой задней лапы, в качестве контроля животные получали по 0,2 мл физиологического раствора хлористого натрия. Иммунизацию проводили за 10 суток до облучения.

Результаты оценки радиопротекторной активности вакцины «Гриппол» по показателю 30-ти суточной выживаемости мышей после облучения 171 МэВ протонами в различных дозах представлены в таблице 13.

Таблица 13. Радиозащитное действие вакцины «Гриппол» при введении за 10 суток до облучения мышей (СВАхС57В1)F1 протонами с энергией 171 МэВ

Группа	Доза облучения (Гр)	Введение	Число животных в группе	Число павших животных за 30 суток	
				абс.	%
1	7	вакцина	10	0	0
2	7	ФР	11	1	9
3	8	вакцина	10	0	0
4	8	ФР	10	1	10
5	8,5	вакцина	10	0	0
6	8,5	ФР	9	3	33
7	0	БК	8	0	0

Примечание: ФР – физиологический раствор

Облучение протонами в дозах 7,0, 8,0 и 8,5 Гр вызывает гибель 9%, 10% и 33% контрольных животных. В группах животных с предварительным введением вакцины «Гриппол» гибели животных не отмечено.

Точный критерий Фишера равен 3,3, $P \leq 0,01$. Ввиду малого числа животных в эксперименте, результаты суммированы по группам 1, 3, 5 и 2, 4, 6, соответственно. Проведенное статистическое сравнение позволило сделать заключение о том, что различия статистически значимы и наличие противолучевого эффекта вакцины «Гриппол» при облучении протонами в летальных дозах является доказанным.

Необходимо отметить стрессорное воздействие (инъекции, вакцинация, облучение и манипуляции с животными) в ходе эксперимента привело к задержке роста массы тела животных. Так на 1-е сутки после облучения масса тела биоконтроля была на уровне 27,5 г, тогда как в опытных группах показатель был в пределах 24,5-26 г. При фоновом обследовании значение массы тела животных было равно 25,02 г за 12 дней до облучения во всех группах. Позитивный эффект вакцинации на динамику массы тела в пострadiационный период был отмечен лишь в группе животных, облученных в максимальной из использованных доз облучения – 8,5 Гр. Так в разгар лучевой болезни (14 сутки) масса тела у защищенных животных была на уровне 27,2 г, а у контрольных облученных 24,9 г. Результаты проведенной работы демонстрируют радиопротекторную активность препарата «Гриппол» по 30-суточной выживаемости мышей, подвергнутых летальному облучению протонами с энергией 171 МэВ. При исследовании радиопротекторной эффективности вакцины по показателю выживаемости было установлено,

что профилактическое введение за 10 суток до радиационного воздействия оказывает положительный эффект – выживаемость составила 100% при всех изученных дозах. Полученные данные согласуются с литературными данными [48, 85] и демонстрируют безопасность применения вакцины «Гриппол» для контингентов групп риска облучения летальными дозами, в том числе и для отряда космонавтов.

3.5.2. Результаты изучения противолучевых свойств меланина

Основные исследования были направлены на получение экспериментальной базы данных, обосновывающих эффективность меланина как противолучевого средства, нетоксичного, приемлемого для массового применения у пострадавших в условиях возможных неконтролируемых воздействий ионизирующего излучения; средства способного при изолированном использовании или совместно с другими лечебными препаратами создавать благоприятный фон для пострadiационного восстановления.

Меланин, предоставленный нам для исследований получен оригинальным запатентованным способом [84], имеет высокую степень растворимости, что позволило использовать раствор меланина вместо питьевой воды в дозе 12,5 мг/100 мл дистиллированной воды, которая близка при пересчёте на единицу поверхности тела к рекомендуемой для человека в качестве пищевой добавки по разным показаниям: снижение общего обмена веществ, при деятельности с присутствием стресс-факторов, при синдроме «длительной усталости», при нарушениях пигментного обмена и др.

3.5.2.1. Влияние меланина на течение радиационного поражения при однократном облучении в различных дозах

При проведении исследований основное внимание было сосредоточено на получении данных о влиянии меланина на выживаемость облучённых животных, как наиболее надёжный и объективный критерий эффективности, а также на другие патогенетически значимые проявления лучевого поражения: изменения массы тела, состояния кроветворения, иммунной системы и психофизиологического статуса.

Исследование эффективности меланина проведено при кратковременном фотонном тотальном радиационном воздействии в диапазоне доз 5,0-7,5 Гр, вызывающих у мышей развитие костномозговой формы острой лучевой болезни (ОЛБ). Летальность контрольных животных составила при дозе 6 Гр – 28%; 6,5 Гр – 80%; 7 Гр и 7,5 Гр – 100% (рисунок 23). При облучении в дозе 5 Гр летальных исходов не зарегистрировано. Эти данные показывают, что зависимость функции доза-эффект по критерию смертности имеет большую крутизну. Интервал

доз, дающих вероятность эффекта от ~30% до 80%, занимает всего 0,5 Гр, а практически абсолютно летальной дозе соответствует величина 7,0 Гр.

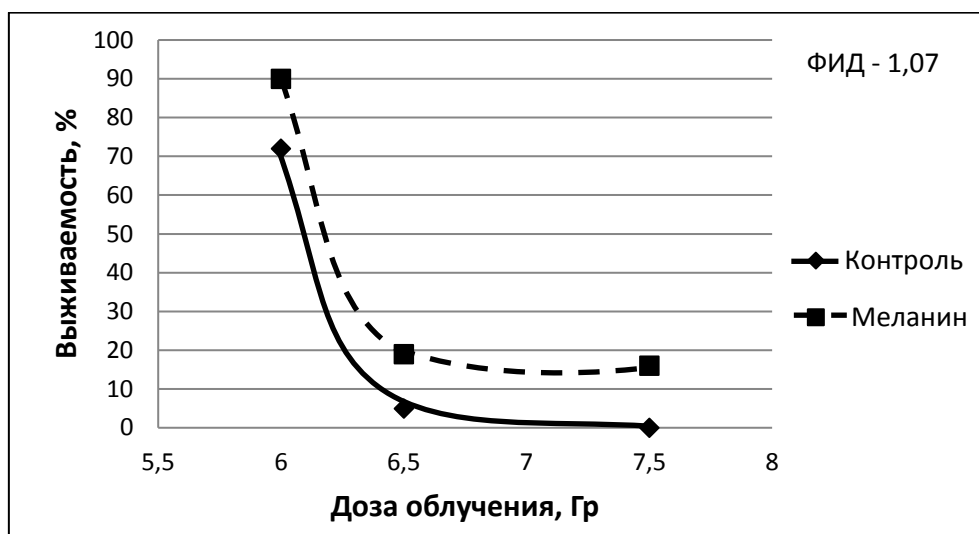


Рисунок 23. Влияние меланина (12,5 мг/100 мл) у мышей на исход острого радиационного поражения в летальных дозах

Клиническая картина поражения характеризовалась прогрессивным снижением массы тела, потребления жидкости и корма, потерей опрятности, угнетением двигательной активности.

Результаты, представленные в таблице 14, демонстрируют, что лечебное применение меланина с питьевой водой с 1-х по 30-е сут после облучения в дозах, соответствующих CD_{80} и CD_{100} , позволило увеличить число благоприятных исходов до 40% и 7% соответственно. В связи с близостью биологического эффекта при использовании γ - и рентгеновского излучения, полученные результаты суммированы. Эффект меланина клинически сопровождается также поддержанием на более высоком уровне массы тела в период разгара и ускорением её восстановления. Заметное положительное действие на течение лучевого поражения отмечено также при защитно-лечебном использовании меланина. Сочетание профилактического введения до облучения в абсолютно летальной дозе с последующим продолжением приёма на фоне развития ОЛБ способствовало увеличению выживаемости до 16% ($p < 0,01$ по сравнению со 100% гибелью в контроле) и средней продолжительности жизни погибших ($14,3 \pm 0,2$ сут, в контроле $12,5 \pm 0,45$ сут) (таблица 14). Наилучший результат (40%) был достигнут при 8-дневном приёме до и далее в течение 20 дней после воздействия. Увеличение длительности введения в общей сложности до 35-38 суток за счёт варьирования сроков профилактического приёма (8 и 15 сут) или после облучения (20 и 30 сут) не привело к усилению эффекта. В этих группах выживаемость находилась на уровне 10% при поголовной гибели в контрольной группе.

Таблица 14. Результаты изучения эффективности меланина при кратковременном облучении мышей в летальных дозах

Вид воздействия	Доза облучения	Группа	Кол-во мышей	Выжило		Средняя продолжительность жизни павших, сут (M±m)
				абс	%	
Рентгеновское облучение	6,5 Гр (CD ₈₀)	Контроль	10	2	20	16,5 ± 2,5
		Меланин с 1-х по 30-е сут	20	8	40	15,2 ± 2,5
Рентгеновское и γ-облучение	7,0 – 7,5 Гр (CD ₁₀₀)	Контроль	96	0	0	12,5 ± 0,45
		Меланин с 1-х по 30-е сут	70	5	7*	12,7 ± 0,5
		Меланин до + после облучения	50	8	16**	14,3 ± 0,2

Примечание: – статистически значимые различия по сравнению с контролем по критерию χ^2 , (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$).

Снижение дозы облучения до 6 Гр сопровождалось значительным ослаблением поражающего действия (СД_{-30/30}): в контроле из 11 мышей выжило 8 (72%). Однако и в этих условиях лечебные свойства меланина при 30-суточном приёме внутрь проявились некоторым увеличением выживаемости – 9 из 10 (90%).

При дозе лучевого воздействия 5 Гр летальных исходов, как было отмечено выше, не наблюдалось. Поражающее действие проявилось типичным для костномозговой формы угнетением кроветворения.

Исследование на 8-е сутки показало, что у лечённых меланином животных масса тимуса (32,0±2,9 мг) и селезёнки (38,9±5,3 мг) статистически значимо выше, чем у контрольных (соответственно 22,1±2,0 мг и 25,8 ±1,6 мг; $p < 0,05$ и $p < 0,001$). Количество эндогенных колоний в селезёнке мышей, получавших меланин, практически в рис превышало показатель в облученном контроле: 6,3 (7,9 и 5,1) и 3,3 (3,5 и 3,2) ($p < 0,05$).

Нами было проведено несколько экспериментов, направленных на изучение лечебного действия меланина в период развития костномозговой формы ОЛБ, вызванной воздействием протонного излучения. Суммарный результат эффективности лечебного действия меланина после однократного тотального воздействия протонного излучения в расширенном пике Брэгга в дозе 2,5 Гр на 8 сутки после облучения представлен в таблице 15.

Таблица 15. Результаты изучения эффективности меланина при тотальном облучении мышей протонами в расширенном пике Брэгга в дозе 2,5 Гр ($M \pm m$)

Группа	Число мышей (n)	Масса тела(г)	Масса селезенки (мг)	Масса тимуса (мг)	Число ядро содержащих клеток костного мозга $n \times 10^6$ на бедро	Число лейкоцитов в периферической крови $n \times 10^9$ /л
БК	15	32,8±1	107,7±5,7	40,4±2,5	24,9±1,6*	5,24±1
Облучение + Меланин	12	35,7±1,1	99,8±7,4	38,4±2,2	23,9±1*	1,6±0,2
Облучение	12	35,4±1,3	93,3±8,2	39,1±2,7	19,2±1,2	1,5±0,2

Примечание: * статистически значимая разница по сравнению с группой «Облучение», $p \leq 0,05$

Исследование на 8-е сутки показало, что у потреблявших меланин животных масса селезенки (99,8±7,4 мг) и количество лейкоцитов в периферической крови ($1,6 \pm 0,2 \times 10^9$ /л) выше, чем у контрольных (93,3±8,2 мг и $1,5 \pm 0,2 \times 10^9$ /л, соответственно), различия статистически не значимы. По показателю числа ядродержащих клеток костного мозга, в группе мышей, облученных протонами в расширенном пике Брэгга статистически значимо ниже, чем в группе мышей, получавшей меланин (соответственно $19,2 \pm 1,2 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро и $23,9 \pm 1 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро; $p < 0,05$).

Проведённые исследования дополняют и подтверждают литературные данные о противолучевых свойствах меланина как при фотонном, так и при протонном облучении. Анализ полученных материалов позволяет констатировать, что лечебный эффект меланина при его курсовом приёме внутрь регистрируется при кратковременном облучении в диапазоне доз (от СД_{-30/30} до СД_{100/30}), вызывающих костномозговую форму ОЛБ. Наилучшие результаты получены при дозе, соответствующей СД_{80/30}. Показана возможность защитно-лечебного применения. В отличие от многих классических противорадиационных средств, снижение дозы облучения до уровня нелетальных не приводит к потере специфической активности меланина, а также к появлению отягощающего действия.

3.5.2.2. Лечебная эффективность меланина при фракционированном облучении

Накопленные экспериментальные материалы изучения противолучевых средств из различных классов химических соединений показывают, что, обладая выраженной активностью при кратковременном облучении, при увеличении длительности или кратности воздействия их эффективность практически не выявляется. Потребность в создании препарата, пригодного для уменьшения поражающего действия или риска возникновения отдалённых последствий у лиц,

длительно находящихся в условиях повышенного радиационного фона, в настоящее время остаётся весьма актуальной задачей. Учитывая данные обстоятельства, а также в целях расширения возможных условий практического применения меланина как неспецифического радиомодифицирующего средства многоразового использования проведены исследования его действия на модели фракционированного облучения. Лечебный эффект меланина при фракционированном тотальном воздействии, следствием которого явилось развитие костномозговой формы ОЛБ, проиллюстрирован в таблице 16.

Таблица 16. Выживаемость мышей, получавших меланин в условиях 10-кратного фракционированного облучения γ -квантами ^{60}Co (суммарная доза 10 Гр)

Группа	Количество мышей	Выживаемость за 40 суток	
		абс	%
Контроль облучения	16	7	43,7
Облучение + Меланин	16	16	100*

*Примечание: Меланин с 1-х сут от начала воздействия и далее до 30-х сут после его окончания; * – статистически значимое превышение показателя по сравнению с контролем ($p < 0,002$) по χ^2 .*

Из представленных данных видно, что при тотальном 10-кратном облучении по 1 Гр применение меланина с 1-х суток позволило полностью предотвратить гибель мышей, тогда как в контрольной группе выживаемость составила 43,7% ($p = 0,002$) (рисунок 24).

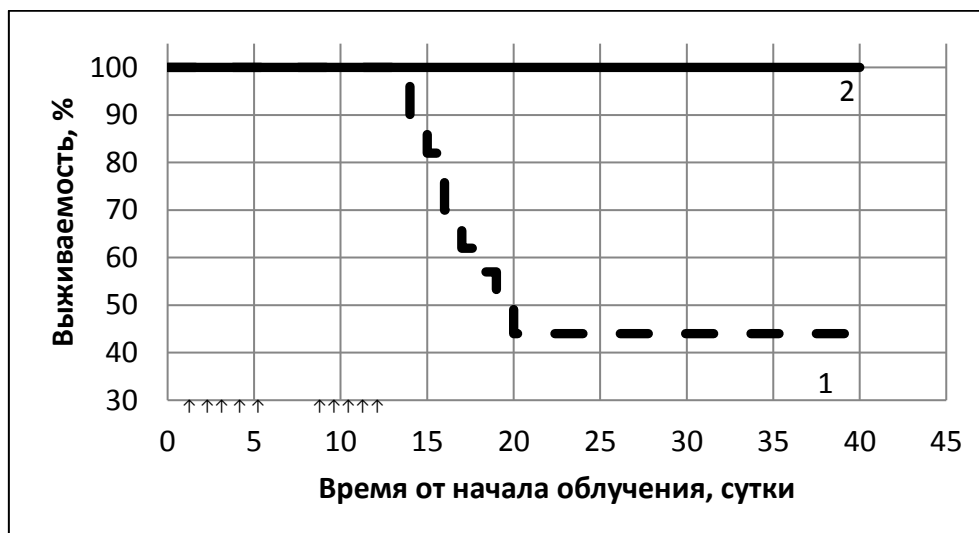


Рисунок 24. Лечебный эффект меланина при фракционированном облучении (суммарная доза 10 Гр) в течение 12 суток (с перерывом 2 суток)

Примечание: \uparrow – обозначено облучение по 1 Гр; Контроль – 1; Меланин – 2 (с 1-х суток от начала воздействия и далее до 30-х суток после его окончания)

При 12-кратном рентгеновском облучении по 1 Гр в суммарной дозе 12 Гр (за 16 суток) смертность в контроле достигла ~83% (из 18 выжило 3; 16,7%). Приём меланина с 1-х суток повысил выживаемость только до 22,2% (из 18 выжило 4), при этом способствовал на

протяжении всего периода наблюдения сохранению массы тела на более высоком уровне, чем в контроле (таблица 17).

