

**«Исследования биологического действия тяжелых заряженных частиц
различных энергий»**

ШИФР ТЕМЫ 04-9-1077

СПИСОК АВТОРОВ В АЛФАВИТНОМ ПОРЯДКЕ ПО ИНСТИТУТАМ,
РАСПОЛОЖЕННЫМ В АЛФАВИТНОМ ПОРЯДКЕ ПО ГОРОДАМ

Дубна, ЛРБ ОИЯИ:

Аксенова С.В., Алейников В.Е., Базлова Т.Н., Батова А.С., Бежанян Т.Ж., Бескровная Л.Г., Богданова Ю.В., Борейко А.В., Бугай А.Н., Буденная Н.Н., Васильев Л.А., Васильева М.А., Виноградова Ю.В., Глебов А.А., Гордеев И.С., Гурзу Д.-Н., Душанов Э.Б., Енягина И.М., Жучкина Н.И., Заднепрянец М.Г., Иванов А.А., Игнат Е.-М., Ильина Е.В., Исакова М.Д., Коваленко М.А., Кожина Р.А., Кокорева А.Н., Колесникова Е.А., Колесникова И.А., Колтовая Н.А., Комаров Д.А., Комова О.В., Комочков М.М., Корогодина В.Л., Кошлань И.В., Кошлань Н.А., Красавин Е.А., Крузлякова Е.А., Крупнова М.Е., Крылов В.А., Кузьмина Е.А., Куцало П.В., Лалковичова М., Лесовая Е.Н., Лхагваа Б., Лхасурэн П.-О., Ляхова К.Н., Мельникова Л.А., Мунхбаатар Б., Насонова Е.А., Носирова М.А., Нуркасова А., Островский М.А., Павлик Е.Е., Павлова А.С., Панина М.С., Пархоменко А.Ю., Петрова Д.В., Пронских Е.В., Северюхин Ю.С., Смирнова Е.В., Тимошенко Г.Н., Тиунчик С.И., Тудэвдорж Т., Туранова Д.И., Утина Д.М., Фадеева Т.А., Филатова А.С., Храмо Т.С., Чаусов В.Н., Черняк О.О., Чижов А.В., Шамина Д.Д., Шванева Н.В.

Армения, Ереван, ЕГУ:

Арутюнян Р.М., Арутюнян С.Г.

Беларусь, Минск, Институт физиологии НАНБ:

Кульчицкий В.А.

Минск, ИБКИ НАНБ:

Антоневич Н.Г.

Минск, НПЦ НАНБ по материаловедению:

Хасанов О.Х., Гусаков В.Е.

Болгария, София, ИЭ БАН:

Аврамов Л. А.

София, НИЦРРЗ:

Хаджидекова В.

София, Институт микробиологии им. Стефана Ангелова БАН:

Данова С., Цаков И.

Вьетнам, Ханой, INPC VAST

Ву Тхи Ха, Чинь Тхи Тху Хуонг

Ханой, ITRRE VINATOM

Ле Тхи Май Хуонг

Германия, Дармштадт, GSI
Дюранте М.

Италия, Неаполь, INFN
Блага П.
Удине, UNIUD
Амбеси Ф.

Куба, Гавана, CENTIS
Гонзалез И.

Монголия, Улан-Батор, NUM:
Лхагва О.

Польша, Краков, ИЯФ ПАН:
Сваконь Я., Валигурски М., Олько П., Мищик Ю., Гржанка Л.
Щецин, SU:
Черски К., Ковальска А.

Россия, Москва, ИМБП РАН:
Орлов О.И., Штемберг А.С., Ильин Е.А.

Москва, НИИ Фармакологии:
Кудрин В.С.

Москва, МГУ:
Латанов А.В., Полетаева И.И.

Москва, НИИЯФ МГУ:
Панасюк М.И.

Москва, ИКИ РАН:
Митрофанов И.Г.

Москва, ИВНД и НФ РАН:
Асеев Н.А.

Москва, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина
Липенгольц А.А.

Москва, Сколковский институт науки и технологий
Попова Е.П.

Москва, ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России
Осипов А.Н., Рождественский Л.М.

Обнинск, МРНЦ им. А.Ф. Цыба:
Замулаева И.А., Хвостунов И.К., Евстратова Е.С.

Пушино, ИТЭБ РАН:
Газиев А.И.

Сочи, НИИ МП:
Клоц И.Н.

Румыния, Бухарест, UMF:
Верга Н.

Бухарест, IFIN-НН:
Раду М.

Клуж-Напока, UBB:
Паска Х.

Яссы, IBR:
Вокица Г., Михай С.-Т.

Сербия, Белград, INS “VINČA”:
Аджич М., Здравкович С., Нешкович Н., Чевизович Д.
Белград, Institute for Oncology and Radiology of Serbia:
Станойкович Т.

Словакия, Братислава СУ:
Дубничкова М.

Чехия, Брно, IBR ASCR:
Козубек С., Фальк М.
Ржеж, NRI:
Штефаник М.

ЮАР, Кейптаун, iThemba Labs
Вандерворде Ш.

Руководители проекта:

Красавин Евгений Александрович

Бугай Александр Николаевич

ДАТА ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ПРОЕКТА В НОО _____

ДАТА НТС ЛАБОРАТОРИИ 15.05.2020 НОМЕР ДОКУМЕНТА № 137

ДАТА НАЧАЛА ПРОЕКТА _____

(ДЛЯ ПРОДЛЕНИЙ — ДАТА ПЕРВОГО УТВЕРЖДЕНИЯ ПРОЕКТА) _____

ЛИСТ СОГЛАСОВАНИЙ ПРОЕКТА
**«Исследования биологического действия тяжелых заряженных частиц
 различных энергий»**

ШИФР ТЕМЫ

04-9-1077

РУКОВОДИТЕЛИ ПРОЕКТА

Е.А. Красавин

А.Н. Бугай

УТВЕРЖДЕН ДИРЕКТОРОМ ОИЯИ

СОГЛАСОВАНО

ВИЦЕ-ДИРЕКТОР ОИЯИ

ГЛАВНЫЙ УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ

ГЛАВНЫЙ ИНЖЕНЕР

НАЧАЛЬНИК НОО

ДИРЕКТОР ЛАБОРАТОРИИ

ГЛАВНЫЙ ИНЖЕНЕР ЛАБОРАТОРИИ

РУКОВОДИТЕЛЬ ПРОЕКТА

РУКОВОДИТЕЛЬ ПРОЕКТА

ОДОБРЕН

ПКК ПО ФИЗИКЕ КОНДЕНСИРОВАННЫХ СРЕД

«Исследования биологического действия тяжелых заряженных частиц различных энергий»

Введение	6
Научное и методическое обоснование	6
Обзор проведенных исследований по теме.....	10
Направления планируемых исследований.....	13
<i>Молекулярная радиобиология</i>	<i>13</i>
<i>Радиационная генетика</i>	<i>15</i>
<i>Радиационная цитогенетика</i>	<i>18</i>
<i>Радиационная физиология</i>	<i>20</i>
<i>Молекулярно-радиобиологические аспекты лучевой терапии</i>	<i>22</i>
<i>Математическое моделирование радиационно-индуцированных эффектов</i>	<i>24</i>
<i>Совершенствование методик радиобиологических экспериментов на ускорителях</i>	<i>26</i>
Список основных публикаций за предыдущий этап выполнения темы.....	28
Оценка кадровых ресурсов.....	33
Оценка стоимости и ресурсов, график работ.....	34
Анализ сильных и слабых сторон проекта.....	41
Аннотация (отдельное приложение)	

Введение

Тяжелые заряженные частицы являются эффективным инструментом при решении фундаментальных вопросов современной *радиобиологии и генетики*. Изучение биологической эффективности такого рода ускоренных частиц крайне важно для решения проблем радиационной медицины. Как известно, лучевая терапия с применением пучков протонов и ионов углерода является одним из наиболее эффективных путей лечения труднодоступных злокачественных новообразований, в частности, опухолей головного мозга. Кроме того, во многом определяют высокую биологическую опасность для экипажей кораблей в ходе пилотируемых полётов вне магнитосферы Земли. В этой связи, **терапия опухолей пучками частиц** и обеспечение **безопасности межпланетных пилотируемых полетов** являются приоритетными в современной радиобиологии.

Наличие широкого спектра источников излучения, в том числе пучков тяжелых ионов различных энергий, на базовых установках ОИЯИ предоставляет уникальную возможность для решения указанных проблем. Планируемые радиобиологические эксперименты на ускорителях института будут нацелены на изучение механизмов действия тяжёлых ионов на молекулярном, клеточном, тканевом и организменном уровнях биологической организации. Особое внимание будет уделено исследованию новых механизмов повышения биологической эффективности лучевой терапии пучками заряженных частиц, а также анализу нарушений в центральной нервной системе экспериментальных животных с целью оценки риска радиационного воздействия на организм космонавтов при осуществлении межпланетных полётов, для учета возможных побочных эффектов, возникающих при лучевой терапии злокачественных новообразований.

Научное и методическое обоснование

В отличие от электромагнитных видов ионизирующих излучений, энергия которых равномерно распределяется по объему ядра облучаемой клетки, при прохождении тяжёлых ионов через вещество энергия распределяется вдоль трека частицы, вызывая сложные кластерные повреждения ДНК. По сравнению с излучениями электромагнитной природы, заряженные частицы имеют обратное глубинное распределение дозы: минимальная энергия при прохождении частиц через вещество ткани выделяется на начальном участке, и энерговыделение резко возрастает в конце пробега (пик Брэгга).

