

РЕЗУЛЬТАТЫ ФЛЕШ-ОБЛУЧЕНИЯ МЫШЕЙ *IN VIVO* ПРОТОНАМИ ВЫСОКОЙ ЭНЕРГИИ

Шемяков А.Е.^{1,2}, Дюкина А.Р.¹, Заичкина С.И.¹, Агапов А.В.³, Мицын Г.В.³,
Шитулин К.Н.³

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия;

² Физико-технический центр Физического Института им. П.Н. Лебедева РАН,
Протвино, Россия;

³ Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия.

e-mail: alshemyakov@yandex.ru

За последние несколько десятилетий лучевая терапия существенно улучшилась благодаря новым технологиям, разработкам и совершенствованию вычислительной техники. Одной из новых технологий стала протонная терапия. Данный вид дистанционной лучевой терапии с каждым годом становится доступнее для использования во многих странах мира. Одновременно с развитием и распространением данной технологии, ученые и инженеры работают в поисках наиболее оптимальных условий для повышения ее эффективности, а также для снижения затрат на эксплуатацию дорогостоящего оборудования. Одним из таких направлений стало исследование доставки доз в режиме высокой мощности. Воздействие на биологический объект высокоинтенсивных пучков протонов за сверхкороткий промежуток времени (длительностью до 100 мс) и последующие за этим биохимические процессы, вызывают так называемый флэш-эффект. В последние годы использование сверхвысоких мощностей дозы интенсивно исследовалось как подход к снижению радиационного воздействия на здоровые ткани при сохранении контроля над опухолью [1, 2]. Чаще всего этот эффект можно наблюдать при мощности дозы более 50 Гр/с. В качестве объяснения наблюдаемого щадящего воздействия на здоровые ткани преобладает гипотеза истощения кислорода [3]. Облучение сверхвысокими мощностями дозы вызывает локальную нехватку кислорода, что приводит к острому периоду гипоксии в облученной ткани и, как следствие, к кратковременной радиационной резистентности. Оксигенация тканей *in vivo* осуществляется посредством кровотока, который также транспортирует иммунные клетки и является важным медиатором иммунного ответа *in vivo*. Из-за гораздо более короткого времени воздействия при флэш-облучении повреждается значительно меньшее количество крови по сравнению с обычными мощностями дозы. В последствии меньшее количество циркулирующих иммунных клеток подвергается воздействию радиации. Это хорошо согласуется с данными о том, что флэш-облучение индуцирует меньше провоспалительных цитокинов и улучшает инфильтрацию Т-клеток в облученных опухолях [4, 5], делая вывод, что иммунная

система является частью эффекта флеш. Как следствие, объем облученной крови может играть важную роль в механизмах флеш-эффекта *in vivo*.

Целью настоящей работы было исследование действия высокоэнергетического протонного облучения на ускорителе фазотрон во флеш-режиме (80 Гр/с) в дозе 1 и 1.5 Гр на индукцию цитогенетических повреждений в костном мозге и состояние лимфоидных органов, в дозе 7 и 8 Гр на выживаемость при тотальном облучении мышей *in vivo*, и в дозе 40 и 60 Гр на скорость роста модельной опухоли при облучении *ex vivo*. Контролем служило облучение пучками протонов в тех же дозах, но при мощности 3 Гр/с.

Эксперименты проводили на не норкотизированных двухмесячных самцах белых нелинейных мышей закрытой популяции SHK (24–28 г), которые содержались в стандартных условиях вивария ИТЭБ РАН. Животных облучали на специальном стенде для радиационных исследований (фазотрон) пучками протонов с энергией 600 МэВ в двух режимах – флеш и стандарт (Лаборатория ядерных проблем ОИЯИ, г. Дубна). Мощность дозы при облучении в режиме флеш составляла 80 Гр/с, а для контрольной группы мощность была снижена до 3 Гр/мин. Облучение проводили по одному животному тотально на все тело. Контроль дозы проводился специалистами лаборатории ядерных проблем ОИЯИ при помощи ионизационных камер и дозиметрической пленкой (ЕВТЗ, США). Для исследования влияния протонов на выживаемость, животных облучали в дозах 7 и 8 Гр. При исследовании цитогенетических повреждений в косном мозге животных методом микроядерного теста, а также при анализе клеточности лимфоидных органов (тимус и селезенка), облучение пучком протонов проводили в дозах 1 и 1.5 Гр. Для оценки воздействия на опухолевые клетки, было проведено облучение пробирок с клетками асцитной карциномы Эрлиха *ex vivo* с последующей их инокуляцией здоровым животным сразу после облучения. Была проанализирована частота появления опухолевого узла и динамика роста опухоли.

Обнаружено, что облучение высокоэнергетичными протонами во флеш-режиме (7 и 8 Гр) приводит к снижению выживаемости животных по сравнению со стандартным режимом облучения. Однако, флеш-облучение протонами в дозе – 1.5 Гр не приводило к росту количества цитогенетических повреждений, что было выявлено методом микроядерного теста и индексом массы селезенки, т.е. наблюдалось повышение радиустойчивости по сравнению с контролем. Появление опухолевого узла было отмечено только в группе животных, которым были инокулированы клетки карциномы Эрлиха, облученные *ex vivo* во флеш-режиме в дозе 40 Гр. В остальных группах опухолевый узел не был обнаружен на протяжении всего времени наблюдения.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов на протонном фазотроне при тотальном облучении мышей во флеш-режиме в диапазоне средних и высоких доз были выявлены существенные различия в динамике индукции цитогенетического ответа клетками костного мозга и патофизиологическом действии на лимфоидные органы по сравнению с действием стандартного режима облучения. Полученные данные позволяют оценить дозовую нагрузку на разные органы и ткани системы кроветворения при облучении животных средними и большими дозами протонов, а также демонстрируют возможность применения данного режима облучения в терапии злокачественных новообразований.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Favaudon V., et al.* Ultrahigh dose-rate FLASH irradiation increases the differential response between normal and tumor tissue in mice. // *Sci. Transl. Med.* 2014;6:245ra93. doi: 10.1126/scitranslmed.3008973.
2. *Soto L.A., et al.* FLASH irradiation results in reduced severe skin toxicity compared to conventional-dose-rate irradiation. // *Radiat. Res.* 2020;194:618–624. doi: 10.1667/RADE-20-00090
3. *Spitz D.R., et al.* An integrated physico-chemical approach for explaining the differential impact of FLASH versus conventional dose rate irradiation on cancer and normal tissue responses. // *Radiother. Oncol.* 2019;139:23–27. doi: 10.1016/j.radonc.2019.03.028.
4. *Simmons D.A., et al.* Reduced cognitive deficits after FLASH irradiation of whole mouse brain are associated with less hippocampal dendritic spine loss and neuroinflammation. // *Radiother. Oncol.* 2019;139:4–10. doi: 10.1016/j.radonc.2019.06.006.
5. *Rama N., et al.* Improved tumor control through T-cell infiltration modulated by ultrahigh dose rate proton FLASH using a clinical pencil beam scanning proton system. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2019;105:S164–S165. doi: 10.1016/j.ijrobp.2019.06.187.