Таблица 17. Влияние меланина на динамику средней массы мышей (%) после фракционированного облучения в суммарной дозе 12 Гр

Группа	n	Сроки исследования от окончания облучения, сут						
		исх.	5	7	14	21	25	28
Контроль дистиллированная вода	18	100	100±1,5	102,6±6,3	94,7± 5,2	77,0±11,6	81,4±19,2	96,9
Меланин 12,5 мг/100 мл с 1-х по 30-е сут после облучения	18	100	103±7,3	106,7±5,9	98,0± 3,1	88,4±11,5	87,9±12,3	107,0

Изучение влияния меланина на кроветворение проведено при 10-кратном облучении по аналогичной схеме (5 дней по 0,5 Гр и повторно через 2 дня в том же режиме) в суммарной дозе 5 Гр. При таком воздействии летальных исходов или каких-либо внешних проявлений изменения общего состояния и поведения в обеих экспериментальных группах отмечено не было. Исследование кроветворения показало, что у контрольных мышей уже на 7-е сутки от начала облучения наблюдается заметное снижение количества лейкоцитов, миелокариоцитов в костном мозге, массы селезёнки и тимуса (таблица 18).

Таблица 18. Гематологические показатели ($M \pm m$) мышей, получавших меланин в условиях 10-кратного фракционированного рентгеновского облучения. Суммарная доза 5 Гр

Группа	Время от начала облучения, сут	Показатели ($M \pm m$)				
		Число тромбоцитов в периферической крови $n \times 10^9/\text{л}$	Число лейкоцитов в периферической крови $n \times 10^9/\text{л}$	Число ядродержащих клеток костного мозга $n \times 10^6$ на бедро	Масса селезёнки, мг	Масса тимуса, мг
Биоконтроль	0	862 ± 43,7	6,1 ± 0,45	30,1 ± 2,7	134 ± 11,2	42 ± 4,3
Контроль облучения	7	715 ± 46,6	1,6 ± 0,19	8,1 ± 1,17	48 ± 2,12	29,5 ± 3,36
Меланин + облучение		873 ± 10,6*	2,0 ± 0,7	13,7 ± 2,8**	50,3 ± 1,8	31 ± 4,2

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с контролем ($p < 0,02$),

** – различия значимы при $p < 0,1$ (критерий Манна-Уитни).

Применение меланина смягчало выраженность пострадиационных изменений. В период наибольшего угнетения кроветворения (7 сутки) у леченных мышей приём меланина способствовал сохранению на более высоком уровне количества тромбоцитов в периферической крови ($873 \pm 10,6 \times 10^9/\text{л}$; в контроле $715 \pm 46,6 \times 10^9/\text{л}$; $p < 0,02$), миелокарицитов в костном мозге ($13,7 \pm 2,8 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро; в контроле $8,1 \pm 1,17 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро; $p < 0,1$) и ускорял восстановление показателей гемопоэза на 14-е и 21-е сутки. Проведённые исследования демонстрируют эффективность использования меланина у мышей, находящихся под действием фракционированного достаточно длительного (на протяжении 14-16 суток) облучения. Наилучший результат по интегральному показателю выживаемости получен при дозе, близкой к $СД_{60/30}$. Положительный эффект зарегистрирован также по снижению негативного влияния облучения на потерю массы тела и состояние кроветворения. На основании результатов, полученных при фракционированном облучении, можно рассчитывать на успешность применения меланина и при облучении с малой мощностью дозы.

Известно, что инфекционные осложнения, возникающие вследствие нарушения иммунного статуса, являются одной из основных причин гибели животных в ходе ОЛБ [49]. Противолучевые средства, стимулирующие восстановление иммуногематологического статуса облучённых животных, как правило, способствуют снижению тяжести инфекционных осложнений, даже в случае отсутствия у них бактерицидного или бактериостатического действия. Данные, полученные методом, позволяющим качественно судить о наличии или отсутствии бактериурии (бактерий кишечной группы) по посевам на среде Эндо [51], согласуются с результатами оценки влияния введения меланина на кроветворение и состояние центральных органов иммунной системы у облучённых животных – меланин подавляет развитие бактериурии у облучённых мышей, о чём может свидетельствовать снижение у них выраженности эндогенной инфекции и тяжести течения ОЛБ. В основе этого эффекта лежит способность меланина ускорять восстановление иммуногематологического статуса после облучения животных рентгеновскими лучами в дозе 7 Гр.

Совокупность проведённых исследований свидетельствует о наличии у меланина лечебного действия при его курсовом приёме с питьевой водой после облучения. Это действие проявляется увеличением выживаемости мышей при костномозговой форме ОЛБ, вызванной кратковременным или фракционированным радиационным воздействием. При остром облучении в дозе, соответствующей по летальности $СД_{80/30}$, величина достигнутого эффекта составила 40%, а при $СД_{100/30}$ – 7-16%. При 10-кратном фракционированном облучении в дозе 10 Гр число благоприятных исходов у леченных животных превысило показатель в контроле на 56%. Несмотря на относительно скромный результат при однократном облучении, считаем важным подчеркнуть, что он достаточно стабилен и подтверждён воспроизводимостью при

неоднократных повторениях экспериментов. Следует также принять во внимание и то обстоятельство, что лечебное действие меланина зарегистрировано при пероральном способе введения и дозах облучения, близких к абсолютно летальным. Используемая в наших экспериментах доза 7,5 Гр на 0,5 Гр выше минимальной абсолютно летальной (7 Гр) и тем самым перекрывает возможные колебания радиорезистентности животных и неравномерность облучения, которые могли бы привести к выживанию отдельных особей в контрольной группе. В этих условиях, по мнению [41], любая величина полученного эффекта служит доказательством защитного действия противолучевого средства. В подобных вариантах и уровнях лучевого воздействия большинство средств, повышающих радиорезистентность, к которым относится меланин, практически не эффективны [10, 15, 33]. Дополнительным подтверждением благоприятного влияния меланина при кратковременном и фракционированном облучении в летальных дозах помимо выживаемости свидетельствуют такие показатели как динамика массы, ориентировочно-двигательная активность, которые у леченных животных претерпевали меньшие изменения и восстанавливались лучше, чем у контрольных. Положительное действие меланина в разгаре заболевания приводит также к снижению степени поражения кроветворения и ослаблению инфекционных осложнений.

Для исследования действия меланина на состояние нервной системы после облучения животных была изучена спонтанная двигательная активность, которая отражает психоэмоциональный статус животных. Результаты, полученные при остром однократном воздействии и представленные в таблице 19, демонстрируют серьёзное угнетение всех параметров активности у мышей после облучения в дозе 6,5 Гр (СД_{80/30}). В разгаре ОЛБ (13-е сутки) суммарный показатель у контрольных животных находился на уровне $29,0 \pm 8,1$, что составляет 23,2% от значений физиологической нормы (биоконтроль $125,0 \pm 8,3$). В этот период влияние меланина при приёме внутрь (12,5 мг/100 мл с 1-х суток) проявилось лишь в некотором увеличении по сравнению с облучённым контролем суммарной активности (до $36,75 \pm 22,4$) в основном за счёт большего числа пересечённых квадратов. Однако тестирование в «открытом поле» мышей, перенёсших ОЛБ, показало, что лечебное применение меланина ускоряет восстановление локомоторной активности и психофизиологического статуса. На 34-е сутки после облучения большинство показателей (число пересечённых квадратов, количество подъемов, заглядываний в норки) у леченных животных находились на существенно более высоком уровне, чем у контрольных. Суммарный показатель составил соответственно 75,7% ($94,6 \pm 6,7$) и 42% ($52,8 \pm 19,8$) ($p < 0,05$) от значений в биологическом контроле ($125 \pm 8,3$) (таблица 19).

Таблица 19. Показатели спонтанной двигательной активности мышей, леченных меланином после облучения в дозе 6,5 Гр ($M \pm m$ актов за 3 минуты)

Группа	Сроки исследования, после облучения, сут	«Норковый» рефлекс	Количество подъемов	Заходы в центр	Число пересечённых квадратов	Суммарный показатель
Контроль	13	$14,7 \pm 3,0$	$0,5 \pm 0,18$	0	$13,8 \pm 3,7$	$29,0 \pm 8,1$
Меланин	13	$13,25 \pm 5,6$	$0,75 \pm 0,28$	0	$22,8 \pm 16,5$	$36,75 \pm 22,4$
Контроль	34	$16,8 \pm 5,3$	$7,5 \pm 2,7$	$0,67 \pm 0,35$	$27,8 \pm 12,4$	$52,8 \pm 19,8$
Меланин	34	$29,5 \pm 1,46^*$	$14,0 \pm 0,66$	0,5	$51,8 \pm 6,0^*$	$94,6 \pm 6,7^*$
БК		$38,3 \pm 2,6$	$11,1 \pm 1,7$	$2,0 \pm 0,55$	$73,6 \pm 4,8$	$125,0 \pm 8,3$

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с облучённым контролем ($p < 0,05$).

Исследование поведенческих реакций контрольных мышей в процессе фракционированного облучения показало, что по мере накопления дозы до 12 Гр все параметры, характеризующие ориентировочно-двигательную активность, заметно снижаются (таблица 20). Так, при дозе 7 Гр показатели общей реакции составляли 68% (109 ± 11) от исходных значений ($160 \pm 11,5$) и далее снижались в среднем до 39% ($62 \pm 13,4$) на 15-е сутки при достижении дозы облучения 12 Гр. Самые низкие значения зарегистрированы по тесту подъёмов, уровень которых составлял лишь 26% ($5,6 \pm 1,9$ и $21,3 \pm 2,3$ в биоконтроле). Число заглядываний в норки, стоек, заходов в центр у леченных мышей практически соответствовало уровню фоновых значений.

На 42-е сутки после 12-кратного курса фракционированного облучения в контрольной группе все изученные показатели оставались ниже физиологической нормы и колебались в диапазоне 14-83% от её уровня. Наиболее высокие значения (83%) отмечены по частоте заглядываний в норки ($30,7 \pm 8,0$). Применение меланина оказало выраженное влияние на скорость восстановления ориентировочно-двигательных реакций. Количество пересечений квадратов ($82,5 \pm 7,6$) и суммарная активность ($141 \pm 7,6$) составили соответственно 83% и 89%, у контрольных облучённых – 53% ($52,3 \pm 36$) и 55,5% ($87,7 \pm 44$) от показателей интактных мышей в этот срок исследования $99 \pm 11,9$ и $158 \pm 11,5$ (таблица 20).

Таблица 20. Показатели спонтанной двигательной активности мышей, леченных меланином после 12-кратного курса фракционированного облучения ($M \pm m$ актов за 3 минуты)

Группа	Доза облучения, сроки исследования	«Норковый» рефлекс	Количество о подъемов	Заходы в центр	Число пересеченных квадратов	Суммарный показатель
Контроль	7 Гр (8 сутки)	$24 \pm 2,2$	14 ± 2	$1,7 \pm 0,2$	$69 \pm 7,3$	109 ± 11
Меланин		$22,2 \pm 3$	$15,8 \pm 9$	$1,4 \pm 0,5$	$68,6 \pm 9$	$108 \pm 13,4$
Контроль	12 Гр (15 сутки)	$14 \pm 3,3$	$5,6 \pm 1,9$	$1,2 \pm 0,4$	$41 \pm 9,5$	$62 \pm 13,4$
Меланин		$10,3 \pm 1,7$	$4,3 \pm 1$	$1 \pm 0,2$	$29,8 \pm 5,5$	$45,4 \pm 8$
Контроль	12 р (42 сутки)	$30,7 \pm 8$	$4,7 \pm 0,4$	$0,3 \pm 0,1$	$52,3 \pm 36$	$87,7 \pm 44$
Меланин		$36,5 \pm 8$	$20,2 \pm 6,5^*$	$2,3 \pm 0,3^*$	$82,5 \pm 7,6$	$141 \pm 7,6$

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с облучённым контролем ($p < 0,05$).

Приём меланина внутрь способствует более полному восстановлению ориентировочно-двигательных расстройств в период реконвалесценции после острого и фракционированного облучения.

Важно отметить, что меланин не токсичен, не обладает радиосенсибилизирующими свойствами при длительном приёме до облучения и не снижает эффекта его последующего применения в процессе развития ОЛБ. Лечебные свойства меланина сохраняются при

относительно невысоких дозах (6 Гр, СД_{30/30}), что подтверждается показателями выживаемости, а при не летальных воздействиях (5 Гр) проявляются благоприятным действием на гематологический статус леченных животных и состояние центральных органов гемопоэза и иммунитета (тимус, селезёнка). При относительно малых дозах (1-1,25 Гр) позитивный эффект меланина ранее был продемонстрирован по показателям развития потомства крыс, подвергавшегося однократному и пролонгированному облучению в период эмбриогенеза [53, 54, 81].

В реализации противолучевого действия меланина важную роль, вероятно, играет его выраженная антиоксидантная активность [44, 80]. Известно, что различные меланины, ингибируют перекисное окисление липидов благодаря их способности перехватывать супероксидный радикал O_2^- и перекисные радикалы органических соединений [78, 159]. Показано также, что меланины усиливают иммунную защиту организма [53, 54, 198], обладают антимуtagenным действием [74, 97], способствуют выработке цитокинов (интерлейкин 6, интерлейкин 8, туморнекротирующий фактор и др.) – эндогенных регуляторов гемопоэза и иммунитета [146, 147, 188, 198].

Полученные результаты послужили экспериментальным обоснованием для «Методических рекомендаций по использованию биологически активной добавки к пище, содержащей меланин, в качестве средства повышения радиорезистентности». Предполагаемыми контингентами, рекомендуемыми для приёма меланина, являются работники атомной промышленности, экипажи атомного флота и космических кораблей, медицинский персонал, постоянно контактирующий с источниками ионизирующего излучения.

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

3.5.3. Лечебное действие рекомбинантной формы марганецсодержащей супероксиддисмутазы при протонном облучении

Эксперимент по исследованию противолучевых свойств рекомбинантной формы марганецсодержащей супероксиддисмутазы (rMnSOD) на примере мышей, облученных

протонами в сублетальной дозе, был выполнен совместно с сотрудниками ОИЯИ и итальянскими коллегами из Университета Удине (Милан) и Национального института рака IgCCS (Неаполь).

Известно, что фермент супероксиддисмутаза (СОД) имеет радиозащитную способность [134, 212]. Исследования свойств СОД были проведены в основном на прокариотах [169] или на клеточных культурах [149], часть работ выполнена на грызунах [134]. В некоторых публикациях СОД рассматривается в качестве антиоксиданта и противолучевого средства, проявляющего эти свойства при нелетальных дозах ионизирующего излучения [11, 15]. При освоении космического пространства, создание средств повышения радиационной безопасности космонавтов является одной из основных задач радиационной медицины. Данный раздел работы посвящен оценке противолучевых свойств гMnSOD *in vivo* при сублетальном облучения протонами в дозе 4 Гр.