Среди широкого спектра различных повреждений ДНК при действии ионизирующей радиации наиболее тяжёлыми нарушениями, приводящими к клеточной гибели, являются одновременные нарушения целостности двух нитей ДНК - двунитевые разрывы. Двунитевые разрывы образуются либо в результате прямого разрыва двух комплементарных участков – прямые ДР (ПДР), вследствие передачи энергии локальному участку ДНК и приводящему к нарушению её целостности, либо формируются из других повреждений как «издержки репарации» в процессе работы репарационных ферментов. Этот тип повреждений относится к разряду энзиматических ДР (ЭДР). При действии излучений с возрастающими величинами ЛПЭ наблюдаются изменения в спектре индуцируемых повреждений ДНК клеток. При низких значениях ЛПЭ с наибольшей частотой формируются повреждения оснований и однонитевые разрывы (ОР) ДНК. При облучении тяжёлыми заряженными частицами с высокими значениями ЛПЭ образуются преимущественно двунитевые разрывы, главным образом, типа ПДР, а количество однонитевых разрывов снижается. Выход энзиматических двунитевых разрывов ДНК при облучении зависит от многих факторов, как физической, так и биологической природы.

Отмеченные фундаментальные особенности действия заряженных частиц на биологические объекты необходимо учитывать при решении актуальных проблем современной радиобиологии.

Как известно, *стратегия лучевой терапии* базируется на создании условий, при которых должны быть реализованы следующие основные принципы. *Первый* основывается на создании конформного характера облучения мишени (опухоли) – передачи максимально необходимого количества энергии используемого излучения тканям опухоли с минимальным повреждением прилегающих здоровых тканей. По сравнению с излучениями электромагнитной природы при облучении пучком протонов глубоко залегающих опухолей в пике Брэгга достигается максимальный уровень облучения опухоли при меньшем уровне облучения нормальных, прилегающих к опухоли тканей, а также критических органов. Ещё большие различия в уровне поглощённых доз на разных участках кривой Брэгга присущи ускоренным ионам углерода. *Второй* принцип, связанный с первым, основывается на необходимости максимального повреждения клеток опухолевых тканей при облучении. Это достигается, как указывалось, физическими особенностями передачи энергии заряженных частиц веществу. Резкое возрастание величины ЛПЭ с уменьшением энергии заряженных частиц в области пика Брэгга обуславливает увеличение выхода радиационных повреждений в облучаемых клетках, вызывающих их гибель. Большая биологическая эффективность

ускоренных ионов углерода по сравнению с протонами обусловлена высокими значениями ЛПЭ тяжёлых ионов. С учетом этого в ряде стран созданы специализированные центры для углеродной терапии. Однако следует заметить, что стоимость таких ускорителей крайне высока по сравнению с протонными машинами, вследствие чего центры углеродной терапии до последнего времени единичны и стоимость курсов лечения пациентов также исключительно высокая.

Биологическая эффективность пучков частиц определяется факторами различной природы: физическим фактором, связанным с характером энерговыделения в чувствительных мишенях клеток (ЛПЭ частицы, мощность дозы и т.д.) и биологическим фактором, влияющим на выход повреждений, обуславливающих клеточную гибель (репарационный статус клетки, оксигенация, фаза клеточного цикла, микроокружение опухоли и т.д.). На выход двунитевых разрывов ДНК энзиматической природы при облучении можно влиять путем определенной модификации процессов репарации ДНК. Так в экспериментах *in vitro* было показано, что в условиях влияния ингибиторов синтеза ДНК 1- β -D-арабинофуранозилцитозина (АраЦ) и гидроксимочевины (ГМ) при γ -облучении и действии протонов выход ДР ДНК значительно возрастал в ходе пострадиационной инкубации клеток за счет трансформации нелетальных повреждений ДНК в ЭДР. В предварительных исследованиях *in vivo* с облучением протонами привитой мышам опухоли меланомы в присутствии АраЦ было выявлено *троекратное* уменьшение скорости роста опухоли в пострадиационный период по сравнению с обычным облучением протонами (Рис.1). Дальнейшее развитие разработанного метода, возможно, позволит значительно сблизить области использования протонных и дорогостоящих углеродных ускорителей для терапевтических целей, а также повысить эффективность терапевтического использования источников фотонного излучения.

Планы освоения дальнего космоса связаны с новыми вызовами для специалистов по **космической радиобиологии**. Спектр галактических космических лучей (ГКЛ) состоит из высокоэнергетических протонов и ионов с высоким зарядом и энергией. Последние, несмотря на низкие флюенсы, вносят большой вклад в радиационный риск для космонавтов из-за их высокой биологической эффективности. Большая часть знаний о действии ГКЛ основана на наземных экспериментах на ускорителях заряженных частиц. С этой точки зрения, базовые установки ОИЯИ предоставляют широкие возможности для моделирования биологического действия космического излучения. В современной концепции радиационного риска для пилотируемых межпланетных полётов первостепенным признан эргономический риск на протяжении всей миссии, обусловленный нарушением работы центральной нервной системы (ЦНС). Главной

задачей здесь является детальное изучение характера и механизмов действия тяжелых заряженных частиц, во-первых, на культуры клеток нервной системы, в особенности на клетки с высокой пролиферативной активностью, а во-вторых, на структуры ЦНС лабораторных животных и их поведение.

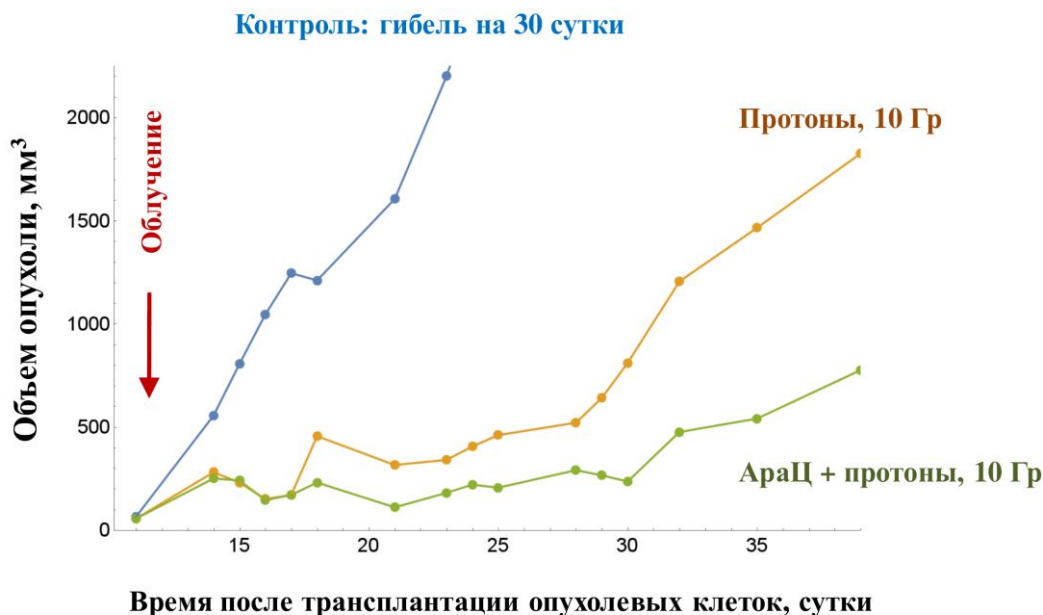


Рис. 1. Кинетика роста привитой мышам опухоли меланомы: необлученные контрольные животные (синий); облучения опухоли протонами в пике Брэгга в дозе 10 Гр с введением (зеленым) и без (оранжевого) введения препарата АраЦ мышам.

С учетом вышеизложенного, решение затрагиваемых фундаментальных и практических проблем настоятельно требует продолжения детального изучения закономерностей и механизмов действия тяжёлых заряженных частиц на молекулярном, клеточном, тканевом и организменном уровнях биологической организации. Исследования молекулярных нарушений в генетических структурах, прежде всего, важны в плане анализа возникновения наиболее тяжёлых повреждений ДНК – двунитевых разрывов. Внедрённый и развитый в ЛРБ эффективный метод трёхмерного анализа кластерных двунитевых разрывов ДНК (метод ДНК-фокусов) позволит изучить формирование наиболее тяжёлых повреждений генетического аппарата при действии многозарядных ионов и даст возможность исследовать формирование и репарацию генетических повреждений, как в пролиферирующих тканях, так и в высокодифференцированных элементах нервной системы. Выяснение механизмов ответа на воздействие заряженных частиц различных энергий даст основу понимания тканевых реакций высокодифференцированных клеточных систем – структур различных отделов центральной нервной системы на лучевое воздействие. В свою очередь, эти исследования

позволят оценить нарушения интегративной целостности системы – нарушений когнитивных функций, поведенческих реакций. Совершенно очевидна практическая направленность такого рода комплексных исследований для различных сфер практической деятельности и, прежде всего, решения проблем космической радиобиологии человека.

Особое внимание при выполнении планируемых исследований будет уделено выяснению механизмов, лежащих в основе повышения эффективности биологического действия протонных и фотонных пучков на радиорезистентные опухолевые клетки, моделированию радиационного воздействия на опухолевые образования, привитые экспериментальным животным. Принимая во внимание ранее полученные результаты о модифицирующем влиянии агентов типа арабинозидцитозина в комбинации с другими препаратами на выход двунитевых разрывов ДНК при действии ионизирующих излучений разного качества, а также возможные перспективы практического применения ингибиторов синтеза ДНК данного типа и ионизирующих излучений в клинике, необходимы дальнейшие исследования в рамках предложенной темы.