После облучения протонами с энергией 171 МэВ в дозе 4 Гр различным группам животных подкожно вводилась либо гMnSOD (1 мкг/0,5 мл физиологического раствора), либо 0,5 мл физиологического раствора (ФР).

Три группы облученных животных получали гMnSOD. Две из них получали инъекцию гMnSOD однократно сразу после облучения и были обследованы – одна через 43 ч, другая – через 7 суток после облучения. Третья группа ежедневно получала по одной инъекции препарата в течение шести суток, начиная с первой инъекции сразу после облучения. Обследование этой группы проведено на седьмые сутки после облучения. Три другие облученные группы получали ФР и тестировались параллельно с лечеными гMnSOD. Контрольная необлученная группа не получала никакого лечения.

Результаты лечебного действия рекомбинантной формы марганецсодержащей супероксиддисмутазы (гMnSOD) на гематологический статус мышей, облученных однократно протонами с энергией 171 МэВ в дозе 4 Гр представлены в таблице 21. По полученным данным видно, что облучение мышей протонами не оказало статистически значимого влияния на массу тела животных. Однако минимальное снижение веса (около 5%) по отношению к группе биоконтроля наблюдалось у животных в группе с ежедневным введением гMnSOD после облучения (рисунок 25, таблица 21).

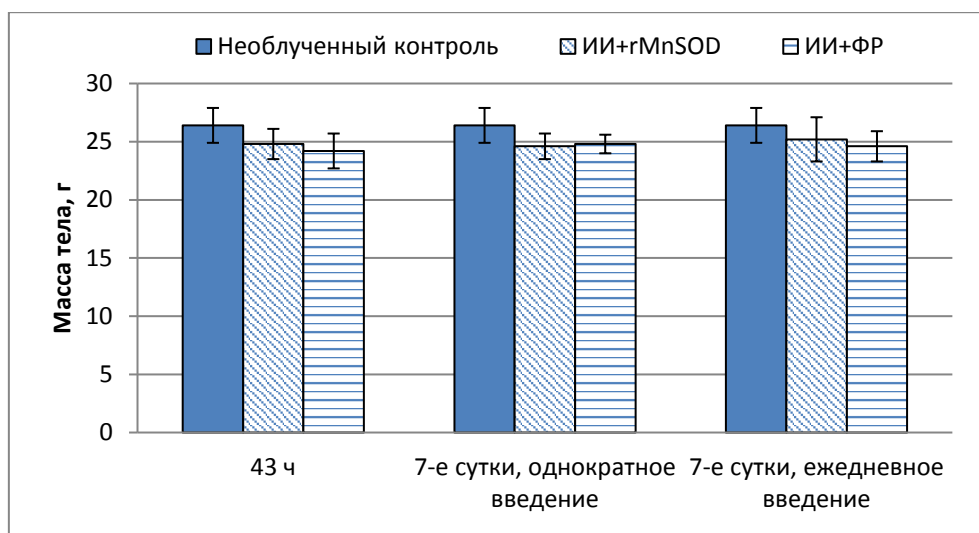


Рисунок 25. Масса тела мышей ($M \pm m$). Измерения выполнены в различные периоды времени после облучения протонами в дозе 4 Гр и введения rMnSOD или ФР

Тимус и селезенка, т.е. ключевые органы иммунной системы, статистически значимо снизили свою массу через 43 ч после облучения по сравнению с группой контроля. Однократная инъекция rMnSOD не оказала в этот срок позитивного эффекта на состояние указанных органов (рисунок 26, 27). Число кариоцитов в бедренной кости облученных животных и число лейкоцитов в периферической крови статистически значимо снизилось через 43 ч после облучения (рисунок 28, 29). При этом уровень снижения оказался схожим в группах мышей, получавших rMnSOD и ФР.

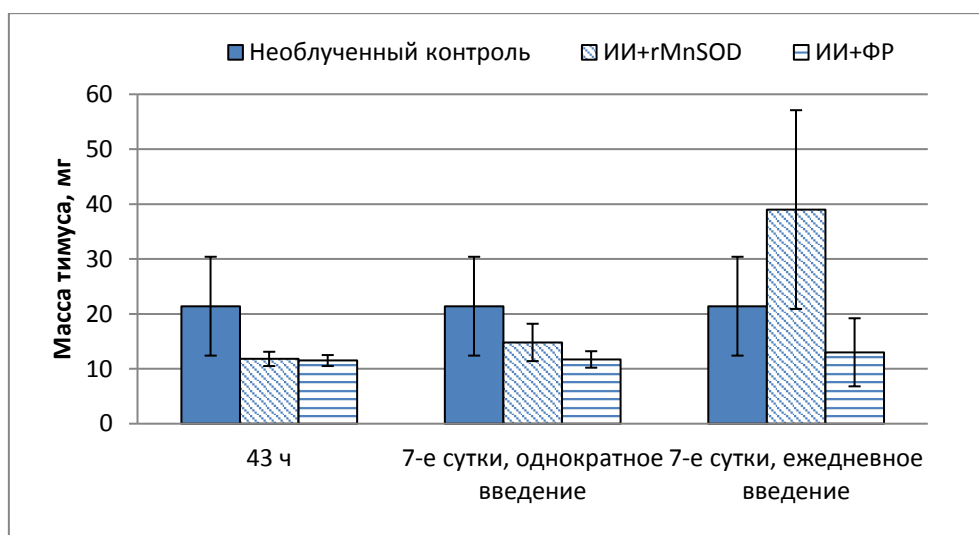


Рисунок 26. Масса тимуса мышей ($M \pm m$). Измерения выполнены в различные периоды времени после облучения протонами в дозе 4 Гр и введения rMnSOD или ФР

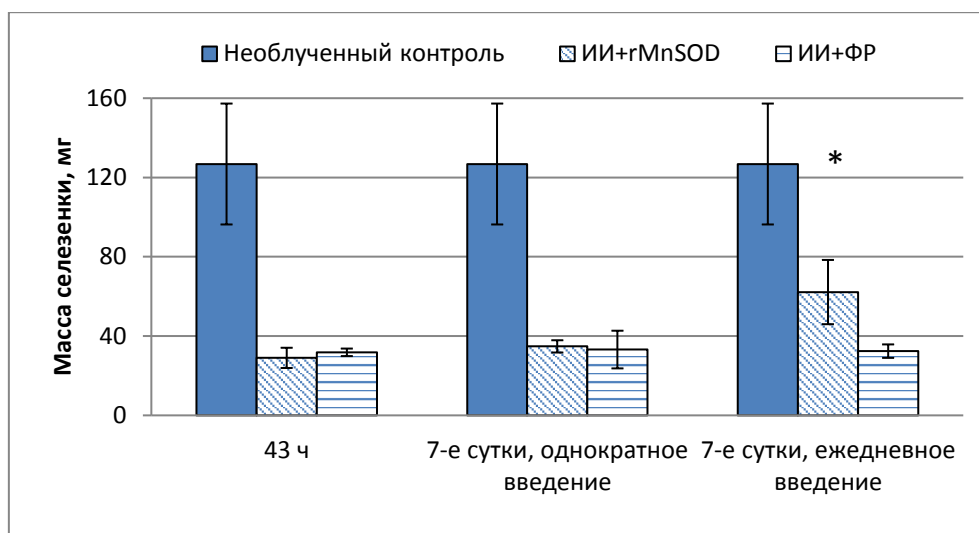


Рисунок 27. Масса селезенки мышей ($M \pm m$). Измерения выполнены в различные периоды времени после облучения протонами в дозе 4 Гр и введения rMnSOD или ФР.

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с группой ИИ+ФР, $p < 0,05$

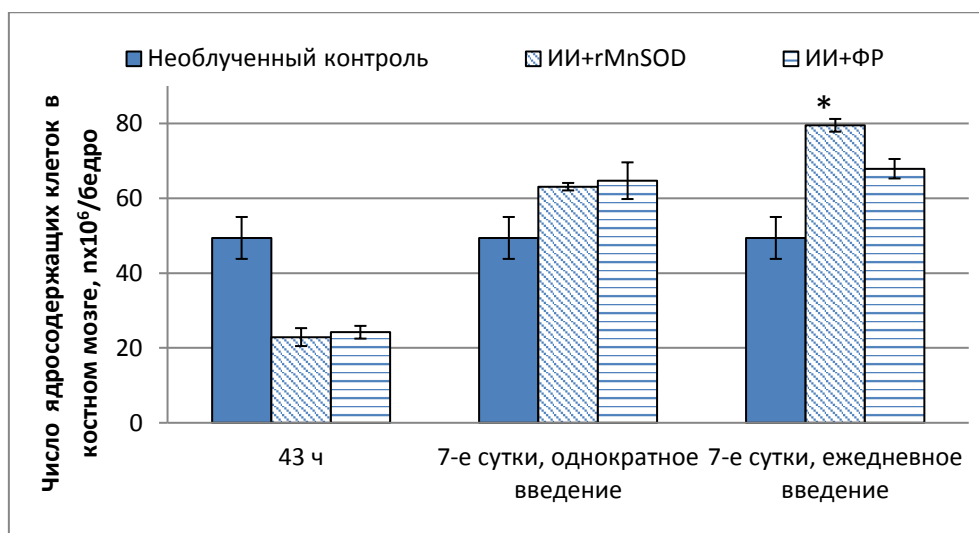


Рисунок 28. Число ядродержащих клеток в бедренной кости (красный костный мозг) мышей после облучения протонами в дозе 4 Гр и введения rMnSOD или ФР.

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с группой ИИ+ФР, $p < 0,05$

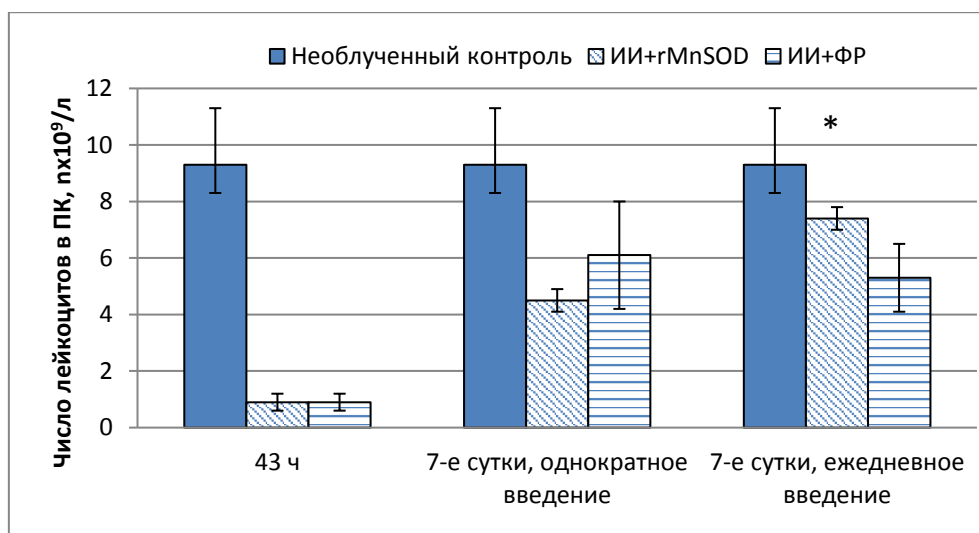


Рисунок 29. Число лейкоцитов периферической крови (ПК) мышей в различные периоды времени после облучения протонами в дозе 4 Гр и введения rMnSOD или ФР

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с группой ИИ+ФР, $p < 0,05$

Через 43 ч после облучения отмечено статистически значимое снижение митотической активности клеток костного мозга в группах, получавших rMnSOD и ФР соответственно, по сравнению с группой контроля, где эта величина достигала значения 2,5% (рисунок 30, таблица 21). Однако различия между группами, получавшими rMnSOD и ФР, были статистически не значимы.

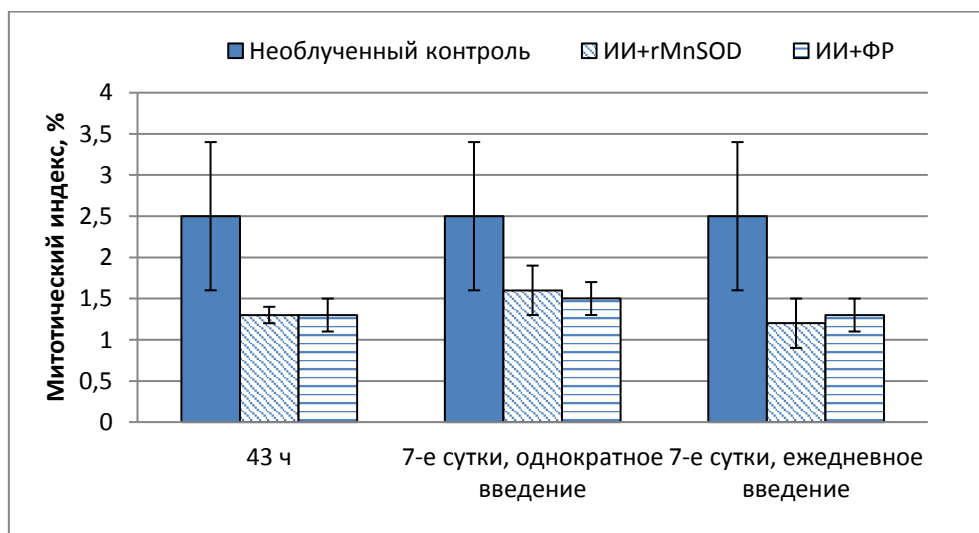


Рисунок 30. Митотический индекс клеток костного мозга мышей в различные периоды времени после облучения протонами в дозе 4 Гр и введения rMnSOD или ФР

Таблица 21. Иммуногематологический статус леченных rMnSOD мышей после облучения протонами в дозе 4 Гр (M±m)

Сроки обследования	Группа животных	Масса тела, г	Масса селезенки, мг	Масса тимуса, мг	Число ядродержащих клеток в костном мозге, $n \times 10^6$ /бедро	Число лейкоцитов в периферической крови, $n \times 10^9$ /л	Митотический индекс клеток костного мозга, %	Число aberrantных митозов в клетках костного мозга, %
43 часа	Контроль	26,4±1,5	126,8±30,5	21,4±9	49,4±5,6	9,3±2	2,5±0,9	2,2±3,2
	Однократное введение rMnSOD сразу после облучения	24,8±1,3	29±5,1*	11,8±1,3	22,9±2,4*	0,9±0,3*	1,3±0,1	47,6±2,8*
	Однократное введение ФР сразу после облучения	24,2±1,5	31,8±1,9*	11,5±1	24,2±1,7*	0,9±0,3*	1,3±0,2	45,9±8,1*
7-е сутки	Однократное введение rMnSOD сразу после облучения	24,6±1,1	34,8±3,1*	14,8±3,4	63,1±1*, **, ***, #	4,5±0,4*, **, ***, #	1,6±0,3	26,7±3,3*, **, ***, #
	Однократное введение ФР сразу после облучения	24,8±0,8	33,2±9,5*	11,7±1,5	64,7±4,9*, **, ***, #	6,1±1,9**, ***, #	1,5±0,2	22,7±2,9*, **, ***, #
	Ежедневное введение rMnSOD	25,2±1,9	62,2±16,2*, **	39±18,1	79,5±1,7*, **, ***, #	7,4±0,4**, ***, #	1,2±0,3	29,5±4,8*, **, ***, #
	Ежедневное введение ФР	24,6±1,3	32,4±3,4*	13±6,2	67,9±2,6*, **, ***, #	5,3±1,2**, ***, #	1,3±0,2	29,4±10,5*

Примечание: * статистически значимая разница по сравнению с группой «Контроль», $p < 0,05$

** статистически значимая разница по сравнению с группой «Однократное введение rMnSOD сразу после облучения», $p < 0,05$; *** статистически значимая разница по сравнению с группой «Однократное введение ФР сразу после облучения»; $p < 0,05$; # статистически значимая разница по сравнению с группой «Ежедневное введение rMnSOD», $p < 0,05$

На седьмые сутки после облучения у всех групп мышей, получавших ФР, отмечено незначительное восстановление массы тимуса и селезенки. Кроме того, однократное введение гMnSOD не повлияло на пострadiационное восстановление этих лимфоидных органов. Иные результаты были получены в группе интенсивного ежедневного лечения. У животных, пролеченных гMnSOD в течение шести суток, показатели массы тимуса и селезенки были значительно выше, чем в группе, получавшей ФР. На седьмые сутки после сублетального облучения отмечено гипервосстановление клеточности костного мозга в группах, получавших гMnSOD и ФР, как после однократной, так и особенно после многократных инъекций. В этой группе число кариоцитов было статистически значимо выше, чем в контроле. Более того, самое интенсивное восстановление наблюдалось у мышей, получавших гMnSOD ежедневно. В этой группе также наблюдалось более выраженное восстановление числа лейкоцитов в периферической крови по сравнению с группой, получавшей ФР. Наблюдаемые различия были статистически значимыми. В отличие от этого, однократная инъекция гMnSOD сразу после облучения не приводила к заметному восстановлению числа лейкоцитов в этот период. На седьмые сутки в группах животных, однократно пролеченных гMnSOD или ФР, не наблюдалось значимого восстановления митотического индекса клеток костного мозга по сравнению с группами, проанализированными через 43 ч после облучения. Таким образом, наши результаты, характеризующие состояние органов иммунной системы и гемопоэза, указывают на наличие лечебного эффекта у препарата гMnSOD при острой лучевой болезни на уровне сублетальной дозы протонного облучения.

Использование антиоксидантов при лечении и профилактике целого ряда заболеваний у человека находит все более широкое распространение [148]. Центральное место среди таких медицинских средств занимают супероксиддисмутазы, использование которых в лечении лучевых поражений у человека представляется перспективным. Учитывая сложность доставки фармакологических доз СОД в живые ткани, предпринимаются усилия в направлении создания химических имитаторов супероксиддисмутазы [208]. Например, уровень MnSOD в организме экспериментальных животных может быть повышен с помощью плазмиды MnSOD. С помощью этого приема удастся несколько повысить радиорезистентность [174]. В связи с этим разработка препарата на основе рекомбинантной MnSOD может стать важной задачей. RMnSOD при многократном внутрибрюшинном введении обеспечило выживание экспериментальных животных, облученных рентгеновскими фотонами [134]. Возможность вводить эту форму MnSOD парентерально обеспечивает быстрое создание терапевтических концентраций препарата в организме.

В наших экспериментах удалось заменить внутрибрюшинный путь введения препарата rMnSOD на более приемлемый в медицинской практике и космических полетах подкожный путь введения.

Продемонстрирована возможность достижения позитивного эффекта препарата rMnSOD не только при рентгеновском облучении, но и при протонном, что открывает определенные перспективы использования этого препарата не только для снижения негативных воздействия на членов экипажа факторов космического полета, но и для защиты здоровых тканей при осуществлении протонной терапии онкологических заболеваний. Отсутствие позитивного эффекта rMnSOD при однократном введении указывает на то, что в ходе лучевого поражения недостаточно кратковременного повышения концентрации антиоксидантов в ближайший к облучению период. Очевидно, лучевое поражение вызывает длительное нарушение антиоксидативного статуса организма, поэтому требуется целый курс лечебного применения антиоксидантов.

Обращает внимание мощное фармакологическое действие rMnSOD на процесс восстановления органов кроветворения и иммунитета – тимуса, селезенки и костного мозга. Мы не наблюдали спонтанного восстановления тимуса и селезенки в течение относительно длительного периода времени после облучения (7 сутки). Данное обстоятельство может свидетельствовать о возможностях rMnSOD в лечении иммунодефицитов и гематологических нарушений, широко распространенных у современного человека. Следует также отметить, что в число факторов космического полета включается ультрафиолетовое облучение, негативное действие которого может быть нивелировано супероксиддисмутазой [209].

Таким образом, рекомбинантная форма марганецсодержащей супероксиддисмутазы (rMnSOD) является препаратом выбора при лечении костно-мозговой формы острой лучевой болезни после протонного облучения в сублетальных дозах

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

По современным представлениям, во время длительных и дальних межпланетных полетов организм космонавта будет подвержен ГКЛ, излучению солнечных вспышек, нейтронному и γ -излучению, которые возникают в процессе ядерных взаимодействий первичного космического излучения с веществом космического корабля и биологической тканью, а также излучению от ядерно-энергетических и других радиоизотопных установок [28].

Избежать воздействия космических лучей невозможно, охрана здоровья является первостепенной проблемой при воздействии на космонавтов ГКЛ и СКЛ, протоны в которых составляют 90%, особенно во время СПС. Понимание радиобиологического действия протонов является принципиальным моментом как для оценки неблагоприятного действия радиации при орбитальных и межпланетных полетах, так и при протонной лучевой терапии. Вопросы, касающиеся физических характеристик радиобиологии протонов, так же как и вопросы биологического ответа на протонное воздействие, уже в течение длительного времени в центре внимания радиобиологов, однако, на многие вопросы до сих пор нет ответов.

В частности, в доступной литературе имеются единичные сообщения о тотальном облучении экспериментальных животных, в нашем случае мышей, в модифицированном пике Брэгга. Мало данных об эффективности противолучевых средств при облучении протонами, которые являются основной компонентой космической радиации. Так же на данный момент мы не встретили упоминаний по исследованию влияния физической защиты на радиобиологические эффекты тотального протонного облучения. Учитывая продолжающееся освоение космического пространства, создание средств повышения радиационной безопасности космонавтов является насущной задачей космической радиобиологии.

В связи с этим были поставлены цель и задачи работы. Целью работы является оценка биомедицинских эффектов протонов с различной ЛПЭ и способы их модификации применительно к решению задачи обеспечения радиационной безопасности космонавтов во время длительных полетов. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи исследования:

1. Создать экспериментальные условия для исследования действия протонного излучения с различной ЛПЭ в диапазоне 0,49-1,6 кэВ/мкм *in vivo* при тотальном облучении.
2. Исследовать зависимости доза-эффект протонов в расширенном пике Брэгга *in vivo* по показателям состояния центральных органов иммунитета и кроветворения.
3. Оценить радиобиологический эффект протонов с энергией 171 МэВ, модифицированных элементами физической защиты космического корабля, по комплексу показателей функционального состояния системы кроветворения и центральной нервной системы.

4. Определить эффективность использования известных противолучевых средств при облучении протонами.

В большинстве известных работ традиционно животных подвергали облучению моноэнергетичным пучком протонов, и в зависимости от энергии пучка происходило формирование пика Брэгга на разной глубине в тканях. Нами была решена задача облучения мышей таким образом, чтобы пик Брэгга протонов с энергией 171 МэВ приходился на все тело мыши равномерно. С этой целью был использован гребенчатый фильтр, представляющий собой, устанавливаемый на пути пучка протонов с энергией 171 МэВ замедлитель, толщина которого изменяется в поперечном сечении пучка по определенному закону. Частицы, проходя через различные участки гребенчатого фильтра и теряя при этом часть первоначальной энергии, образуют набор пиков Брэгга с уменьшенным пробегом. С помощью рассеивателя пучок перемешивается и в результате суммирования этих сдвинутых пиков с не замедленной частью пучка формируется модифицированное (расширенное) дозное распределение [70]. Конфигурация гребенчатого фильтра должна быть рассчитана таким образом, чтобы прошедшие через него протоны при перемешивании образовывали требуемое глубинное дозное распределение – плоскую вершину с постоянной мощностью дозы заданной протяженности и крутой спад дозы за ней [71]. Использование гребенчатого фильтра позволило модифицировать протонный пучок для облучения животных не только протонами со средней ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм, но и протонами со средней ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм.

Для проведения тотального облучения экспериментальных животных была сконструирована специальная клетка из перфорированного термопластика, позволившая облучать одновременно по две мыши, находящиеся изолированно друг от друга перпендикулярно по отношению к пучку протонов. Так как во время облучения животные находились в фиксированном положении, частицы проходили через все тело мыши, поражая все органы и ткани.

В результате проведенной работы установлено, что на организменном уровне протоны с ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм имеют больший поражающий эффект по сравнению с высокоэнергетичными протонами с ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм по показателям центральных органов кроветворения и иммунитета: массе тимуса и селезенки, числу лейкоцитов в периферической крови, числу ядродержащих клеток костного мозга, уровню аберрантных митозов и митотической активности клеток костного мозга.

Согласно литературным данным на эпителии роговицы *in vivo* в силу различной ЛПЭ протонов величина ОБЭ меняется от 6,97 до 1,2 при облучении протонами с энергиями в пределах 10-645 МэВ с высокой и низкой мощностью дозы. По нашим данным было установлено, что поражающий эффект в органах кроветворения и иммунитета γ -излучения ^{60}Co оказался в

большинстве опытов выше, чем при облучении протонами в первые 24 часа после воздействия, что может указывать на величину ОБЭ для протонов исследуемых энергий равную или меньше 1,0. По нашим данным, не вошедшим в данную диссертационную работу, установлено, что величина ОБЭ корпускулярного излучения зависит от ряда факторов: линейной передачи энергии частиц, мощности дозы и дозы облучения, наличие или отсутствие кислорода, от объекта исследования, типа ткани [21].

При изучении эффектов восстановления нами установлено, что во всем исследованном дозовом диапазоне (1,0-5,0 Гр) по большинству изученных показателей системы кроветворения и иммунитета процессы восстановления в группе животных, облученных протонами с низкой ЛПЭ (0,40 кэВ/мкм) опережают таковые после воздействия протонов с высоким уровнем ЛПЭ (1,6 кэВ/мкм).

В данной работе мы не ограничивались исследованием радиобиологического действия протонного излучения, но и попытались решить практически значимые задачи, такие как физическая и фармакологическая защита при протонном облучении.

Воздействие радиации во время космического полета может немедленно повлиять на вероятность успешного завершения миссии или может в дальнейшем привести к развитию отдаленных последствий радиационного поражения у космонавтов [165]. Следует отметить, что оболочка космического корабля является сложной многокомпонентной структурой. Корабль оснащён кабельными сетями и всевозможным оборудованием [59, 68], которое может модифицировать внешнее корпускулярное излучение. Протоны составляют основную часть космического излучения. Они входят в состав ГКЛ, СКЛ и радиационных поясов Земли, и таким образом очевидно, что протоны являются одним из основных радиационных факторов в космическом полете, способны неблагоприятно повлиять на работу космонавтов. Исходя из всего вышесказанного, необходимо исследовать какой эффективностью обладает протонное излучение, модифицированное элементами космического аппарата. Известно, что в результате ядерных взаимодействий протонов в веществе и ткани образуются вторичные нейтроны, вклад которых в поглощенную дозу зависит от солнечной активности и степени защищенности корабля [113].

Во время космического полета радиационную ситуацию трудно спрогнозировать. Особое значение приобретает разработка комплекса мероприятий, направленного на защиту живых организмов от ионизирующего излучения, и изыскание способов ослабления поражающего действия ионизирующих излучений – радиационной защиты, которая является одним из направлений радиобиологии.

В экспериментах с использованием физической преграды на пути пучка протонов, в виде гребенчатого фильтра полученные данные свидетельствуют о том, что такая преграда

увеличивает ЛПЭ протонов входа с энергией 171 МэВ с 0,49 кэВ/мкм до 1,6 кэВ/мкм, и повышает биологическую эффективность протонов в 1,3 раза по числу кариоцитов костного мозга при сравнении доз облучения, вызывающих 37% угнетение костномозгового кроветворения, кроме того увеличивается мощность дозы с 0,37 Гр/мин для протонов входа до 1,1 Гр/мин для замедленных протонов, что в свою очередь, более чем в 2,5 раза, сокращает время облучения, необходимое для достижения равных радиобиологических эффектов при равной мощности дозы внешнего по отношению к космическому кораблю облучения.

По предложению Шуршакова В.А. и соавторов [56] в настоящее время на борту МКС используется физическая защиты в виде изделия «Шторка защитная», изготовленная из гигиенических салфеток. Определенный интерес в вопросе физической защиты представляет исследование «Шторки» на биологическую эффективность при облучении протонами. С этой целью, в своей работе в качестве имитатора стекла иллюминатора мы использовали 7 стеклянных фотопластинок, сложенных в одну конструкцию размером $13 \times 18 \times 2,0$ см³, а суммарная массовая толщина конструкции из стекла 4,9 г/см², что эквивалентно 4,0 г/см² воды. Использовали также конструкцию из 4-х слоёв гигиенических салфеток общим размером $7,6 \times 7,8 \times 6,8$ см³ с суммарной массовой толщиной конструкции 5 г/см² (что эквивалентно 5,0 г/см² воды), применяющихся в изделии «Шторка защитная». Данный комплекс был установлен при облучении животных на пути прохождения пучка протонов с энергией 171 МэВ. Результаты показали, что при такой защите происходит увеличение ЛПЭ частиц и увеличение поглощенной дозы, а также усиление радиобиологического эффекта. При совместном использовании двух видов преграды в виде стеклянной пластины и влажных гигиенических салфеток, поглощенная доза увеличилась с 200 мГр до 232 мГр.

Установлено отчетливое дозозависимое снижение числа кариоцитов костного мозга в диапазоне доз от 200 до 232 мГр через 24 часа после облучения: $16,7 \pm 1,1 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро и $13,9 \pm 0,5 \times 10^6$ ядродержащих клеток на бедро для протонов входа и после прохождения протонов через физическую преграду двух видов, соответственно.

Причиной повышения радиобиологической эффективности при прохождении через данный вид преграды мог послужить вклад продуктов ядерного взаимодействия протонов с веществом защиты, что привело к образованию вторичных частиц, вклад в биологическую дозу которых может достигать 30% из-за большой ОБЭ низкоэнергетичных вторичных частиц [42].

Полученные данные указывают на исключительную актуальность всесторонней оценки физической защиты от корпускулярного излучения, и для полной уверенности в выводах, основанных на математических расчётах, необходима постановка прямых физических и радиобиологических экспериментов на животных при анализе материалов и конструкций физической защиты. В таких экспериментах следует испытать реальные элементы оболочки

проектируемых космических кораблей на их способность защищать животных от корпускулярного излучения, в частности, протонов различных энергий и тяжёлых заряженных частиц, с учётом вторичного излучения.

Противолучевая защита включает в себя не только физические преграды, но также и меры фармакологической коррекции лучевых поражений. В течение многих десятилетий специалисты в области космической радиобиологии проводят разработки и поиск фармакологических препаратов, обладающих противолучевыми свойствами при действии космической радиации. Следует учитывать, что при прохождении космического излучения через оболочку космического корабля образуются вторичные частицы, поэтому противолучевые средства необходимо изучать при воздействии нескольких видов излучения.

Перед нами была поставлена задача оценить эффективность использования известных противолучевых средств при облучении протонами. Наше внимание привлекли такие препараты, как вакцина «Гриппол», меланин и классический противолучевой препарат супероксиддисмутаза (СОД) [135] в форме рекомбинантной марганецсодержащей супероксиддисмутаза.

В литературе много данных о вакцинах, обладающих противолучевыми свойствами [66]. В этой связи был интерес исследовать вакцину «Гриппол» массового применения, широко используемой в медицинской практике. Способность вакцины «Гриппол» повышать резистентность по отношению к γ -облучению доказана экспериментально [48, 85], но т.к. протонное облучение, характерное для космического пространства, имеет определенные особенности в действии на организм млекопитающих по сравнению с γ -облучением, то представляет интерес исследования влияния данной вакцины на радиорезистентность при облучении протонами. Наши результаты продемонстрировали радиопротекторную активность препарата «Гриппол» при 30-суточной выживаемости мышей, подвергнутых летальному облучению протонами с энергией 171 МэВ. При исследовании радиопротекторной эффективности вакцины по показателю выживаемости было установлено, что профилактическое введение за 10 суток до радиационного воздействия оказывает положительный эффект – выживаемость составила 100% при всех изученных дозах, при гибели 9–33% животных в контрольной группе облучения. Полученные данные демонстрируют целесообразность применения вакцины «Гриппол» для контингентов групп риска облучения летальными дозами, с целью повышения радиорезистентности.