Обзор проведенных исследований по теме

В ходе выполнения предыдущего этапа темы с использованием ускорительных установок института был решен ряд принципиальных вопросов, касающихся механизмов биологического действия ускоренных заряженных частиц широкого диапазона линейных передач энергии (ЛПЭ). Исследования были нацелены, главным образом, на изучение генетических нарушений в клетках различного происхождения, изучение радиационно-физиологических нарушений в организме млекопитающих.

В ходе *радиационно-генетических* экспериментов на базовых установках института были детально изучены закономерности образования и кинетики репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК при действии ускоренных тяжелых ионов. Установлены дозовые зависимости частоты образования кластерных повреждений ДНК в клетках человека, выявлена высокая эффективность формирования кластеров при действии тяжёлых заряженных частиц, показано изменение структуры, размера и формы кластерных повреждений, зависящее от величины ЛПЭ ионов. Выявлено замедление кинетики элиминации радиационно-индуцированных генетических повреждений в клетках при действии многозарядных ионов по сравнению с γ -облучением, свидетельствующее о снижении эффективности репарации двунитевых разрывов ДНК. Циклу работ «Исследование закономерностей и механизмов формирования молекулярных нарушений в генетических структурах клеток человека и млекопитающих

при действии ускоренных тяжёлых ионов низких и промежуточных энергий» в 2020 г. была присуждена первая Премия ОИЯИ. Наряду с изучением молекулярных аспектов биологического действия ускоренных тяжелых ионов были исследованы закономерности мутационного процесса в клетках млекопитающих. В широком диапазоне ЛПЭ, изучен выход мутантных клонов в различные сроки после радиационного воздействия. Установлено, что максимальный выход мутантных субклонов в пострadiaционный период зависит от ЛПЭ ускоренных частиц и времени пострadiaционного воздействия.

В ходе *радиационно-физиологических исследований* были выполнены работы по определению зависимости морфологических и функциональных изменений сетчатки глаза и различных отделов головного мозга грызунов. Выявлена высокая радиорезистентность сетчатки по критериям морфологических и функциональных нарушений в пострadiaционный период. Исследованы количественные закономерности развития морфо-функциональных нарушений в различных отделах головного мозга при действии протонов и ускоренных ионов углерода, изучены фармакологические эффекты ноотропных препаратов (Рис. 2) на лучевое воздействие (в 2018 г. получен патент на изобретение № 2666937). С применением различных тест-систем исследованы поведенческие нарушения у облученных животных в пострadiaционный период. Совместно со специалистами Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН ГКНЦ, Институтом медико-биологических проблем РАН изучено влияние высокоэнергетичных ионов углерода (500 МэВ/нуклон) на метаболизм ключевых нейромедиаторов головного мозга грызунов. Определены наиболее чувствительные области мозга к облучению, в которых метаболизм менялся в ранние и поздние сроки после радиационного воздействия.

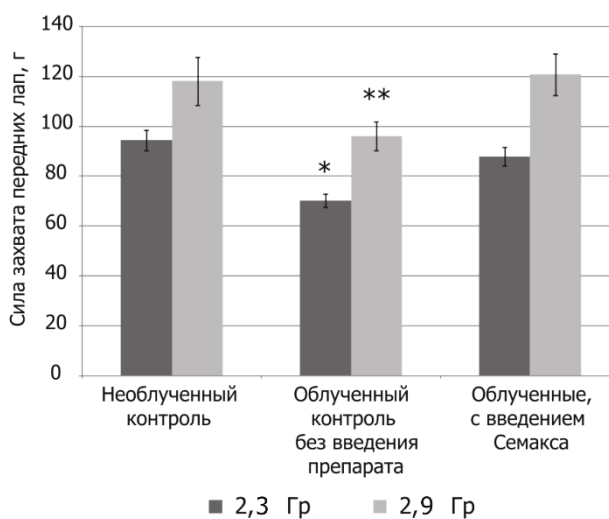


Рис. 2. Влияние препарата Семакс на силу захвата передних лап мышей на 8-е сутки после облучения протонами.

Предложена и обоснована *новая концепция радиационного риска* для пилотируемых межпланетных полётов, в рамках которой радиационный риск для космонавтов связывается с действием тяжёлых ядер галактических космических лучей на структуры центральной нервной системы. Такое влияние в ходе полёта может привести к изменениям высших интегративных функций мозга и вызывать нарушения операторской деятельности экипажей. Новая парадигма обуславливает новые направления научных исследований в области космической радиобиологии, указывает на необходимость разработки новых нормативных документов обеспечения радиационной безопасности при пилотируемых полётах в дальний космос.

Наряду с экспериментальными исследованиями был выполнен значительный объём теоретических работ по *математическому моделированию* радиационно-индуцированных эффектов. Разработаны методы расчета формирования повреждений ДНК различного типа в треках заряженных частиц, проходящих через клетки и структуры головного мозга. На основе методов молекулярной динамики предложен подход, позволяющий количественно учесть влияние мутаций в генах нейронов гиппокампа на состояние синаптических рецепторов. Смоделировано влияние радиационно-индуцированных эффектов на функционирование нейронных сетей головного мозга.

В ходе молекулярно-радиобиологических исследований по влиянию некоторых модификаторов на выход ДР ДНК при действии излучений широкого диапазона ЛПЭ на нормальные и опухолевые клетки человека обнаружено, что в условиях действия некоторых препаратов в разной степени модифицируется выход двунитевых разрывов ДНК – повреждений, приводящих клетки к гибели в пострadiационный период. К ним относятся официальные лекарственные средства 1-β-D-арабинофуранозилцитозин (АраЦ) и гидроксимочевина (ГМ). Было показано, что при γ-облучении и действии протонов в условиях влияния модифицирующих агентов выход ДР ДНК значительно возрастал в ходе пострadiационной инкубации клеток. После облучения ускоренными тяжёлыми ионами с высокой ЛПЭ влияние радиомодификаторов резко уменьшалось. При изучении механизма усиливающего влияния этих агентов на радиочувствительность клеток было установлено, что АраЦ является своеобразным «тройным конем» на молекулярном уровне. С использованием иммуноцитохимических методов было показано, что при облучении клеток протонами в присутствии модификаторов наблюдается возрастание количества двунитевых разрывов ДНК и резкое повышение радиочувствительности клеток до уровня, наблюдаемого при действии пучка ядер углерода. Возрастание числа ДР ДНК в присутствии АраЦ и ГМ объясняется увеличением количества ДР ДНК энзиматического происхождения из однострунчатых разрывов.

Обнаруженное явление позволяет рассматривать его как эффективный подход к совершенствованию методов *лучевой терапии раковых заболеваний* (в 2019 г. получен патент на изобретение № 2699670).

Направления планируемых исследований

Молекулярная радиобиология

В ЛРБ ОИЯИ в течение ряда лет с использованием различных методов проводится изучение молекулярных нарушений в генетических структурах клеток млекопитающих и человека при действии излучений электромагнитной и корпускулярной природы. В последние годы для этих целей активно используются иммуноцитогенетический и иммуногистохимический методы исследования. Использование этих подходов позволяет проводить не только количественный анализ формирования генетических нарушений, но и учитывать пространственное распределение повреждений в генетических структурах клеток. Это важное обстоятельство даёт возможность ответить на вопрос – влияет ли распределение различных видов повреждений ДНК на способность клеток к репарации и если – да, то каким образом? Выяснение вопросов, как различные белки узнают кластерные повреждения, как быстро происходит узнавание различных типов повреждений ДНК, какие белки первыми устремляются к месту повреждения ДНК, представляется крайне важным при решении многих фундаментальных проблем цитологии и генетики. Индукция двунитевых разрывов ДНК в определенных участках генома клетки приводит к специфическому фосфорилированию гистона H2AX в окружающем повреждение хроматине, что проявляется в образовании так называемых γ H2AX - фокусов. Внутренняя структура этих радиационно-индуцированных фокусов (РИФ) представляет собой сеть взаимосвязанных биохимических путей, запускаемых клетками в ответ на возникновение повреждения ДНК и направленных на восстановления целостности ДНК. Планируемые исследования наноструктуры РИФ с помощью флуоресцентной и конфокальной микроскопии (Рис.3), а также SMLM (Single Molecule Localization Microscopy) – наноскопии с высоким разрешением, позволят выяснить, как физические характеристики излучения и структура хроматина в локальном сайте формирования ДР ДНК влияет на микроструктуру и наноструктуру РИФ. С другой стороны, как микро- и наноструктура поврежденного хроматина и РИФ влияет на выбор пути репарации поврежденного сайта и в дальнейшем на кинетику и эффективность репарации. Особый интерес представляет сравнительный анализ закономерностей и механизмов индукции и репарации повреждений молекулы ДНК в нормальных клетках и

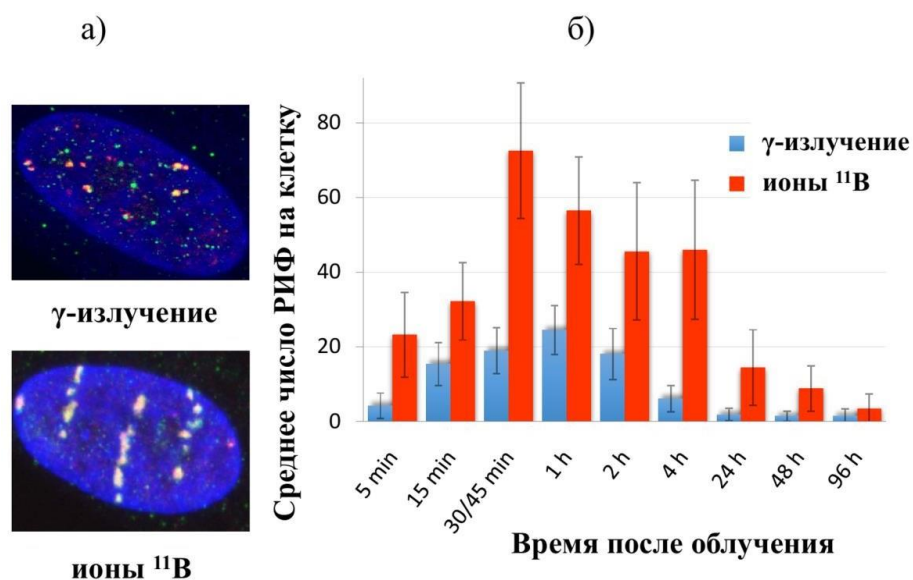


Рис. 3. Визуализация РИФ (а) и кинетика их репарации (б) при γ -облучении и действии ускоренных ионов ^{11}B с энергией 50 МэВ/нуклон.