Большинство известных радиопротекторов действуют экстренно, за 15-60 минут до облучения, обладают токсическим эффектом [15], что может привести к снижению работоспособности, и такие препараты становятся не актуальными для использования в космической отрасли и в профессиональной деятельности, связанной с длительным контактом с источниками ионизирующего излучения. В связи с этим мы провели изучение действия меланина

– натуральный препарат, изготовленный из лужги гречихи в НИИ биологии Иркутского государственного университета [84]. Установлены выраженные противолучевые свойства меланина при фотонном облучении при парентеральном введении [6, 47, 82, 176]. Меланин имеет высокую степень растворимости – на уровне 95-98% (концентрация парамагнитных центров не менее 6×10^{17} спин/г), что позволило использовать его с питьевой водой из расчета 12,5 мг сухого вещества на 100 мл воды. Нашей задачей было исследование действия меланина при длительном применении с питьевой водой на радиорезистентность мышей.

В эксперименте при тотальном 10-кратном облучении по 1 Гр в суммарной дозе 10 Гр привело к гибели 56,3% контрольных мышей. В то же время у животных, ежедневно получавших меланин с питьевой водой во время облучения и далее на протяжении 30 суток, лучевое поражение завершилось 100% выживаемостью. Эффективное применение меланина при длительном фракционированном облучении дает возможность использования его для уменьшения поражающего действия.

Данные, полученные при изучении лечебного действия меланина при остром рентгеновском и γ -облучении в диапазоне доз 6-7,5 Гр ($СД_{30/30}$ - $СД_{100/30}$), демонстрируют увеличение выживаемости у мышей, получавших меланин с питьевой водой в течение 30 суток после облучения, на 13-18%, по сравнению с группой контроля. В пролеченной группе из 80 животных выжило 21 (26%), в контроле 10 из 107 (9,3%).

Нами было проведено несколько экспериментов, направленных на изучение лечебного действия меланина в период развития костномозговой формы ОЛБ, вызванной воздействием протонного излучения. Полученные результаты свидетельствуют о благоприятном действии меланина по сравнению с группой контроля по показателям массы селезенки, числа ядросодержащих клеток костного мозга ($23,9 \pm 1 \times 10^6$ ядросодержащих клеток на бедро и $19,2 \pm 1,2 \times 10^6$ ядросодержащих клеток на бедро, соответственно, различия статистически значимые) и числу лейкоцитов в периферической крови.

Проведенные исследования с использованием меланина в качестве фармакологической защиты при однократном протонном и фотонном воздействии свидетельствуют о том, что меланин обладает противолучевыми свойствами при костномозговой форме ОЛБ, что дает возможность использовать его в качестве защитного и лечебного препарата.

Фермент рекомбинантной марганецсодержащей супероксиддисмутазы обладает выраженной антиоксидантной активностью [17, 101, 212]. Нам была предоставлена возможность в составе коллектива с участием итальянских ученых – разработчиков препарата, исследовать противолучевые свойства γ MnSOD. Препарат вводили подкожно сразу после сублетального протонного облучения и затем в течение 6 суток.

Полученные данные указывают на эффективность применения гMnSOD. Так ежедневное подкожное введение препарата в течение 6 суток после облучения обеспечило статистически достоверное ускоренное восстановление массы тимуса и селезенки, числа лейкоцитов в периферической крови на седьмые сутки после воздействия радиации, по сравнению с группой, 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 гMnSOD, гипертрофическое восстановление этого показателя было еще более значительным. Результаты, полученные по показателям состояния органов иммунитета и кроветворения, указывают на наличие лечебного эффекта у препарата гMnSOD при острой лучевой болезни на уровне сублетальной дозы протонного облучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Перспектива освоения человечеством других планет Солнечной системы и вероятность нежелательных воздействий космических лучей на экипаж космических кораблей послужили мощным стимулом развития широких радиобиологических исследований с различными источниками радиации, в частности протонного излучения с целью получения четких и достоверных сведений об особенностях радиационных поражений, вызываемых при облучении потоком частиц, в различных биологических системах. В данной работе проведена комплексная оценка радиобиологических эффектов протонного излучения на уровне целостного организма при тотальном облучении на состояние центральных органов кроветворения и иммунитета. Во-первых, были оценены радиобиологические эффекты воздействия протонов с разной ЛПЭ на центральные органы иммунитета и кроветворения. Наши данные показывают, что 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, поражающий радиобиологический эффект γ -излучения ^{60}Co оказался в большинстве опытов за исключением цитогенетических показателей клеток костного мозга выше, чем у протонного излучения в первые 24 часа после облучения, что может указывать на величину ОБЭ для протонов исследуемых энергий меньше 1,0. По показателям цитогенетических исследований ОБЭ протонов больше 1,0 при облучении в дозах 1 и 5 Гр.

Во-вторых, в литературных источниках нет упоминаний об оценке радиобиологических эффектов протонов, прошедших через элементы физической защиты, поэтому в данной работе, нами были проведен ряд исследований с использованием физической защиты в виде гребенчатого фильтра, устанавливаемого на пути протонного пучка, а также, элементов физической защиты в виде стеклянной пластины, имитирующей иллюминатор космического корабля и укладок из водосодержащих штатных гигиенических материалов, что воспроизводит используемое в настоящее время на РС МКС изделие «Шторка защитная». Так же в данной работе был сделан выбор биологического показателя – числа ядродержащих клеток костного мозга, дозозависимое снижение которого было установлено через 24 часа после воздействия радиации

Использование физической преграды в виде изделия «Шторка защитная», которая состоит из влажных гигиенических салфеток и стеклянной пластины, имитирующей иллюминатор МКС, установленной на пути протонного пучка с энергией 171 МэВ увеличивает их ЛПЭ и приводит к увеличению поглощенной дозы и усилению радиобиологического эффекта. Полученные данные указывают на исключительную актуальность всесторонней оценки физической защиты от корпускулярного излучения, и для полной уверенности в выводах, основанных на

математических расчётах, необходима постановка прямых физических и радиобиологических экспериментов на животных при анализе материалов и конструкций физической защиты. В таких экспериментах следует испытать реальные элементы оболочки проектируемых космических кораблей на их способность защищать животных от корпускулярного излучения, в частности, протонов различных энергий и тяжёлых заряженных частиц, с учётом вторичного излучения.

В-третьих, при длительных космических полетах необходима не только физическая защита экипажа, но также и фармакологическая с помощью специальных противолучевых лекарственных средств. В данной работе были успешно использованы лекарственные средства разного действия и различными путями введения. Вакцина «Гриппол» широко используемая в медицине. Мы использовали в работе водорастворимый меланин, который в настоящее время выпускается в форме биологически активной добавки к пище. В эксперименте мыши получали раствор меланина с дистиллированной водой в качестве питья в свободном доступе. Нами была показана целесообразность выбора рекомбинантной формы марганецсодержащей супероксиддисмутазы при костномозговой форме острой лучевой болезни после протонного облучения в сублетальных дозах.

Подводя итог всему вышеизложенному, можно заключить, что цель данного исследования достигнута посредством решения поставленных задач. Во-первых, были разработаны условия для изучения действия протонного излучения с различной ЛПЭ *in vivo*. Во-вторых, произведена оценка биомедицинских эффектов протонов с различной ЛПЭ. Были показаны способы модификации протонного излучения элементами физической защиты, в частности укладкой из гигиенических салфеток «Шторка защитная», которая используется на борту МКС, что выразилось в увеличении ЛПЭ, поглощенной дозы и мощности дозы протонов, и привело к повышению биологической эффективности протонов. Была произведена оценка эффективности использования известных противолучевых средств при облучении протонами: показано, что фармакологическая коррекция лучевого поражения возможна при использовании вакцины «Гриппол» и антиоксидантов: меланина в качестве питьевой воды и рекомбинантной формы марганецсодержащей супероксиддисмутазы. Вакцина «Гриппол» показала защитный эффект по показателю 30-ти суточной выживаемости при введении за 10 суток до воздействия протонного облучения в дозах 7-8,5 Гр. Водорастворимый меланин обладает лечебным действием при остром и фракционированном γ -рентгеновском и протонном излучении в дозах 2,5-7,5 Гр. Рекомбинантная форма марганецсодержащая супероксиддисмутазы оказала лечебное действие при костномозговой форме ОЛБ после протонного излучения в дозе 4 Гр.

ВЫВОДЫ

1. Созданы экспериментальные условия для изучения *in vivo* радиобиологических эффектов протонов в модифицированном пике Брэгга: изготовлено специальное устройство, проведена дозиметрическая и радиобиологическая оценка модели.

2. Моделирование сложной физической защиты в виде гребенчатого фильтра приводит к увеличению ЛПЭ протонов входа с энергией 171 МэВ с 0,49 кэВ/мкм до 1,6 кэВ/мкм и повышает радиобиологическую эффективность протонов.

3. Снижение энергии протонов со среднего значения 171 МэВ (ЛПЭ 0,49 кэВ/мкм) до среднего уровня 30 МэВ (ЛПЭ 1,6 кэВ/мкм) обеспечивает *in vivo* статистически значимое увеличение поражающего эффекта по числу ядросодержащих клеток костного мозга и замедленное восстановление по цитогенетическим показателям в диапазоне доз 1-5 Гр.

4. Экспериментальное использование средств физической защиты «Шторки защитной» и стеклянной пластины, имитирующей иллюминатор космического аппарата, приводит к увеличению поглощенной дозы протонов с энергией 171 МэВ, и, соответственно, к статистически значимому усилению радиобиологических эффектов протонов по показателям массы тимуса, числа ядросодержащих клеток костного мозга и лейкоцитов в периферической крови в опыте на мышах.

5. Вакцина «Гриппол» при профилактическом введении мышам до летального протонного облучения увеличивает выживаемость защищенных животных.

6. Установлено наличие лечебного противолучевого эффекта у препарата γ MnSOD при костно-мозговой форме острой лучевой болезни после протонного облучения в сублетальной дозе по показателям состояния органов иммунитета и кроветворения.

7. Противолучевая эффективность меланина наряду с простотой применения, практическим отсутствием токсичности позволяют рассматривать эту биологически активную добавку, как перспективное средство профилактики и лечения радиационных поражений.

8. Фармакологические противолучевые средства: водорастворимый меланин, γ MnSOD и вакцина «Гриппол» являются потенциальными препаратами для обеспечения радиационной безопасности космонавтов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ГКИ – галактическое космическое излучение;
- Гр – Грей;
- ГС – гигиенические салфетки;
- ИИ – ионизирующее излучения;
- кэВ – килоэлектронвольт (1000 эВ);
- ЛПЭ – линейная передача энергии;
- мкм – микрометр (10^{-6} метра);
- МКС – Международная космическая станция;
- МИ – митотический индекс;
- МэВ – мегаэлектронвольт (1 млн. электронвольт);
- ОБЭ – относительная биологическая эффективность;
- ОЛБ – острая лучевая болезнь;
- РПЗ – радиационные пояса Земли;
- РХП – радиохромная пленка;
- СКЛ – солнечные космические лучи;
- СПС – солнечные протонные события;
- СП – стеклянная пластина;
- ФР – физиологический раствор хлорида натрия;
- ЦНС – центральная нервная система;
- ХА – хромосомные aberrации;
- rMnSOD – рекомбинантная форма марганецсодержащей супероксиддисмутазы;
- SPF – specific pathogen free.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агатов А.В., Енджейчак Д., Молоканов А.Г. и др. Технология расчета и изготовления устройств формирования протонного пучка в радиотерапии // Письма в ЭЧАЯ. – 2012. – Т. 9. – №6-7. – С. 924-936.
2. Аленицкий Ю.Г., Ворожцов С.Б., Ворожцова С.В., Глазов А.А., Мицын Г.В., Молоканов А.Г., Онищенко Л.М. Циклотрон с регулируемой энергией для протонной терапии// Письма в ЭЧАЯ. – 2005. – Т.2. – №. 1. – С. 84-95.
3. Безродных И.П., Морозова Е.И., Петрукевич А.А. Семенов В.Т. Оценка оптимальных параметров экранов для защиты электронных систем космических аппаратов от ионизирующих излучений // Вопросы электроники. – 2012. – Т. 131. – С. 15-18.
4. Белоусова М.А., Корсакова Е.А., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Медведев О.С. Новые антиоксиданты как нейропротекторы при ишемических повреждениях головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77. – №11. – С. 36-44.
5. Белоусова О.И., Горизонтов П.Д., Федотова М.И. Радиация и система крови // М.: Атомиздат. – 1971. – 128 с.
6. Бердышев Г.Д. О защитном действии меланина при облучении мышей // Радиобиология. – 1964. – Вып. 4. – № 4. – С. 644-645.
7. Бете Г., Моррисон Ф. Элементарная теория ядра // М: ИЛ. – 1958. – 374 с.
8. Бобков В.Г., Кеирим–Маркус И.Б., Демин В.П. Радиационная безопасность при космических полётах // М.: Атомиздат. 1964. – 338 с.
9. Борщевская М.И., Васильева С.М. Развитие представлений о биохимии и фармакологии меланиновых пигментов // Вопросы медицинской химии. – 1999. – Т. 45. – Вып. 1. – С. 13-24.
10. Брехман И.М. Элеутерококк // Л.: Наука. – 1968. – 185 с.
11. Бутомо Н.В., Гребенюк А.Н., Легеза В.Н. и др. Основы медицинской радиобиологии // СПб.: Фолиант. – 2004. – 258 с.
12. Бушманов А.Ю., Торубаров Ф.С. Неврологические аспекты радиационных поражений // Радиационная медицина / Под ред. Л.А. Ильина М.: ИздАТ, 2001. Т. 2. С. 275-305.
13. Вагнер Р., Влчек Б., Зорин В.П., Коварж И., Молоканов А.Г., Турек К. Дозиметрическая калибровка гамма-терапевтического аппарата РОКУС–М и клинических дозиметров ЛЯП ОИЯИ// Дубна: Сообщение ОИЯИ. – 2000. – 12 с.
14. Василенко О.И. Радиационная экология // М.: Медицина. – 2004. – 216 с.

15. Васин М.В. Механизм действия радиопротекторов // Радиационная медицина. Том 1. Теоретические основы радиационной медицины. Под общей ред. Л.А. Ильина. М.: АТ. – 2004. – С. 699-711.
16. Васин М.В. Противолучевые лекарственные средства // М.: ГИУВ МО РФ. – 2010. – 180 с.
17. Васин М.В. Средства профилактики и лечения лучевых поражений / М.В. Васин. – М.: ВЦМК «Защита». – 2006. – 340 с.
18. Вернов С. Н., Вакулов П. В., Логачев Ю. И. Радиационные пояса Земли // Успехи СССР в исследовании космического пространства. – М. –1968. – 106 с.
19. Веселовский И.С. «Безвспышечное возрастание солнечных космических лучей 14–17 апреля 1994 г.» // Космические Исследования. – 1997. – Т. 35. – № 2. – С.127-132.
20. Ворожцова С. В. Цитогенетические изменения в клетках эпителия роговицы мышей при действии протонов и тяжелых ионов: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.01 / Ворожцова Светлана Владимировна. – М., 1973. – 250 с.
21. Ворожцова С.В., Булынина Т.М., Молоканов А.Г., Иванов А.А. Цитогенетические повреждения эпителия роговицы мышей при воздействии ионизирующих излучений с различными уровнями линейной передачи энергии *in vivo*// Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2015. – Т. 49. – № 1. – С. 50-56.
22. Восканян К.Ш., Мицын Г.В., Гаевский В.Н. Эффективность биологического действия протонов и гамма–излучения на клетки СЗН10Т1/2 // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2005. – Т. 39. – №5. – С. 50-53.
23. Галеев И.Ш., Иванов И.В. Сравнение способности белых крыс к выполнению условных навыков в «прыжковой» и «челночной» камерах после облучения в больших дозах //Бюллетень радиационной медицины. – 1987. – № 2. – С. 106-111.
24. Говорун Р.Д. Цитогенетическая характеристика биологического действия протонов с энергией 50, 120, 645 МэВ и гамма-лучей на костный мозг животных: дис. ... канд. Биол. Наук: 03.00.01 / Говорун Раиса Дмитриевна. – М., 1972. – 266 с.
25. Говорун Р.Д., Деперас–Каминьска М., Зайцева Е.М., Красавин Е.А, Мицын Г.В., Молоканов А.Г. Исследование хромосомных нарушений в клетках человека после облучения терапевтическим пучком протонов фазотрона Объединенного института ядерных исследований // Письма в ЭЧАЯ. – 2006. – Т.3. – №1. – С. 92-101.
26. Гребенюк А.Н., Легеза В.И., Назаров В.Б., Тимошевский А.Ф. Медицинские средства профилактики и терапии радиозащитных поражений // СПб.: Фолиант. – 2011. – 92 с.

27. Григорьев А. И., Красавин Е.А., Островский М.А. К вопросу о радиационном барьере при пилотируемых межпланетных полетах // Вестник Российской Академии Наук. – 2017. – Т. 87. – № 1. – С. 65-69.
28. Григорьев А.И., Красавин Е.А., Островский М.А. К оценке биологического действия галактических тяжелых ионов в условиях межпланетного полета // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99. – № 3. – С. 273-280.
29. Григорьев А.И., Потапов А.Н. От полета Ю.А. Гагарина к современным пилотируемым космическим полетам и межпланетным экспедициям // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2011. – Т. 45. – № 2. – С. 3-15.
30. Григорьев Ю.Г., Ушаков И.Б., Красавин Е.А., Давыдов Б.И., Шафиркин А.В. Космическая радиобиология за 55 лет (к 50-летию ГНЦ РФ–ИМБП РАН) // М.: Экономика. – 2013. – 303 с.
31. Гринберг, А.П. Методы ускорения заряженных частиц / А.П. Гринберг. – М. ; Л. : Гос. изд–во технико–теорет. лит. – 1950. – 403 с.
32. Гудков С.В., Попова Н.Р., Брусков В.И. Радиозащитные вещества: история, тенденции и перспективы // Биофизика. – 2015. – Т. 60. – Вып. 4. – С. 801-811.
33. Гулик Е.С., Костеша Н.Я. Противолучевая активность хитозана, растворённого в водном экстракте пихты сибирской //Радиационная биология. Радиозэкология. – 2004. – Т. 44. – № 5. – С. 563-565.
34. Гуровский Н.Н., Нефедов Ю. Г., Ковалев Е.Е., Дубинин Н.П., Ильин Е.А., Парфенов Г. П. Космическая медицина и биология // М.: Знание. – 1978. – 64 с.
35. Гусев В.А. Исследование супероксиддисмутазы крови при гипоксии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1978.
36. Давыдов Б.И., Ушаков И.Б., Федоров В.П. Радиационное поражение головного мозга // М.: Энергоатомиздат. – 1991. – 239 с.
37. Даренская Н.Г. Радиационное поражение центральной нервной системы // Радиационная медицина. В 4 т. Т. 1. Теоретические основы радиационной медицины. М.: Изд. АТ. – 2004. – С. 315-326.
38. Даренская Н.Г. Реакция кроветворной системы // Радиационная медицина. В 4 т. Т. 1. Теоретические основы радиационной медицины. М.: Изд. АТ. – 2004. – С. 295-307.
39. Даренская Н.Г., Козлова Л.Б., Акоев И.Г., Невская Т.Ф. Относительная биологическая эффективность излучений. Фактор времени облучения. М.: Атомиздат. 1968. – 376 с.

40. Даренская Н.Г., Ушаков И.Б., Иванов И.В., Иванченко А.В., Насонова Т.А. От эксперимента на животных – к человеку: поиски и решения // Воронеж: Научная книга. 2010. – 237 с.
41. Доэрти М. Химическая защита млекопитающих от ионизирующего излучения // Вопросы современной радиационной фармакологии. – 1980. С. 49-53.
42. Дудкин В.Е., Ковалев Е.Е., Кузнецов В.Г., Смиранный Л.Н. Взаимодействие протонов больших энергий с веществом биологической ткани // В кн. Биологическое действие протонов высоких энергий под редакцией Ю.Г. Григорьева. М.: АТОМИЗДАТ. – 1967. – 508 с.
43. Жакоб М., Ландшофф П., Внутренняя структура протона // Успехи физической науки. – 1981. – Т. 133. – Вып. 3. – С. 505-524.
44. Жеребин Ю.М., Бондаренко Н.А., Макан С.Ю. и др. Фармакологические свойства эномеланиновых пигментов // Доклады АН УССР. – 1984. – № 3. – Серия 5. – С. 64-67.
45. Жеребин Ю.М., Сава В.М., Колесник А.А., Богатский А.В. Исследования антиокислительных свойств эномеланина // ДАН СССР. – 1982. – Вып. 262. – № 1. – С. 112-115.
46. Зайцева Е.М. Цитогенетическое действие протонного терапевтического пучка с энергией 170 МэВ на клетки человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.01/ Зайцева Екатерина Михайловна. – Обнинск, 2012. – 18 с.
47. Иванов А.А., Булынина Т.М., Утина Д.М., Одинцов А.В., Бушманов А.Ю. Фитомеланин – средство стимуляции репродуктивной активности мышей самцов // Медицина экстремальных ситуаций. 2016. — Вып. 2. – № 56. С. 58-63.
48. Иванов А.А., Иванова А.С., Уланова А.М. и др. Противолучевое действие вакцины «Гриппол» // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2010. – Т. 50. – № 1. – С. 52-57.
49. Иванов А.А., Мальцев В.Н. Иммунная система // В кн.: Радиационная медицина. Под ред. Л.А. Ильина. М.: ИздАТ. – 2004. – Т. 1. – С. 327-348.
50. Иванов А.А., Ушаков И.Б. Противолучевые средства для обеспечения радиационной безопасности космонавтов // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2013. – Т. 33. – № 5. – С. 521-524.
51. Иванов А.А., Шальнова Г.А., Мальцев В.Н. и др. Бактериурия при экспериментальной острой лучевой болезни // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2014. – Т. 59. – № 3. – С. 12-15.
52. Иванов И.В. Методики оценки работоспособности лабораторных животных при экспериментальном воздействии патогенных и экстремальных факторов // Военно–медицинский журнал. – 2012. – Т. 333. – № 2. – С. 42-47.

53. Измestьева О.С., Дубовик Б.В., Жаворонков Л.П. Экспериментальная оценка радиозащитного действия меланина на соматическое развитие при облучении в антенатальном периоде онтогенеза // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2007. – Т. 47. – № 6. – С. 684-689.
54. Измestьева О.С., Дубовик Б.В., Жаворонков Л.П. Экспериментальная оценка нейроэмбриопротекторных свойств меланина при облучении в антенатальном периоде развития // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2007. – Т. 47. – № 6. – С. 690-695.
55. Ильин Л.А., Рудный Н.М., Суворов Н.Н., Чернов Г.А. Индралин – радиопротектор экстренного действия. Противолучевые свойства, фармакология, механизм действия, клиника // М. – 1994. – 436 с.
56. Карташов Д.А., Толочек Р.В., Шуршаков В.А., Ярманова Е.Н. Расчет радиационных нагрузок в отсеке космической станции при использовании дополнительной защиты // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2013. – Т. 47. – № 6. – С. 61-66.
57. Кнунянц И.Л. Краткая химическая энциклопедия. В 5 т. Т. 4. Пирометаллургия // М.: ГНИ Советская энциклопедия. – 1964. – 544 с.
58. Коноплянников А.Г. Радиобиология стволовых клеток. М.: Энергоиздат. – 1984. – 118 с.
59. Космическая биология и медицина: в 5 т. / Том 5: Российско–американское сотрудничество в области космической биологии и медицины / Под ред. И.Д., Пестов, Ч.Ф. Соуэн, Н.Г. Хаус, С.И. Хансон. Москва. – 2009. – 758 с.
60. Космическая медицина и биология: сборник научных статей // Под ред. А.И. Григорьева, И.Б. Ушакова. Воронеж: Научная книга. – 2013. – 684 с.
61. Красавин Е.А. Проблема ОБЭ и репарация ДНК. М.: Энергоатомиздат. – 1989–1993 с.
62. Кузнецов Н.В., Панасюк М.И. Космическая радиация и прогнозирование сбое– и отказоустойчивости интегральных микросхем в бортовой аппаратуре космических аппаратов. Вопросы атомной науки и техники (ВАНТ). М.: Атомиздат. – 2001 г. – Вып. 1–2. – С. 3-8.
63. Лебедев А.Н., Шальнов А.В. Основы физики и техники ускорителей: в 3–х Т. Учебное пособие для вузов. Т. 1. Ускорители заряженных частиц // М.: Энергоиздат. – 1981. – 192 с.
64. Лосев Д.В., Ломанов М.Ф., Черняев А.П. Аналитический расчет модифицированной кривой Брэгга // Препринт НИИЯФ МГУ. – 2003. – 32 с.
65. Любимов А., Киш Д. Введение в экспериментальную физику частиц. // М.: Физматлит. – 2001. – 272 с.
66. Мальцев В.Н., Смирнова О.В., Стрельников В.А., Муравьева Л.И. Радиация и вакцинация // М.: Медицина. – 1976. – 192 с.

67. Мaстриюкова В. М., Стржижовский А.Д. Биологическое действие протонов высоких энергий на клетки радиорезистентных и радиочувствительных тканей // В кн. Биологическое действие протонов высоких энергий. Под ред. Ю.Г. Григорьева. – М.: Атомиздат. 1967. – 288-306 с.
68. Международная космическая станция. Российский сегмент. Космическая биология и медицина: В 2 т, Том 1. Медицинское обеспечение экипажей МКС // Под ред. А.И. Григорьева, И.Б. Ушакова. М.: Научная книга. – 2011. – 377 с.
69. Модель космоса. Научно–информационное издание: в 2 т. Том 1. Физическое условия в космическом пространстве // Под ред. М.И. Панасюка, Л.С. Новикова. М.: КДУ. –2007. – 872 с.
70. Молоканов А.Г. Применение гребенчатых фильтров в немоноэнергетических протонных пучках// Дубна: Сообщение ОИЯИ. – 1989. –№ 9. – 7 с.
71. Молоканов А.Г. Формирование радиотерапевтического протонного пучка Фазотрона ЛЯП ОИЯИ // Problems of atomic science and technology. – 2008. – №5. – P. 146-149.
72. Морозов В.С., Шашков В.С., Давыдов Б.И. Моделирование биологического эффекта глубинной дозы моноэнергетического потока протонов//Космические исследования. – 1966. – Т. 4. – Вып. 1. – С. 172-174.
73. Моссэ И.Б. Радиация и наследственность: Генетические аспекты противорадиационной защиты // Минск: Университетское изд–во. – 1990. – 208 с.
74. Моссэ И.Б., Кострова Л.Н., Дубовик Б.В. и др. Влияние меланина на мутагенное действие хронического облучения и адаптивный ответ у мышей //Радиационная биология. Радиоэкология. – 1999. – Т. 39. – № 2–3. – С. 329-333.
75. Мухин К.Н. Экспериментальная ядерная физика: Учеб. для вузов. В 2 кн. Кн. 1. Физика атомного ядра. Ч. 1. Свойства нуклонов, ядер и радиоактивных излучений// М.: Энергоатомиздат. – 1993. – 376 с.
76. Некрасов Б.В. Учебник общей химии: учеб. для вузов / Б. В. Некрасов. – 2–е изд. – М.: Госхимиздат, 1963. – 496 с.
77. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени их действия//. Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76. – №5. – С. 37-47.
78. Новиков Д.А., Курченко В.П., Азарко И.И. Фотопротективные свойства меланинов из винограда и чая //Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. –Т. 41. – № 6. – С. 664-670.
79. Новиков Л.С. Основы экологии околоземного космического пространства. Учебное пособие // М.: Университетская книга. – 2006. – 84 с.

80. Островский М.А., Донцов А.Е. Физиологические функции меланина в организме // Физиология человека. – 1985. – Т. 11. – № 4. – С. 670-678.
81. Палыга Г.Ф., Жаворонков Л.П., Чибисов О.Ф. и др. Влияние меланина на развитие потомства первого поколения самок крыс Вистар, облучённого в эмбриогенезе в малой дозе различной мощности // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2004. – Т. 44. – № 6. – С. 677-680.
82. Пат. 009408882 США В2, МПК 51 А61К 36/07 А61К 36/06 А61К 31/05 А61К 31/136 А61К 31/198 А61К 9/00. Oral administration of melanin for protection against radiation / Dadachova E., Casadevall A. заявитель и патентобладатель Albert Einstein College of Medicine, NY (US) - № 14/005.601, заявл. 15.03.2012; опубл. 09.08.2016. – 16 с.
83. Пат. 1787032 СССР, А3, МПК 51 А61К 35/55. Радиопротектор, снижающий накопление радионуклидов в организме / Моссэ И.Б., Плотникова С.И., Лях П.П. и др.; заявитель и патентообладатель Институт генетики и цитологии АН БССР (SU). - № 4888566/14, заявл. 06.12.90; опубл. 07.01.93 Бюл № 1. – 6 с.
84. Пат. 2215761 Российская Федерация, С1, МПК С09В 61/00. Способ получения пигмента–красителя из растительного сырья / Огарков Б.Н., Самусенок Л.В.; заявитель и патентообладатель Огарков Борис Никитович, Самусенок Любовь Викторовна (RU); заявл. 19.06.2000; опубл. 10.11.2003.
85. Пат. 2312675 Российская Федерация, С1, МПК 51 А61К 39/145, А61К 39/385, А61Р 43/00. Способ профилактики радиационного поражения / Иванов А.А., Дешевой Ю.Б., Иванова А.С. и др.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное унитарное предприятие государственный научный центр - Институт биофизики Федерального медико-биологического агентства (RU). – № 2006117537/14; заявл. 23.05.2006; опубл. 20.12.2007 Бюл. № 35 – 8 с.
86. Пат. 2418599 Российская Федерация, С1, МПК 51 А61К 35/76 А61К 30/00. Способ повышения противоопухолевой резистентности / Иванов А.А., Насонова Т.А., Добрынина О.А. и др.; заявитель и патентообладатель Российская Федерация, от имени которой выступает Федеральное медико-биологическое агентство (RU). - 2009134545/15, заявл. 16.09.2009; опубл. 20.05.2011 Бюл. № 14 – 9 с.
87. Пат. 2480227 Российская Федерация, С2, МПК 51 А61К 36/06 А61К 31/785 А61Р 31/22 А61Р 31/12 А61Р 31/16 А61Р 31/18. Противовирусное средство на основе меланина / Теплякова Т.В., Афонина В.С., Балахнин С.М. и др.; заявитель и патентообладатель Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (RU). - № 2011127305/15, заявл. 01.07.2011; опубл. 27.04.2013 Бюл. № 12 – 11 с.

88. Пат. 2587778 Российская Федерация, С1, МПК 51 G09B 23/28. Способ повышения репродуктивной активности мышей самцов в эксперименте / Иванов А.А., Воронцова З.А., Булынина Т.М. и др.; заявители и патентообладатели Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна (RU). - № 2015116164/15, заявл. 29.04.2015; опубл. 20.06.2016 Бюл. № 17 – 11 с.