радиорезистентных опухолевых клетках, облученных γ -квантами, протонами различных энергий и тяжелыми ускоренными ионами.

Как известно, основные пути репарации ДР ДНК – негомологичное восстановление (NHEJ) и гомологичная рекомбинация (HR). Важно заметить, что пути репарации в раковых клетках часто deregулируются, что делает их дефектными по репарации ДР ДНК. Применение иммуноцитохимического метода с использованием различных маркеров формирования РИФ - γH2AX , 53BP1, RAD51 и других, позволит проанализировать структуру хроматина на поврежденном сайте, кинетику её изменения во времени, определить какой тип репарации вносит основной вклад в элиминацию повреждений. На основе этих данных будет решен вопрос о клеточных механизмах регуляции, связанных с выбором того или иного пути репарации в зависимости от структуры хроматина в локальном сайте, типа клеток, фазы клеточного цикла и физических характеристик ионизирующего излучения.

В исследованиях будут использованы не только клеточные культуры нормальных и опухолевых клеток, но и культуры нейрональных клеток, а также гистологические срезы тканей различных отделов центральной нервной системы облученных животных.

В рамках продолжения работ планируется:

- Изучить закономерности формирования кластерных ДР ДНК при действии ускоренных тяжёлых ионов в ядрах фибробластов кожи человека и радиорезистентных опухолевых клетках U87;
- Исследовать влияет ли распределение различных видов повреждений ДНК на способность клеток к репарации и если – да, то каким образом;

- Выяснить, как различные белки узнают кластерные повреждения, как быстро происходит узнавание различных типов повреждений ДНК, какие белки первыми устремляются к месту повреждения ДНК;
- Исследовать кинетику репарации кластерных ДР ДНК в пострадиационный период в ядрах фибробластов кожи человека и радиорезистентных опухолевых клетках U87;
- Установить, как физические характеристики излучения и структура хроматина в локальном сайте формирования ДР ДНК влияют на микроструктуру и наноструктуру РИФ;
- Исследовать как микро- и наноструктура поврежденного хроматина и РИФ влияет на выбор пути репарации поврежденного сайта и в дальнейшем на кинетику и эффективность репарации. в нормальных клетках и радиорезистентных опухолевых клетках, облученных γ -квантами, протонами различных энергий и тяжелыми ускоренными ионами;
- С использованием различных маркеров формирования РИФ - γ H2AX, 53BP1, RAD51 и других проанализировать структуру хроматина на поврежденном сайте, кинетику её изменения во времени, определить какой тип репарации вносит основной вклад в элиминацию повреждений.

Радиационная генетика

Вопросы мутагенного действия ионизирующих излучений разного качества, в особенности ускоренных тяжелых ионов, на клетки млекопитающих и человека до настоящего времени изучены недостаточно. Планируется продолжить начатые ранее в ЛРБ ОИЯИ исследования эффективности индукции различных типов генных и структурных мутаций в зависимости от дозы и величины ЛПЭ излучения (Рис. 4), репарационного статуса, развития оксидативного стресса, а также механизмов генетической стабильности.

Очевидно, что исследование закономерностей и механизмов индукции генных мутаций в клетках человека при действии ускоренных частиц различных энергий является крайне сложной задачей. Удобными модельными объектами для этих целей служат клеточные культуры млекопитающих и низших эукариот. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* – одноклеточный эукариотический организм, у которого наиболее полно изучены генетический контроль и молекулярные механизмы таких фундаментальных клеточных процессов как репликация, репарация, транскрипция. В работе используются гаплоидные тестерные штаммы для детекции различных молекулярных событий (замены пар оснований, выпадения одного нуклеотида, делеции, рекомбинационные перестройки).

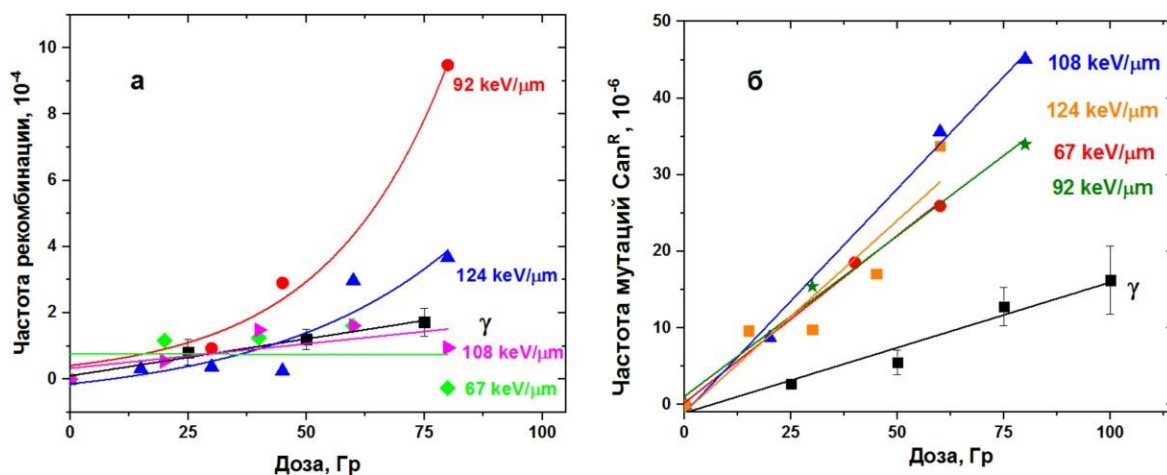


Рис. 4. Частота рекомбинации (а) и прямых мутаций (б) у гаплоидных клеток дрожжей, облученных пучками ускоренных ионов азота с различными значениями ЛПЭ.

Система тестирования прямых генных мутаций, применяемая в лаборатории, позволяет детектировать любые генные мутации на протяженном участке, а именно возникающие в пределах гена аргинин пермиазы размером 1.8 тпн. Планируется продолжить изучение закономерностей мутагенного действия редко- и плотноионизирующих излучений с помощью этих тестерных систем, а для уточнения молекулярной природы мутаций, использовать секвенирование индуцированных точечных мутаций и электрофоретический и рестрикционный анализ делеционных мутантов.

Помимо ядерной ДНК в клетках имеется митохондриальная (мт) ДНК, мутагенез и функциональная значимость которой на настоящий момент изучены недостаточно. Легкость манипулирования мтДНК у дрожжей делает их идеальным объектом для изучения роли митохондрий и мтДНК в мутагенном эффекте радиации, в частности обусловленном дыханием и метаболизмом железа. Планируется исследовать закономерности возникновения митохондриальных мутаций и влияние митохондриальных мутаций дыхательной недостаточности на летальное и мутагенное действие излучения.

Несомненный интерес представляют механизмы, повышающие радиорезистентность и снижающие мутагенез. Ранее нами была получена и генетически охарактеризована ядерная мутация, имеющая широкий спектр действия, в том числе повышающая радиорезистентность клеток и влияющая на генетическую стабильность. Планируется исследовать механизм радиорезистентности, картировать эту мутацию и провести анализ влияния мутации на экспрессию генома. Предварительные данные белкового электрофореза показали, что мутация локализована в регуляторном гене.

Для репарации и мутагенеза несомненную важность имеет баланс нуклеотидов. Планируется продолжить анализ инозинтрифосфат пиррофосфогидролазы человека hITPA,

осуществляющей контроль сбалансированного количества неканонических нуклеотидов в клетке. Инактивация фермента приводит к изменению чувствительности к медицинским препаратам у человека, а полное разрушение гена у микроорганизмов – к генетической нестабильности. Эксперименты *in silico* показали, что происходит ослабление связи между мутантными субъединицами, но неизвестно, является ли это причиной снижения активности фермента. Необходимы дальнейшие исследования *in vitro* на модельном организме дрожжей и клетках человека (дрожжевой ген *ham1*, у человека *itpa*). Планируется исследовать механизм регуляции активности фосфатазы, а также влияние инактивации фермента на чувствительность к радиации, регуляцию в контрольных точках, апоптоз и старение.

В ходе исследования радиационно-индуцированного мутагенеза на клетках китайского хомячка (линия V-79) была обнаружена геномная нестабильность HPRT-мутантов в длинном ряду поколений мутантной клетки. Показана гетерогенность мутантов по ряду цитогенетических показателей. В частности, выявлены радиационно-индуцированные мутанты со сниженным по сравнению со спонтанным уровнем хромосомных повреждений. Это указывает на возможность «стабилизации» генома, перенесшего воздействие ускоренных ионов. Анализ структурных повреждений *hprt*-гена у потомков мутантной клетки позволит понять возможные механизмы, приводящие к нестабильности генома.