89. Петин В.Г., Дергачева И.П., Жураковская Г.П. Комбинированное биологическое действие ионизирующих излучений и других вредных факторов окружающей среды (научный обзор) // Радиация и риск. – 2001. – Вып. 12. – С. 117-134.

90. Петрукович А. А., Дмитриев А. В., Струминский А. Б. Солнечно–земные связи и космическая погод // Плазменная гелиофизика / Под ред. Л. Зеленый, И. Веселовский. М.: Физматлит. – 2008. – Т. 2. – 55 с.

91. Резерфорд Э. Строение атома и искусственное превращение элементов// Перевод с англ. М.: Наука. – 1972. – 532 с.

92. Рогозкин В.Д. Экспериментальное обоснование профилактических и терапевтических мероприятий при воздействии ионизирующей радиации в условиях космического полета // В кн. Биологическое действие протонов высоких энергий. Под ред. Ю.Г. Григорьева. – М.: Атомиздат. – 1967. – 508 с.

93. Рогозкин В.Д., Давыдова С.А., Водякова Л.М., Тихомирова М.В., Туточкина Л.Т. Применение витаминно–аминокислотного комплекса при воздействии протонов в нелетальных дозах. В кн. Биологическое действие протонов высоких энергий. Под ред. Ю.Г. Григорьева. – М.: Атомиздат. 1967. – 508 с.

94. Рыжов Н.И. Биологическое действие протонов // Биофизические основы действия космической радиации и излучений ускорителей/ Под ред. А.М. Уголева. Л.: Наука. – 1989. – Т. 60. – С. 170-178.

95. Сарычева Л.И. Физика высоких энергий и элементарных частиц // М.: Изд–во КДУ. – 2007. – 122 с.

96. Серая В.М. Исследование систем кроветворения у экспериментальных животных, облученных протонами с энергией 120 МэВ: дис. ... канд. мед. наук: Серая В.М. – М. – 1970. – 155 с.

97. Середенин С.Б, Дурнев А.Д., Орещенко А.В., Алексеева Т.Н., Кулакова А.В., Огарков Б.Н., Самусенок Л.В. Влияние растительного меланинового пигмента на кластогенные

эффекты химических мутагенов у мышей // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – № 6. С. 56-59.

98. Сокуров В.Ф. Физика космических лучей: космическая радиация // Ростов–на–Дону: Феникс. – 2005. – 192 с.

99. Сташков А.М., Короткова В.П. Количественная зависимость защитной активности антифеинов от дозы облучения // Радиобиология. – 1963. – Вып. 3. – № 2. – 281-285.

100. Суркова И.Г., Зайцев В.Г. Влияние природных органических кислот на интенсивность свободнорадикальных процессов в двух модельных системах // Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека. Сб. тр. 4-й национальной научно-практ. конф. с международн. участием. Смоленск, 26-30 сент. 2005 г. Смоленск, 2005. С.94-96.

101. Тарумов Р.А., Башарин В.А, Гребенюк А.Н. Противолучевые свойства современных антиоксидантов // Рентгенология и радиология. – 2012. – Т. 13. – С. 682-700.

102. Тронов В.А., Виноградова Ю.В., Поплинская В.А. и др. Исследование адаптивного ответа сетчатки глаза у мышей на облучение протонами: связь с репарацией ДНК и гибелью фоторецепторных клеток// Письма в ЭЧАЯ. – 2015. – Т. 12. – № 1. – С. 241-255.

103. Труфанов Г.Е., Асатурян М.А., Жаринов Г.М. Лучевая терапия. М.: ГЭОТАР–Медиа. — 2010. – 192 с.

104. Ушаков И.Б., Васин М.В. Противолучевые средства в системе радиационной безопасности при длительных межпланетных полетах // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2011. – Т. 45. – № 3. – С. 3-12.

105. Ушаков И.Б., Джергения С.Л., Иванов И.В. и др. Атлас по авиационной и космической медицине / под общ. ред. И.Б. Ушакова, В.А. Рогожникова. – М.: Изд. «МДВ», 2008 – 176 с.

106. Ушаков И.Б., Штемберг А.С. Проблемы воздействия факторов дальних длительных космических полетов на высшую нервную деятельность в модельных экспериментах на животных // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2012. – Т. 46. – № 1. – С. 5-16.

107. Федоренко Б.С. Радиобиологические эффекты корпускулярных излучений: радиационная безопасность космических полетов // М.: Наука. –2006. – 189 с.

108. Федоренко Б.С., Ворожцова С.В., Герасименко В.Н. и др. Цитогенетические нарушения в клетках экспериментальных животных и человека при действии ускоренных заряженных частиц и космического излучения //Физика элементарных частиц и атомного ядра. – 1999. – Т.30. – №2. – С. 469-526.

109. Физический энциклопедический словарь // М.: Советская энциклопедия. Гл. ред. А. М. Прохоров. – 1983. – 944 с.

110. Фолди Л. Структура нуклонов //Успехи физических наук. – 1966 г. – Т. 88. – Вып. 3. – С. 567-584.
111. Хаитов Р.М., Некрасов А.В., Горбунов М.В. Вакцинация «Грипполом» детей // Вакцинация. – 2001. – Т. 17. – № 5. – С. 1-5.
112. Хофштадтер Р Структура ядер и нуклонов //Успехи физических наук. – 1963 г. – Т. 81. – Вып. 1. – С. 185-200.
113. Хулапко С.В., Лягушин В.И., Архангельский В.В. и др. Сравнение эквивалентной дозы от заряженных частиц и нейтронов внутри шарового тканеэквивалентного фантома на борту российского сегмента международной космической станции//Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2016. – Т. 50. – № 2. – С. 47-52.
114. Черняев А.П. Взаимодействие ионизирующего излучения с веществом // М.: Физматлит. – 2004. – 152 с.
115. Шафиркин А.В., Григорьев Ю.Г. Межпланетные и орбитальные полеты. Радиационный риск для космонавтов. Радиобиологическое обоснование // М.: Экономика. – 2009. – 640 с.
116. Шафиркин А.В., Коломенский А.В., Митрикас В.Г., Петров В.М. Дозовые нагрузки и величины радиационного риска для космонавтов при экспедиции к Марсу на основе реальных конструкторских разработок марсианского корабля//Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2010. – Т. 44. – №1. – С. 5-14.
117. Шахмарданова С.А., Гулевская О.Н., Селецкая В.В., Зеленская А.В., Хананашвили Я.А., Нефедов Д.А., Галенко-Ярошевский П.А. Антиоксиданты: классификация, фармакотерапевтические свойства, использование в практической медицине // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2016. – № 3. – С. 4-15.
118. Широков Ю. М., Юдин Н. П. Ядерная физика // М.: Наука. – 1972. – 670 с.
119. Шмакова Н.Л., Ярмоненко С.П. Цитологический анализ действия протонов высоких энергий: 1. Клеточная дегенерация и митотическая активность костного мозга мышей, подвергнутых облучению протонами // Радиобиология. – 1963. – Т. 3. – С. 291-293.
120. Штемберг А.С., Базян А.С., Кохан В.С., Кудрин В.С., Матвеева М.И., Лебедева-Георгиевская К.Б., Тимошенко Г.Н., Молоканов А.Г., Красавин Е.А., Наркевич В.Б., Клодт П.М. Воздействие высокоэнергетических протонов в пике Брэгга на поведение крыс и обмен моноаминов в некоторых структурах мозга // Нейрохимия. – 2015. – Т. 32. – № 1. – С. 78-85
121. Штемберг А.С., Лебедева-Георгиевская К.Б., Матвеева М.И., Кудрин В.С., Наркевич В.Б., Клодт П.М., Базян А.С. Влияние факторов космического полета, моделируемых в наземных условиях, на поведение, дискриминантное обучение и обмен моноаминов в

различных структурах мозга крыс // Известия РАН. Серия биологическая. – 2014. – № 2. – С. 168-175.

122. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А. Радиобиология человека и животных // М.: Высшая школа. – 2004. – 549 с.

123. Ambrozová I., Yasuda N., Kodaira S., Sihver L. Measurement of target fragments produced by 160 MeV proton beam in aluminum and polyethylene with CR-39 plastic nuclear track detectors // Radiation Measurements. – 2014. – Vol.64. – P.29–34.

124. Ando Koichi, Furusawa Yoshiya, Suzuki Masao et al. Relative Biological Effectiveness of the 235 MeV Proton Beams at the National Cancer Center Hospital East // Journal of Radiation Research. – 2001. – Vol.42. – № 1. – P.79-89.

125. Antoccia A., Sgura A., Berardinelli F., Cavinato M., Cherubini R., Gerardi S. et al. Cell cycle perturbations and genotoxic effects in human primary fibroblasts induced by low-energy protons and X/gamma-rays// Journal of Radiation Research. – 2009. – Vol.50. – № 5. – P. 457-468.

126. Badhwar G.D., Keith J.E., Cleghorn T.F. Neutron measurements onboard the Space shuttle // Radiation Measurements. – 2001. – № 33. – P. 235-241.

127. Ballarini F. Biaggi M. Ferrari A., Ottolenghi A., Pelliccioni M., Scannicchio D. Modelling the Influence of Shielding on Physical and Biological Organ Doses // Journal of Radiation Research. – 2002. – № 43. – P. 99-102.

128. Belli M, Bettega D, Calzolari P, et al. Inactivation of human normal and tumor cells irradiated with low energy protons // International Journal of Radiation Biology. – 2000. – Vol.76. – P. 831-839.

129. Belli M., Cherubini R., Finotto S. RBE-LET relationship for the survival of V79 cells irradiated with low energy protons // International Journal of Radiation Biology. – 1989. – № 104. – P. 55-93

130. Belli M., Ianzini F., Saporita O., Tabocchini M.A., Cera F., Cherubini R. et al. DNA double strand break production and rejoining in V79 cells irradiated with light ions // Advances in Space Research. – 1996: – Vol.18 – № 1-2. – P. 73-82.

131. Belov O.V., Belokopytova K.V., Bazyan A.S., Kudrin V.S., Narkevich V.B., Ivanov A.A., Exposure to ^{12}C particles alters the normal dynamics of brain monoamine metabolism and behaviour in rats// Physica Medica. – 2016. – Vol.32. – № 9. – P. 1088-1094.

132. Bergonie J., Tribondeau L. De quelques résultats de la radiothérapie et essai de fixation d'une technique rationnelle. // Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. – 1906. – № 143. – P. 983-985.

133. Bettega P, Calzolari P, Chauvel D. Radiobiological studies on the 65 MeV therapeutic proton beam at Nice using human tumor cells // *International Journal of Radiation Biology*. – 2000. – № 76. – P. 1297-1303.
134. Borrelli A., Schiattarella A., Mancini A. et al. A recombinant MnSOD is radioprotective for normal cells and radiosensitizing for tumor cells. // *Free Radical Biology & Medicine*. – 2009. – № 46. – P. 110-116.
135. Borrelli A., Schiattarella A., Mancini R. et al. The leader peptide of a human rec. MnSOD as molecular carrier which delivers high amounts of Cisplatin into tumor cells inducing a fast apoptosis in vitro. // *International Journal of Cancer*. – 2011. – №128. – P. 453-459.
136. Calugaru V. Nauraye C. Noel G. Giocanti N. Favaudon V. Mcgnin–Chanet F. Radiobiological characterization of two therapeutic proton beams with different initial energy spectra used at the Institute Curie Proton Therapy Center in Orsay // *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. – 2011. – Vol.81. – № 4. – P. 1136-1143.
137. Campana F., Zervoudis S., Perdereau B., Gez E., Fourquet A., Badiu C., Tsakiris G., Koulaloglou S. Topical superoxide dismutase reduces post-irradiation breast cancer fibrosis // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2004. – V.8. – № 1. – P. 109-116.
138. Cengel K.A., Diffenderier E.S., Avery S., Kennedy A.R., McDonough J. Using electron beam radiation to simulate the dose distribution for whole body solar particle event proton exposure // *Radiation and Environmental Biophysics*. – 2010. – Vol.49. – № 4. – P. 715-721.
139. Childs S.K., Kozak K.R., Friedmann A.M., Yeap B.Y., Adams J., MacDonald S.M., Liebsch N.J., Tarbell N.J., Yock T.I. Proton radiotherapy for Parameningeal Rhabdomyosarcoma: clinical outcomes and late effects // *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. – 2012. – Vol.82. – Issue 2. – P. 635-642.
140. Cucinotta F.A., Nikjoo H., Goodhead D.T. The effects of delta rays on the number of particle–track traversals per cell in laboratory and space exposures // *Radiation Research*. – 1998. – № 150. – P. 115-119.
141. Desouky O., Ding N., Zhou G. Targeted and non–targeted effects of ionizing radiation // *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. – 2015. – № 8. – 247-254.
142. 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. – Vol.11. – № 1. – P. 57-66.
143. Durante M. Loeffler JS. Charged particles in radiation oncology // *Nature Reviews Clinical Oncology*. – 2010. – Vol.7. – № 1. – P.37-43.
144. Durante M. Space radiation protection: Destinati on Mars//*Life Sciences in Space Research*. – 2014. – № 1. – P. 2-9.

145. Durante M., Tommasino F. Proton radiobiology // *Cancers*. – 2015. – №7. – P. 353-381.
146. El-Obeid A., Al-Harbi S., AL-Jomah N., Hassib A. Herbal melanin modulates tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production // *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. – 2006. – Vol.13. – № 5. – P. 324-333.
147. El-Obeid A., Hassib A., Ponten F., Westermark B. Effect of herbal melanin on IL-8: a possible role of Toll-like receptor 4 (TLR4) // *Biochemical and Biophysical research communications*. – 2006. – Vol.344. – № 4. – P. 1200-1206.
148. Firuzi O., Miri R., Tavakkoli M., Saso L. Antioxidant therapy: current status and future prospects // *Current Medicinal Chemistry*. – 2011. – № 25. – P. 3871-3888.
149. Fukai T., Folz R.J., Landmesser U., Harrison D.G. Extracellular superoxide dismutase and cardiovascular disease // *International Cardiovascular Research Journal*. – 2002. – № 55. – P. 239-249.
150. Gerelchuluun A., Hong Z., Sun L., Suzuki K., Terunuma T., Yasuoka K., Sakae T., Moritake T., Tsuboi K. Induction of in situ DNA double-strand breaks and apoptosis by 200 MeV protons and 10 MV X-rays in human tumour cell lines // *International Journal of Radiation Biology*. – 2011. – Vol.87. – № 1. P. 57-70.
151. Gerweck L.E, Kozin S.V. Relative biological effectiveness of proton beam in clinical therapy // *Radiotherapy and Oncology*. – 1999. – Vol.50. – № 2. – P.135-142.
152. Giovannini G., Böhlen T., Cabal G., Bauer J., Tessonier T., Frey K., Debus J., Mairani A., Parodi K. Variable RBE in proton therapy: comparison of different model predictions and their influence on clinical-like scenarios // *Radiation Oncology*. – 2016. – DOI 10.1186/s13014-016-0642-6.
153. Girdhani S., Sachs R., Hlatky L. Biological Effects of Proton Radiation: What We Know and Don't Know // *Radiation Research*. – 2013. – Vol.179. – № 3. – P. 257-272.
154. Green LM. Murray DK. Bant AM. Kazarians G. Moyers MF. Nelson GA. et al. Response of thyroid follicular cells to gamma irradiation compared to proton irradiation. I. Initial characterization of DNA damage, micronucleus formation, apoptosis, cell survival, and cell cycle phase redistribution // *Radiation Research*. – 2001. – Vol.155. – № 1. – P. 32-42.
155. Green LM. Tran DT. Murray DK. Rightnar SS. Todd S. Nelson GA. Response of thyroid follicular cells to gamma irradiation compared to proton irradiation: II. The role of connexin 32 // *Radiation Research*. – 2002. – Vol.158. – № 4. – P. 475-485.
156. Grégoire V, Pötter R, Wambersie A. General principles for prescribing, recording and reporting a therapeutic irradiation // *Radiotherapy and Oncology*. – 2004. – Vol.73. – № 2. – P. 57-61.