В рамках продолжения работ планируется:

- Продолжить изучение закономерностей индукции точечных мутаций и структурных перестроек пучками ускоренных ионов;
- Изучить влияние нарушения дыхания в результате повреждения митохондриальной ДНК на чувствительность к повреждающему и мутагенному действию излучения;
- Исследовать механизм радиорезистентности у дрожжевого мутанта;
- Провести анализ влияния мутации *ham1* на чувствительность дрожжевых клеток к повреждающему и мутагенному действию излучений;
- Провести анализ активации контрольной точки в S-фазе и накопления повреждений ДНК у *Itpa*-дефицитных клеток;
- Исследовать возможность регуляции ферментативной активности фосфатазы в результате химических модификаций в клетках дрожжей и человека;
- Провести PCR-анализ структурных нарушений *hprt*-гена у потомков облученных клеток (линия V-79);

- Сопоставить спектр структурных и хромосомных нарушений, выявленных у радиационно-индуцированных мутантов в разные сроки после облучения.

Радиационная цитогенетика

Хромосомные aberrации изучают более полувека, тем не менее, в этой области остается много нерешенных вопросов. Современный и актуальный метод multicolor (or multiplex) Fluorescent in situ Hybridization (mFISH), используемый в ЛРБ в настоящее время, позволяет идентифицировать каждую пару хромосом человека и животных путем гибридизации ДНК хромосом с пробами, меченными уникальными сочетаниями 5 флуорохромов. Основным преимуществом метода является возможность исследовать комплексные aberrации хромосом (3 и более разрывов в двух и более хромосомах). С применением метода FISH стало ясно, что большое число aberrаций, которые раньше считали простыми, являются частью комплекса, включающего разрывы в нескольких хромосомах и взаимодействие их между собой. Таким образом, внедрение mFISH приводит к необходимости переоценки всех постулатов классической цитогенетики, меняет представления о хромосомных aberrациях, их спектре и распределении по клеткам. В качестве примера можно привести одно из ранних открытий, сделанных с помощью 2-3 цветного FISH, что хорошо известная линейно-квадратичная зависимость выхода дицентриков от дозы редкоизирующего излучения определяется комплексными aberrациями, тогда как выход дицентриков, выявляемый классическим методом, линейно зависит от дозы.

Исходя из этого, предполагается использование mFISH в первую очередь для оценки комплексных хромосомных aberrаций, индуцированных излучениями разного качества (Рис. 5). В настоящее время очевидно, что комплексные aberrации являются маркером плотноизирующих излучений, отражающим узлокальное кластеризованное повреждение ДНК вдоль трека частицы. Даже малые дозы плотноизирующих излучений индуцируют до 80% комплексных aberrаций. Однако реальная и полная оценка их возможна только методом mFISH, т.к. 2-3 цветный FISH выявляет только часть комплекса из-за ограниченного числа окрашенных хромосом, что ведет к искажению данных и потере значительной части информации. Использование метода mFISH позволит получить новые представления о механизмах образования радиационно-индуцированных aberrаций. В радиационной цитогенетике слабо изучено формирование комплексных хромосомных aberrаций при действии протонов, а также тяжелых ионов средних и промежуточных энергий (десятки МэВ/нуклон). Такие пучки

имеются на базовых установках ОИЯИ. Предполагаются исследования действия таких частиц на нормальные и опухолевые клетки человека и млекопитающих.

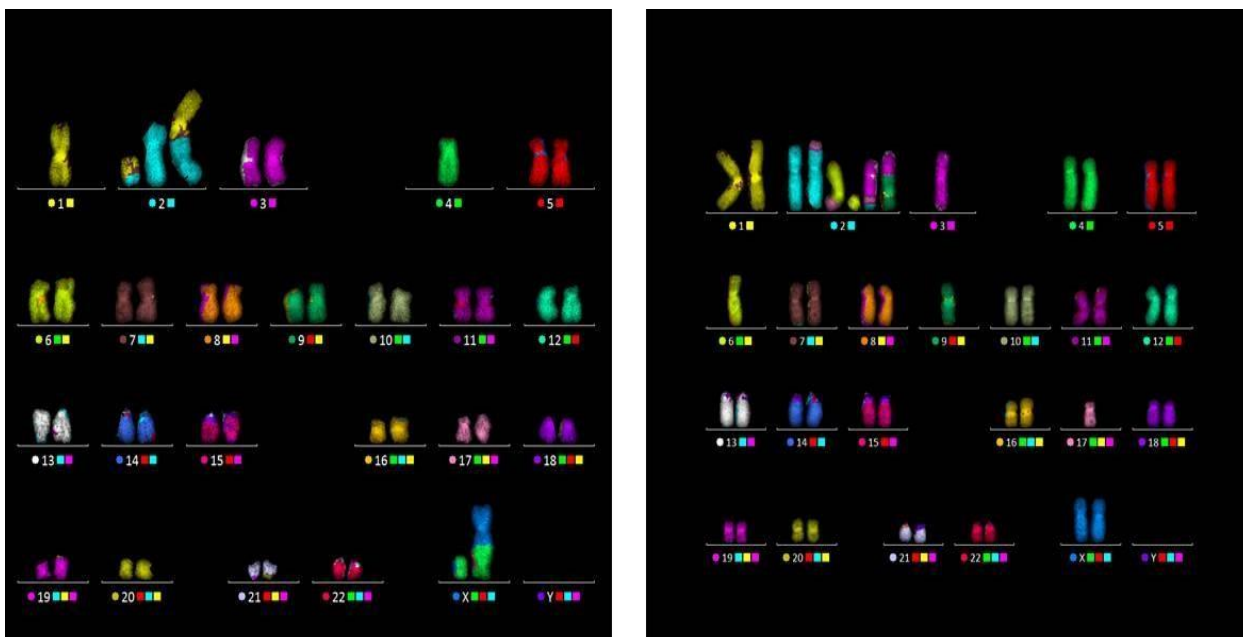


Рис. 5. mFISH кариотип лимфоцитов человека, облученных 2 Гр γ -излучения ^{60}Co (слева), содержащий 2 простых обмена (дицентрика) с участием 4 хромосом, и 2 Гр протонов в пике Брэгга (справа), содержащий 1 комплексную aberrацию, включающую 6 разрывов в 5 хромосомах.

Метод mFISH также перспективен в отношении изучения отдаленных последствий радиационного воздействия на организм, так как позволяет оценить наследуемые симметричные aberrации – транслокации, которые могут сохраняться в течение длительного времени после облучения в потомстве облученных клеток, медленно элиминируются со временем и во многих случаях является толчком канцерогенеза. В связи с этим предполагается в опытах на лабораторных животных исследовать выход хромосомных aberrаций в клетках костного мозга и лимфоцитах крови при остром и хроническом облучении гамма-квантами, протонами и тяжелыми ионами. Остаточные хромосомные нарушения в клетках костного мозга и лимфоцитах крови планируется исследовать в течение 6-8 месяцев после облучения как mFISH, так и стандартным метафазным методом одновременно с изучением радиационно-индуцированного ответа гематопоетической, иммунной и других регуляторных систем организма, что весьма важно для решения задач космической радиобиологии и радиационной онкологии.

Метод преждевременной конденсации хроматина, позволяющий измерять изначальный уровень разрывов ДНК, индуцированных облучением, будет использован для

сравнительной оценки индукции и репарации разрывов хроматина в нормальных и опухолевых клетках человека.

Применение mFISH в комплексе со стандартным метафазным методом позволит также детально изучить проблему геномной нестабильности, связанную с хромосомными перестройками, с использованием пучков тяжелых заряженных частиц как инструмента для выявления соответствующих механизмов. Для этого будут проведены исследования спонтанных и радиационно-индуцированных хромосомных aberrаций в различных клеточных культурах млекопитающих и человека.

В рамках продолжения работ планируется:

- Исследовать индукцию комплексных хромосомных aberrаций в нормальных и опухолевых клетках человека *in vitro* при действии плотноионизирующих излучений;
- Оценить острые и отдаленные последствия действия излучений *in vivo*. В опытах на животных по оценке влияния излучений на структуры нервной системы параллельно исследовать выход хромосомных aberrаций в костном мозге и лимфоцитах при остром и хроническом облучении;
- Изучить методом mFISH индукцию комплексных и симметричных наследуемых хромосомных aberrаций в клетках человека при действии различных радионуклидов, используемых в терапии рака;
- Провести анализ кариотипов и оценить генетическую стабильность различных линий стволовых клеток, культивируемых *in vitro*;
- Методом преждевременной конденсации хроматина провести сравнительный анализ индукции и репарации разрывов хроматина в нормальных и опухолевых клетках человека при действии фотонов, протонов и ускоренных ионов;
- Метафазным методом оценить хромосомные aberrации, возникающие в лимфоцитах крови приматов, после локального облучения головы животных ускоренными ионами различных энергий.

Радиационная физиология

Радиационно-физиологические исследования в предстоящий период будут нацелены, главным образом, на изучение нарушений поведенческих реакций облученных животных, патоморфологических изменений в различных структурах головного и спинного мозга, критических органах и системах грызунов. Для оценки поведенческих реакций планируется использовать полный набор средств и методов современной зоопсихологии, включающих тест-системы для оценки долговременной и кратковременной памяти, эмоциональной реактивности, уровня тревоги и моторных

рефлексов. Анализ параметров поведения будет проводиться с применением современных программно-информационных систем видеотрекинга. Для выявления патологических изменений в организме животных, вызванных радиационным воздействием, необходимо использование деликатных инвазивных методов операционного вмешательства и катетеризации. С этой целью, в программу исследований входит внедрение систем анестезии, электрофизиологического и гематологического анализа, перфузии внутренних органов лабораторных животных. Исследование патоморфологических изменений в тканях будет проводиться с использованием современных гистологических и иммуногистохимических методов на световом и флуоресцентном микроскопическом оборудовании.