157. Gridley D.S., Pecaut M.J., Dutta–Roy R., Nelson G.A. Dose and dose rate effects of whole–body proton irradiation on leukocyte populations and lymphoid organs: Part I // *Immunology Letters*. – 2002. – Vol.80. – Issue 1. – P. 55-66.
158. Grigor’ev A.I., Krasavin E.A., Ostrovskii M.A. Assessment of the risk of the biological actions of galactic heavy ions to interplanetary flight// *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2015. – Vol.45. – № 1. – P. 91-95.
159. Grossi G.F., Durante M., Gvalanella G. et al. Effects of melanin on high–LET radiation response of human epithelial cells // *Radiation and environmental biophysics*. – 1998. – Vol.37. – P. 63-67.
160. Guan I., Wan X.S., Zhou Z. Effects of dietary supplements on space radiation–induced oxidative stress in Sprague–Dawley rats // *Radiation Research*. – 2004. – Vol.162. – № 5. – P. 572-579.
161. Gudkov S.V., Gudkova O.Y., Chernikov A.V., Bruskov V.I. Protection of mice against X–ray injuries by the post–irradiation administration of guanosine and inosine // *International Journal of Radiation Biology*. – 2009. – Vol.85. – № 2. – P. 116-125.
162. Gueulette J., Bohm L., Slabbert J.P., De Coster B.M., Rutherford G.S., Ruilrok A. et al. Proton relative biological effectiveness (RBE) for survival in mice after thoracic irradiation with fractionated doses // *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. – 2000. – Vol.47. – № 4. – P. 1051-1058.
163. Gueulette J., Slabbert J.P., Böhm L., De Coster B.M., Rosier J.F., Octave–Prignot M., Ruifrok A., Schreuder A.N., Wambersie A., Scalliet P., Jones D.T. Proton RBE for early intestinal tolerance in mice after fractionated irradiation // *Radiotherapy and Oncology*. – 2001. – № 61. – P. 177-184.
164. Guillaume M., Rodriguez–Vilarrupla A., Gracia–Sancho J. et al. Recombinant human manganese superoxide dismutase reduces liver fibrosis and portal pressure in CCl₄–cirrhotic rats // *Journal of Hepatology*. – 2013. – № 58. – P. 240-246.
165. Hellweig C.E., Baumstark–Khan C. Getting ready for the manned mission to Mars: the astronauts’ risk from space radiation // *Naturwissenschaften*. – 2007. – № 94. – P. 517-526.
166. Henriksen T. Radiation and Health Электронный ресурс // 2013. – Режим доступа: <https://www.mn.uio.no/fysikk/tjenester/kunnskap/straling/radiation-and-health-2013.pdf>.
167. Hu S., Kim M.H., McClellan G.E., Cucinotta F.A. Modeling the acute health effects of astronauts from exposure to large solar particle events // *Health Physics*. – 2009. – № 96. – P. 465-476
168. ICRP Publication 123. Ann. ICRP. – 2013. – Vol.42. – № 4.
169. Imlay J.A., Fridovich I. Assay of metabolic superoxide production in *Escherichia coli*. // *Journal of Biological Chemistry*. – 1991. – № 266. – P. 6957-6965.

170. Jakel O. Medical physics aspects of particle therapy // *Radiation Protection Dosimetry*. – 2009. – Vol.137. – № 12. – P. 156-166.
171. Jakel O. The relative biological effectiveness of proton and ion beams // *Medical Physics*. – 2008. – Vol.18. – № 4. – P. 276-285.
172. Jones B. The case for particle therapy // *British Journal of Radiology*. – 2006. – Vol.79. – P. 24-31.
173. Jones B. The potential clinical advantages of charged particle radiotherapy using protons or light ions // *Clinical Oncology*. – 2008. – Vol.20. – № 7. – P. 555-563.
174. Jones J.A., Epperly M., Law J. et al. Space radiation hazards and strategies for astronauts/cosmonaut protection. // *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. – 2013. – Vol.58. № 3. – P. 5-23.
175. Kase Y, Yamashita W, Matsufuji N, et al. Microdosimetric calculation of relative biological effectiveness for design of therapeutic proton beams // *Radiation Research*. – 2013. – № 54. – P. 485-493.
176. Kunwar A., Adhichary B., Jayakumar S. et al. Melanin a promising radioprotector: mechanisms of actions in mice model // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2012. – Vol.264. – № 2. – P. 202-211.
177. Lee K.B., Lee J.S., Park J.W., Huh T.L., Lee Y.M. Low energy proton beam induces tumor cell apoptosis through reactive oxygen species and activation of caspases // *Experimental & Molecular Medicine*. – 2008. – Vol.40. – № 1. – P. 118-129.
178. Maks C. J., Wan X. S., Ware J. H., Romero–Weaver A. L., Sanzari J. K., Wilson J. M., Rightnar S., Wroe A. J., Koss P., Gridley D. S., Slater J.s M., Kennedy A.R. Analysis of White Blood Cell Counts in Mice after Gamma– or Proton–Radiation Exposure // *Radiation Research*. – 2011. – Vol.176. – № 2. – P. 170-176.
179. Mancini A., Borrelli A., Schiattarella A. et al. Biophysical and biochemical characterization of a liposarcomaderived recombinant MnSOD protein acting as an anticancer agent. // *International Journal of Cancer*. – 2008. – № 123. – P. 2684-2695.
180. Mancini A., Borrelli A., Schiattarella A. et al. Tumor suppressive activity of a variant isoform of manganese superoxide dismutase released by a human liposarcoma cell line. // *International Journal of Cancer*. – 2006. – № 119. – P. 932-943.
181. Mantz J.M. Method for the quantitative examination of the bone marrow of white rats // *CR Sciences Soc. Biol. Fil.* – 1957. – Vol.151. – № 11. – P.1957-1960.
182. Masley A.J., Goedeke A.D. Complete dose analysis of the November 12, 1960 Solar Cosmic ray event. // *Life Sciences and Space Research*. – 1963. – P. 95-109.

183. Matsumoto Y., Matsuura T., Wada M., Egashira Y., Nishio T., Furusawa Y. Enhanced radiobiological effects at the distal end of a clinical proton beam: in vitro study // *Radiation Research*. – 2014. – Vol.55. – № 4. – P. 816-822.
184. Moertel H., Georgi J.C., Distel L., Eyrich W., Fritsch M., Grabenbauer G., Sauer R. Effects of low energy protons on clonogenic survival, DSB repair and cell cycle in human glioblastoma cells and B14 fibroblasts // *Radiotherapy and Oncology*. – 2004. – Vol.73. – № 2. – P. 115-118.
185. Narang H., Bhat N., Gupta S.K., Santra S., Choudhary R.K., Kailash S. et al. Differential activation of mitogen-activated protein kinases following high and low LET radiation in murine macrophage cell line // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 2009. – Vol.324. – Issue 1. – P. 85-91.
186. Nelson G.A. Fundamental space radiobiology // *Gravitational and Space Biology Bulletin*. – 2003. – Vol.16. – № 2. – P. 29-36.
187. Newhauser W.D., Myers K.D., Rosenthal S.J., Smith A.R. Proton beam dosimetry for radiosurgery: implementation of the ICRU Report 59 at the Harvard Cyclotron Laboratory // *Physics in Medicine and Biology*. – 2002. – Vol.47. – № 8. – P. 1369-1390.
188. Oberg F., Hassib A., Ahnfelt M. et. al. Herbal melanin activates TLR 4/NF-kappa B signaling pathway // *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. – 2009. – Vol.16. – № 5. – P. 477-484.
189. Paganetti H, Niemierko A, Ancukiewicz M, et al. Relative biological effectiveness (RBE) values for proton beam therapy // *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. – 2002. – № 53. – P. 407-421.
190. Paganetti H. Nuclear interaction in proton therapy: dose and relative biological effect distributions originating from primary and secondary particles // *Physics in Medicine and Biology*. – 2002. – № 47. – P. 747-764.
191. Paganetti H. Relative biological effectiveness (RBE) values for proton beam therapy. Variations as a function of biological endpoint, dose, and linear energy transfer // *Physics in medicine and biology*. – 2014. – Vol.59. – № 22. – P. 419-472.
192. Paganetti H., Goitein M. Biophysical modelling of proton radiation effects based on amorphous track models // *International Journal of Radiation Biology*. – 2001. – № 77. – P. 911-928.
193. Parihar V.K., Allen B., Tran K.K., Macaraeg T. G., Chu E. M., Kwok S.F., Chmielewski N.N., Craver B.M., Baulch J.E., Acharya M. M., Cucinotta F.A., Limoli C. L. What happens to your brain on the way to Mars // *Science Advances*. – 2015. – Vol.1. – № 4. – DOI: 10.1126/sciadv.1400256.
194. Patrignani C. et al. (Particle Data Group) Электронный ресурс / C. Patrignani // *Chin. Phys.* – 2016. – 33 с. – Режим доступа: <https://www.mn.uio.no/fysikk/tjenester/kunnskap/straling/radiation-and-health-2013.pdf>.

195. Pawlik T.M., Keyomarsi K. Role of cell cycle in mediating sensitivity to radiotherapy // *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics.* – 2004. – Vol.59. – № 4. – P. 928-942.
196. Pecaut M.J., Gridley D.S., Smith A.L., Nelson G.A. Dose and dose rate effects of whole-body proton-irradiation on lymphocyte blastogenesis and hematological variables: Part II // *Immunology Letters.* – 2002. – Vol.80. – № 1. – P. 67-73.
197. Pisani A., Sabbatini M., Riccio E., Rossano R., Andreucci M., Capasso C., De Luca V., Carginale V., Bizzarri M., Borrelli A., Schiattarella A., Santangelo M., Mancini A. Effect of a recombinant manganese superoxide dismutase on prevention of contrast-induced acute kidney injury // *Clinical and Experimental Nephrology.* – 2014. – Vol.18. – № 3. – P. 424-431.
198. Pugh N.D., Balachandran P., Lata H., Dayan F.E., Joshi V., Bedir E., Makino T., Moraes R., Khan I., Pasco D.S. Melanin: dietary mucosal immune modulator from Echinacea and other botanical supplements // *International Immunopharmacology.* – 2005. – Vol.5. – № 4. – P. 637-647.
199. Rahman N.A., Mori K., Mizukami M., Suzuki T., Takahashi N., Ohyama C. Role of peroxynitrite and recombinant human manganese superoxide dismutase in reducing ischemia-reperfusion renal tissue injury // *Transplantation Proceedings.* – 2009. – № 41. – P. 3603-3610.
200. Raju M.R. Proton radiobiology, radiosurgery and radiotherapy // *International Journal of Radiation Biology.* – 1995. – Vol.67. – № 3. – P. 237-59.
201. Ristic-Fira A.M., Todorovic D.V., Koricanac L.B., Petrovic I.M., Valastro L.M., Cirrone P.G., Raffaele L., Cuttone G. Response of a human melanoma cell line to low and high ionizing radiation // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2007. – Vol.1095. – P. 165-174.
202. Rithidech K.N., Honikel L.M., Reungpatthanaphong P., Tungjai M., Golightly M., Whorton E.B. Effects of 100MeV protons delivered at 0,5 or 1cGy/min on the in vivo induction of early and delayed chromosomal damage // *Mutation Research.* – 2013. – № 756. – P. 127-140.
203. Sanzary J.K., Wan X. S., Krigsfeld G.S., Wroe A.J., Gridley D.S., Kennedy A.R. The effects of Gamma and Proton Radiation Exposure on Hematopoietic Cells Counts in the Ferret Model // *Gravitational and Space Research.* – 2013. – Vol.1. – № 1. – P. 79-94.
204. Sgura A., Antoccia A., Cherubini R., Dalla Vecchia M., Tiveron P., Degrassi F., Tanzarella C. Micronuclei, CREST-positive micronuclei and cell inactivation induced in Chinese hamster cells by radiation with different quality // *International Journal of Radiation Biology.* – 2000. – Vol.76. – № 3. – P. 367-374.
205. Sheets N.C., Goldin G.H., Meyer A.M., Wu Y., Chang Y., Stürmer T., Holmes J.A., Reeve B.B., Godley P.A., Carpenter W.R., Chen R.C. Intensity-Modulated Radiation Therapy, Proton Therapy, or Conformal Radiation Therapy and Morbidity and Disease Control in Localized Prostate Cancer // *Journal of the American Medical Association.* – 2012. – Vol.307. – № 15. – P. 1611-1620.

206. Skarsgard L.D. Radiobiology with heavy charged particles: a historical review // *Physica Medica*. – 1998. – Vol.14. – № 1. – P.1-19.
207. Snyder W.S. Neufeld J. On the Passage of Heavy Particles through Tissue // *Radiation Research*. – 1957. – Vol.6. – № 1. – P. 67-78.
208. Srinivasan V., Doctrow S., Singh V.K., Whitnall M.H. Evaluation of EUK-189, a synthetic superoxide dismutase/catalase mimetic as a radiation countermeasure. // *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* – 2008. – № 30. – P. 271-290.
209. Takahashi H., Hashimoto Y., Aoki N. et al. Copper, zinc-superoxide dismutase protects from ultraviolet B-induced apoptosis of SV40-transformed human keratinocytes: the protection is associated with the increased levels of antioxidant enzymes. // *Journal of Dermatological Science*. – 2000. – Vol.23. – № 1. – P. 12-21.
210. Taketa S.T., Castle B.L., Howard W.H et al. Effects of acute exposure to high-energy protons on primates // *Radiation Research Supplement*. – 1967. – Vol.7. – P. 336-359.
211. Tang J.T., Inoue T., Yamazaki H., Fukushima S., Fournier-Bidoz N., Ozeki S., Hatanaka K. Comparison of radiobiological effective depths in 65-MeV modulated proton beams // *British Journal of Cancer*. – 1997. – Vol.76. – № 2. – P. 220-225.
212. Terato H., Suzuki K., Nishioka N., Okamoto A., Shimazaki-Tokuyama Y., Inoue Y., Saito T. Characterization and radio-resistant function of manganese superoxide dismutase of *Rubrobacter radiotolerans* // *Radiation Research*. – 2011. – Vol.52. – № 6. – P. 735-742.
213. Tilly N., Johansson J., Isacson U., Medin J., Blomquist E., Grusell E., Glimelius B. The influence of RBE variations in clinical proton treatment plan for a hypopharynx cancer // *Physics in Medicine and Biology*. – 2005. – Vol.50. – № 12. – P. 2765-2777.
214. Townsend L.W. Implications of the space radiation environment for human exploration in deep space // *Radiation Protection Dosimetry*. – 2005. – Vol. 115. – № 1-4. – P. 44-50.
215. Wambersie A., Menzel H.G., Andreo P., DeLuca P.M., Gahbauer R., Hendry J.H., Jones D.T. Isoeffective dose: a concept for biological weighting of absorbed dose in proton and heavier-ion therapies // *Radiation Protection Dosimetry*. – 2011. – № 143. – P. 481-486.
216. Ware J. H., Sanzari J., Avery S., Sayers C., Kringsfeld G., Nuth M., Wan X. S., Rusek A., Kennedy A. R. Effects of Proton Radiation Dose, Dose Rate and Dose Fractionation on Hematopoietic Cells in Mice // *Radiation Research*. – 2010. – Vol.174. – № 3. – P. 325-330.
217. Wilkens J.J., Oelfke U. A phenomenological model for the relative biological effectiveness in therapeutic proton beams // *Physics in Medicine and Biology*. – 2004. – № 49. – P. 2811-2825.