В настоящее время практически отсутствуют сведения о радиационно-индуцированных эффектах в микроглии, олигодендроцитах и их предшественниках, а также в структуре миелиновой оболочки при действии плотноионизирующих излучений. Вместе с тем известно, что облучение ускоренными многозарядными ионами приводит к более тяжелым нарушениям ментальных и моторных функций у лабораторных животных, причем при существенно более низких дозах по сравнению с электромагнитными видами излучений. Для выяснения механизмов радиационно-индуцированных нарушений ЦНС и когнитивных функций планируется исследовать важнейшую роль глиальных клеток в этом процессе. В качестве одной из наиболее вероятных причин когнитивного дефицита при действии ионизирующих излучений рассматривается демиелинизация – деструкция миелиновой оболочки аксонов, происходящая вследствие гибели олигодендроцитов.

Не менее важную роль в развитии когнитивных расстройств у облученных млекопитающих играет микроглия, являющаяся основой иммунной защиты в ЦНС при нормальных физиологических условиях. Однако ее активация при радиационном воздействии приводит к развитию хронической нейровоспалительной реакции и, как результат, к развитию когнитивных расстройств.

Оба механизма – демиелинизация и нейровоспаление – играют ключевую роль в функциональных расстройствах ЦНС при различных нейродегенеративных заболеваниях, таких как рассеянный склероз, болезни Хантингтона, Паркинсона, Альцгеймера. Однако до настоящего времени не удалось продвинуться в понимании причин когнитивных нарушений при действии радиации. Использование излучений с различными физическими характеристиками может поэтому рассматриваться как один из подходов для изучения взаимосвязи между когнитивными расстройствами и изменениями в популяции глиальных клеток и структуре миелина, а также для оценки рисков для ЦНС при действии плотноионизирующих излучений.

В рамках исследований планируется:

- Провести разработку средств фармакологической защиты и терапии при корпускулярном облучении;
- Продолжить исследование эффектов протонного облучения, а также эффектов вторичного излучения, после прохождения протонов через элементы космического аппарата и строительные материалы для космических баз;
- Продолжить исследование первичных и отдаленных морфологических и функциональных изменений в ЦНС крыс линии SD и мышей CD-1 после воздействия протонного излучения;
- Провести исследование влияния корпускулярных видов излучений с различной ЛПЭ на патогенез в органах и тканях организма мелких лабораторных животных;
- Исследовать секрецию воспалительных цитокинов в гомогенатах мозга мышей после облучения;
- Измерить уровень основного белка миелина (МВР) в гомогенатах мозга облученных мышей в различные времена после облучения;
- Исследовать количество предшественников олигодендроцитов и основного белка миелина (МВР) на срезах мозга облученных мышей с использованием флуоресцентных маркеров в различные времена после облучения.

Молекулярно-радиобиологические аспекты лучевой терапии

В ЛРБ ОИЯИ установлено, что в клетках, облученных γ -квантами и частицами с высокой ЛПЭ, в условиях влияния ингибиторов синтеза ДНК 1- β -D-арабинофуранозилцитозина (АраЦ) и гидроксимочевины (ГМ), в разной степени модифицируется выход ДР ДНК в пострadiaционный период (Рис. 6). При γ -облучении в условиях влияния модифицирующих агентов выход ДР ДНК значительно возрастал в ходе пострadiaционной инкубации лимфоцитов и клеток человека в культуре. В то же время при действии ускоренных тяжёлых ионов модифицирующее действие агентов было меньшим. Их влияние на формирование ДР ДНК обусловлено тем, что АраЦ представляет собой эффективный ингибитор ДНК-полимеразы α , и в меньшей степени β , ведущих репаративный синтез ДНК. Гидроксимочевина, являясь ингибитором рибонуклеотидредуктазы, влияет на внутриклеточный пул нуклеотидов, в частности, цитозина, и снижает его. В результате этого происходит длительная фиксация возникающих прямых однонитевых разрывов ДНК (ОР ДНК), либо ОР ДНК, формирующихся в ходе эксцизионной репарации. Такие повреждения могут являться сайтами формирования энзиматических ДР ДНК в результате атаки нити, оппозитной поврежденному участку, эндонуклеазами типа S₁.

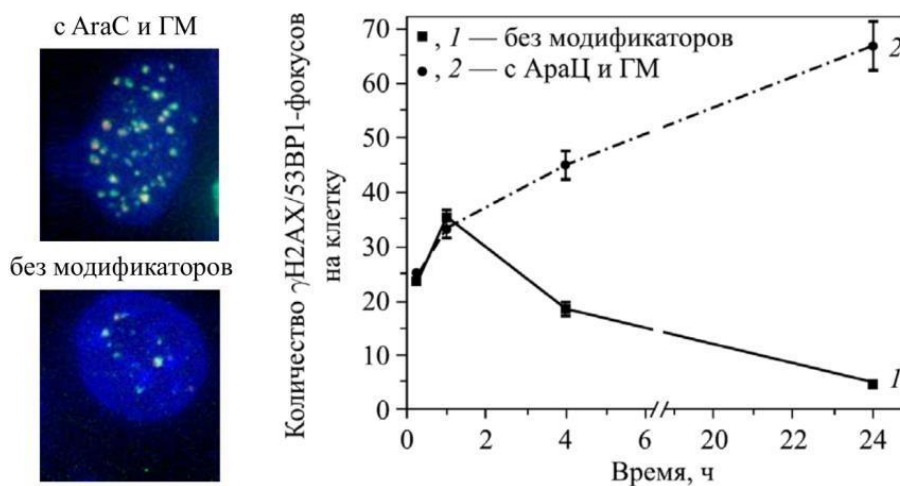


Рис. 6. Изображения индивидуальных РИФ (γ H2AX/53BP1 фокусы) через 24 ч, кинетика их формирования и элиминации в ядрах клеток человека при облучении протонами (170 МэВ, 1,25 Гр) в пике Брэгга в обычных условиях и в присутствии АраЦ и ГМ.

С учетом того, что АраЦ (цитарабин) и гидроксимочевина являются официальными препаратами и используются в клинике при лечении острых и хронических лейкозов, а в составе комбинированного или комплексного лечения ГМ применяется при лечении разных типов опухолей (головы и шеи, при меланоме кожи, раке толстой и прямой кишки, при раке шейки матки, раке почки и предстательной железы), представляется крайне важным изучить влияние этих препаратов на формирование молекулярных нарушений в клетках человека при действии протонов в пике Брэгга. Клиническое применение данных препаратов в настоящее время основано на ингибировании прохождения клеток по циклу в S-фазе. Принимая во внимание ранее полученные в нашей лаборатории материалы о модифицирующем влиянии этих агентов на выход ДР ДНК при действии ионизирующих излучений разного качества, а также возможные перспективы их практического применения, необходимо дальнейшее исследование влияния этих агентов на биологическую эффективность пучков протонов при облучении различных культур опухолевых клеток, а также при облучении мышей с трансплантированными опухолями.

В рамках продолжения работ планируется:

- Изучить влияние арабинозидцитозина на выживаемость различных линий клеток человека по критерию клонообразования, формированию апоптоза при действии протонов и γ -квантов;
- Исследовать кинетику формирования и элиминации γ H2AX/53BP1 фокусов в культуре клеток глиобластомы U87 и других радиорезистентных линий при облучении протонами в пике Брэгга и γ -квантами в нормальных условиях и в присутствии АраЦ;

- Изучить закономерности формирования двунитевых разрывов ДНК в различных отделах центральной нервной системы при облучении *in vivo* протонами и γ -квантами без применения радиомодификатора и в присутствии АраЦ;
- Изучить вклад репарации ДР ДНК в радиорезистентность опухолевых клеток;
- Исследовать индукцию, кинетику формирования и преобразования одностранных разрывов ДНК в двунитевые разрывы для различных типов нормальных и опухолевых клеток облученных в присутствии или отсутствии АраЦ (+/- ГМ) ;
- Исследовать воздействие АраЦ (+/-ГМ) на радиосенсибилизацию нормальных и опухолевых клеток при различных схемах фракционирования облучения и уровнях клеточной гипоксии;
- Проверить действие новых радиосенсибилизаторов (4,6-дихлор-5-нитропиримидин и др.), сходных по механизму действия с АраЦ.

Математическое моделирование радиационно-индуцированных эффектов

Главной целью будущих исследований является создание иерархии моделей, позволяющих систематизировать экспериментальные данные и изучать пути, которыми радиационно-индуцированные патологии развиваются на разных уровнях организации (от молекул до популяций клеток) и во временных рамках (острые и отдаленные последствия). При этом потребуются привлечение широкого спектра расчётных методов из разных областей знаний (моделирования транспорта заряженных частиц через вещество, молекулярной динамики, биофизики полимеров, генетических регуляторных сетей, моделей динамики клеточных популяций, обработки и передачи информации в нейронных сетях), а также вычислительных ресурсов, в том числе суперкомпьютера ОИЯИ.

В ходе выполнения темы будут смоделированы типичные сценарии лучевой терапии с применением различных видов излучений (гамма, протоны, ионы углерода). В отличие от традиционных подходов, используемых для планирования терапии, будет получено детальное распределение в опухоли повреждений ДНК, а не только поглощенной дозы. Основное внимание планируется уделить клеткам центральной нервной системы (ЦНС), представляющим собой затруднительную для расчета мишень ввиду сложной геометрии. Формирование и репарация основных типов повреждений ДНК (в первую очередь, двунитевых разрывов как прямой, так и энзиматической природы) будет смоделировано с использованием программного пакета GEANT4-DNA. При этом станет возможным более детально оценить и повреждения в нормальных клетках в прилегающих тканях.

На основе полученных данных о повреждениях ДНК будут сформулированы модели

радиационно-индуцированной гибели нормальных и опухолевых клеток и проведена их валидация на основе известных экспериментальных данных. Данные модели будут применены для описания динамики различных популяций клеток: различным опухолевым клеткам и радиочувствительным клеткам ЦНС (нейрональные стволовые клетки и глиальные клетки). Будут сформулированы детальные модели роста опухоли и исследована ее динамика после облучения. Данный подход планируется обобщить на случай нескольких перспективных механизмов усиления эффективности терапии. Будут рассмотрены как современные физические механизмы повышения биологической эффективности пучков заряженных частиц (использование наночастиц, усиливающих энерговыделение в мишени), так и наиболее перспективные биологические механизмы (использование ингибиторов синтеза ДНК, которые трансформируют простые нелетальные повреждения ДНК в летальные энзиматические двунитевые разрывы ДНК). Предполагается провести поиск оптимальных параметров такой сочетанной терапии с учетом концентраций активных веществ, выбора параметров пучка, терапевтической дозы, ее фракционирования и т. д.

Также планируется оценить влияние заряженных частиц на работу нейронных сетей критических отделов головного мозга (в первую очередь — гиппокампа (Рис.7)). Будут рассмотрены сценарии как острого локального облучения (оценка безопасности лучевой терапии), так и тотального хронического (задача о действии космических лучей на клетки в ходе межпланетных полетов). В последнем случае планируется впервые рассмотреть действие спектра частиц с различными энергиями и флюенсами на выход повреждений ДНК и динамику клеточных популяций. Для дальнейшей оценки возможных патологий в ЦНС после облучения будут проведены работы по исследованию различных мутантных и окисленных форм синаптических рецепторов, обеспечивающих межнейронное взаимодействие, динамики нейрогенеза и глиогенеза. Полученные данные будут систематизированы и включены в моделирование работы нейронных сетей головного мозга. Это позволит оценить вероятность сбоев в работе различных видов памяти и обучения, что критически важно для теоретической оценки радиационных рисков.

В рамках нового этапа работ по теме предполагается:

- Разработать математические модели формирования ключевых типов повреждений ДНК и их репарации, модели формирования мутаций и хромосомных aberrаций;
- Провести моделирование нарушений структуры и функций мутантных и окисленных форм белков методом молекулярной динамики.
- Разработать математические модели радиационно-индуцированной гибели опухолевых клеток и прогнозирования роста опухолей в ходе применения

перспективных методов лучевой терапии;

- Провести теоретическую оценку радиационно-индуцированных нарушений работы ЦНС на основе математических моделей нейронных сетей с учетом повреждения синаптических рецепторов, оксидативного стресса, нарушения нейрогенеза и глиогенеза.

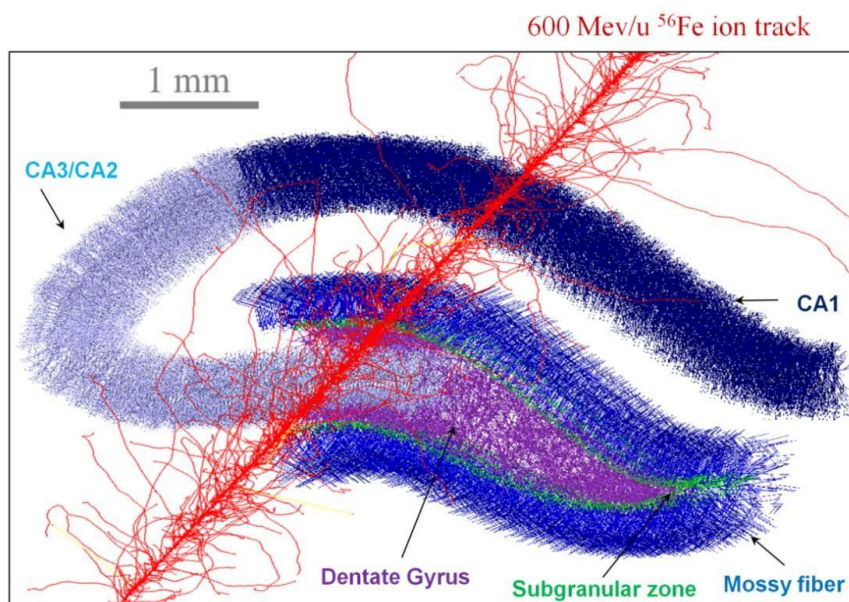


Рис. 7. Моделирование методом Монте-Карло структуры трека иона ⁵⁶Fe с энергией 600 МэВ/нуклон в трехмерной модели гиппокампа крысы, включающей основные зоны и типы клеток, отмеченные разным цветом.

Совершенствование методик радиобиологических экспериментов на ускорителях

В рамках данного направления в первую очередь планируется обеспечить научно-техническую поддержку проводимых на ускорителях заряженных частиц радиобиологических экспериментов, а также провести работы по созданию новых и модернизации существующих облучательных установок. В рамках проекта NICA планируется продолжить участие в создании на Нуклотроне ЛФВЭ ОИЯИ станции СОДИБ для радиобиологических исследований на пучках ионов углерода, неона, аргона, железа и криптона с энергиями 250-1000 МэВ/нуклон. Будут разработаны совместно с ЛФВЭ ОИЯИ технические задания на создание станции СОДИБ и платформы-позиционера и согласованы рабочие проекты. Также будет продолжена дальнейшая модернизация автоматизированной облучательной установки ЛРБ «Геном» на ускорителе У400М (ЛЯР ОИЯИ). В частности, планируется замена электромеханической части установки на шаговый двигатель, создание новой управляющей программы и включение в состав установки блоков измерения энергии ионов методом времени пролета и контроля пространственного распределения поля излучения с помощью двумерной стриповой

ионизационной камеры.

Исследования в области радиационной безопасности будут направлены на участие в проектировании новых ядерно-физических установок ОИЯИ (в первую очередь, ускорительного комплекса NICA). Будет завершено оформление обоснования радиационной обстановки на комплексе NICA, выполнены расчеты по радиационной безопасности на комплексе для утверждения санитарно-защитной зоны, выполнены оценки радиационной обстановки на комплексе при работе в режиме ускорения и столкновения протонов с энергией 12,7 ГэВ.

В части исследований радиационных полей на ядерно-физических установках ОИЯИ и в окружающей их среде будут продолжены измерения спектров нейтронов на ядерно-физических установках ОИЯИ в местах с наиболее сложной радиационной ситуацией.

В области космической радиобиологии будут выполняться расчеты транспорта излучений через вещество методом Монте-Карло по программам GEANT4, FLUKA и PHITS для реалистичной оценки эффективных доз космонавтов в зависимости от длительности полета, солнечной активности и радиационной защиты обитаемого модуля. Планируется продолжить работы по моделированию полей галактического космического излучения (ГКИ) на высокоэнергетичных ускорителях для целей экспериментальных исследований в области космической радиобиологии, в частности, исследовать возможности моделирования поля тяжелых ионов ГКИ на основе пучка ионов железа с энергией 1 ГэВ/нуклон на Нуклотроне.

В рамках совместной программы исследований с ИКИ РАН и ЛНФ ОИЯИ будет обеспечено функционирование экспериментального стенда “ДАН” и продолжено участие в работах по созданию, тестированию и градуировке приборов ядерной планетологии для исследования элементного состава поверхности небесных тел Солнечной системы и поиска водяного льда.

В рамках работ в 2021-2023 гг. планируется:

- Модернизировать установку «Геном» на циклотроне МЦ400;
- Принять участие в работах по созданию радиобиологического канала на Нуклотроне;
- Продолжить работы по прогнозированию радиационной обстановки на комплексе NICA;
- Исследовать возможность создания на Нуклотроне установки для моделирования поля тяжелых ионов ГКИ;
- Продолжить измерения спектров нейтронов на ядерно-физических установках ОИЯИ;

- Продолжить совместные с ИКИ РАН и ЛНФ ОИЯИ работы по созданию и тестированию приборов ядерной планетологии.

Список основных публикаций за предыдущий этап выполнения темы

1. *Depes D., Lee J.-H., Bobkova E., Jezkova L., Falkova I., Bestvater F., Pagacova E., Kopečna O., Zadneprianetc M., Bacikova A., Kulikova E., Smirnova E., Bulanova T., Boreyko A., Krasavin E., Hausmann M., Falk M.* Single-molecule localization microscopy as a promising tool for H2AX/53BP1 foci exploration // *Eur. Phys. J. D.*, 2018, V.72. P.158.
2. *Заднепрянец М.Г., Борейко А.В., Буланова Т.С., Йежкова Л., Красавин Е.А., Куликова Е.А., Смирнова Е.В., Фальк М., Фалькова И.* Закономерности формирования и элиминации γ H2AX/53BP1 фокусов при действии γ -квантов и ускоренных тяжелых ионов. // *Радиационная биология. Радиоэкология*, 2018, Т. 58, № 2, С. 146-156.
3. *Заднепрянец М. Г., Борейко А.В., Буланова Т.С., Йежкова Л., Красавин Е.А., Куликова Е.А., Смирнова Е.В., Фальк М., Фалькова И.* Анализ структуры комплексных повреждений ДНК при действии ускоренных ионов 11В и γ -квантов ^{60}Co . // *Радиационная биология. Радиоэкология*, 2018, Т. 58, № 3, С. 229-237.
4. *Jezkova L., Boreyko A. V., Bulanova T. S., Davidkova M., Falkova I., Kozubek S., Depes D. Krasavin. E., Kruglyakova E., Smirnova E., Valentova O., Zadneprianetc M., Falk M.* // *Nanoscale* 2018. V.10(3). P.1162-1179.
5. *Zadneprianetc M.G., Boreyko A.V., Bulanova T.S., Ježková L., Krasavin E.A., Kulikova E.A., Smirnova E.V.*The Influence of Physical Characteristics of Accelerated Heavy Ions on the Formation and Repair of DNA Double-Strand Breaks // *Physics of Particles and Nuclei Letters*, 2018, Vol. 15, № 6, P. 693-699.
6. *Bobkova E., Depes D., Lee J.-H., Jezkova L., Falkova I., Pagacova E., Kopečna O., Zadneprianetc M., Bacikova A., Kulikova E., Smirnova E., Bulanova T., Boreyko A., Krasavin E., Wenz F., Bestvater F., Hildenbrand G., Hausmann M., Falk M.* Recruitment of 53BP1 Proteins for DNA Repair and Persistence of Repair Clusters Differ for Cell Types as Detected by Single Molecule Localization Microscopy // *International Journal of Int. J. Mol. Sci.*, 2018. V.19, P.3713.
7. *Kulikova E., Boreyko A., Bulanova T., Ježková L., Zadneprianetc M., Smirnova E.* Visualization of clustered DNA damage along accelerated ions tracks. // *EPJ Web of Conferences* 2018. V. 177, P.06002.
8. *Bulanova T.S., Zadneprianetc M.G., Ježková L., Kruglyakova E.A., Smirnova E.V., Boreyko A.V.* Induction and Repair of DNA Double-Strand Breaks in Rat Cerebellar Cortex Exposed to ^{60}Co γ -Rays. // *Physics of Particles and Nuclei Letters*, 2018, V. 15, No. 1, P. 121-126.
9. *Boreyko A.V., Bugay A.N., Bulanova T.S., Dushanov E.B., Jezkova L., Kulikova E.A., Smirnova E.V., Zadneprianetc M.G., Krasavin E.A.* Clustered DNA Double-Strand Breaks and Neuroradiobiological Effects of Accelerated Charged Particles // *Physics of Particles and Nuclei Letters*, 2018, V. 15, No. 5, P. 551-561.
10. *Kozhina R.A., Chausov V.N., Kuzmina E.A., Boreyko A.V.* Induction and repair of DNA double-strand breaks in hippocampal neurons of mice of different age after exposure to ^{60}Co γ -rays *in vivo* and *in vitro* // *EPJ Web Conf. EDP Sciences*, 2018. Vol. 177. P. 06001.
11. *Bulanova T.S., Boreyko A.V., Zadneprianetc M.G., Krasavin E.A., Kulikova E.A., Smirnova E.V., Severiukhin Y.S., Timoshenko G.N.* Formation of DNA Double-Strand Breaks in Rat Brain Neurons after Irradiation with Krypton Ions (^{78}Kr) // *Physics of*

- Particles and Nuclei Letters, 2019, V. 16, No. 4, pp. 402-408.
12. *Koltovaya N.A., Zhuchkina N.I., Koltovoyi N.A., Hlinkova E.* Effect of γ - and proton irradiation on algae *Euglena*. Scientific discussion. 2017. №11, V.1, p.10-20.
 13. *Koltovaya N., Kokoreva A., Shvaneva N., Zhuchkina N.* Mutagenic effects induced by accelerated ^{11}B ions with energy of 12-30 MeV/u on yeast *Saccharomyces cerevisiae*. // Rad. Applic. 2017. V. 2. Issue 2. P.82-85.
 14. *Колтовая Н.А.* Молекулярные механизмы мутагенеза. Современная микология в России. 2017. С. 25-30.
 15. *Koltovaya N., Kokoreva A., Shvaneva N., Zhuchkina N.* Kinetics of UV-induced gene and structural mutations. Journal of Radiation and Applications. 2017. V. 2. Issue 1. P. 10-13.
 16. *Колтовая Н.А.* Киназа CDK1/CDC28 и контроль целостности ДНК у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Радиационная Биология. 2017. Т. 57. № 6. С. 573-590.
 17. *Колтовая Н.А.* Независимые от повреждений ДНК остановки клеточного цикла у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Радиационная Биология. 2018. Т.58. №1. С.5-14.
 18. *Bláha P., Koshlan N.A., Koshlan I.V., Petrova D.V., Bogdanova Y.V., Govorun R.D., Múčka V., Krasavin E.A.* Delayed effects of accelerated heavy ions on the induction of HPRT mutations in V79 hamster cells // Mutation Research. 2017. V. 803-805. P.35-41.
 19. *Koltovaya N., Zhuchkina N., Lyubimova K.* All types of base pair substitutions induced by γ -rays in haploid and diploid yeast cells // J. Bioeng. Life Sci. 2018. V. 12. № 9.
 20. *Koltovaya N., Lyubimova K., Zhuchkina N.* Genetic effects after irradiation of heavy ions in haploid and diploid yeast cells // Rad. Applic. 2018. V. 3. Issue 3. P.185-189
 21. *Dushanov E.B., Koltovaya N.A.* Effect of substitution Pro32Thr on the interaction between dimer subunits of human phosphatase ITPA // Cur. Enzyme Inhibition 2019. V. 15. Issue 1. P. 46-54.
 22. *Кошлань И.В., Кошлань Н.А., Блага П., Богданова Ю.В., Петрова Д.В., Говорун Р.Д., Красавин Е.А.* Радиационно-индуцированный мутагенез в клетках млекопитающих после воздействия ускоренных ионов с разными ЛПЭ // Письма в ЭЧАЯ. 2020.Т.17. № 1 (226). С.573-588.
 23. *Komova O. Krasavin E., Nasonova E., Mel'nikova L., Shmakova N., Cunha M., Testa E., Beuve M.* Relationship between radioadaptive response and individual radiosensitivity to low doses of gamma radiation: An extended study of chromosome damage in blood lymphocytes of three donors. // International Journal of Radiation Biology. 2017. V.94. P.1-27.
 24. *Kowalska A., Czerski K., Nasonova E., Kutsalo P., Krasavin E.* Radiation dose-response curves: cell repair mechanisms vs. ion track overlapping? // Eur. Phys. J. D 2017 V.71. P. 332.
 25. *Hartel C., Nasonova E., Fuss M., Nikoghosyan A., Debus J., Ritter S.* Persistence of radiation-induced aberrations in patients after radiotherapy with C-ions and IMRT. // Clinical and Translational Radiation Oncology. 2018 V.13. P.57-63.
 26. *Kowalska A., Pereira W., Czerski K., Nasonova E., Kutsalo P.* Fano Factor of chromosome aberrations and assessment of repair efficiency // Acta Phys. Pol. A 2018 V.133. P.225-227.
 27. *Kowalska A., Nasonova E., Czerski K., Kutsalo P., Pereira W., Krasavin E.* Production and distribution of chromosome aberrations in human lymphocytes by particle beams with different LET // Radiation and Environmental Biophysics. 2019. V.58. P.99-108.
 28. *Czerski K., Kowalska A., Nasonova E., Kutsalo P., Krasavin E.* Modeling of chromosome aberration response functions induced by particle beams with different LET // Radiation and Environmental Biophysics 2019, V.59. P.79-87.
 29. *Kowalska A., Czerski K., Nasonova E., Kutsalo P., Krasavin E.* Initial radiation DNA damage observed in prematurely condensed chromosomes of G2-phase human lymphocytes and analytical model of ion tracks // Eur. Phys. J. D2020, V.74. P. 17.

30. *Pereira W., Kowalska A., Czerski K., Nasonova E., Kustalo P., Valerievich L.E.* Deviations from Poisson Statistics Observed in Chromosome Aberrations Induced by ²⁵²Cf Neutrons // *Acta Phys. Pol. B* 2020. V.51. P.881.
31. *Северюхин Ю.С., Буденная Н. Н., Тимошенко Г.Н., Иванов А. А., Красавин Е. А.* Морфологические изменения клеток Пуркинье коры мозжечка крыс после облучения ионами углерода ¹²C // *Авиакосмическая и экологическая медицина*, 2017, Т. 51, №1, с. 46-50.
32. *Белокопытова К.В., Белов О.В., Гаевский В.Н., Наркевич В.Б., Кудрин В.С., Красавин Е.А., Базян А.С.* Динамика нейромедиаторного обмена у крыс в поздние сроки после облучения γ -квантами ⁶⁰Co // *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2017, Т.62, No2, С.5-12.
33. *Иванов А.А., Мицын Г.В., Абросимова А.Н., Булынина Т.М., Гаевский В.Н., Дорожкина О.В., Ляхова К.Н., Северюхин Ю.С., Утина Д.М., Красавин Е.А.* Радиобиологические эффекты вторичного излучения фазотрона Объединенного института ядерных исследований // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2017. Т. 51. № 3. С. 46-53
34. *Ляхова К.Н., Иванов А.А., Молоканов А.Г., Северюхин Ю.С., Утина Д.М., Красавин Е.А.* Влияние нейропептида Семакс на показатели поведенческой исследовательской реакции и силу скелетной мускулатуры мышей, облученных протонами // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2018. Т. 52. № 4. С. 71-76.
35. *Колесникова И. А., Буденная Н. Н., Северюхин Ю. С., Ляхова К. Н., Утина Д. М.* Анализ морфофункционального состояния структур головного мозга экспериментальных животных при облучении протонами в отдаленный период // *Вестник новых медицинских технологий* 2018 Т. 25, № 3 С. 177–181.
36. *Ляхова К.Н., Колесникова И.А., Утина Д.М., Северюхин Ю.С., Буденная Н.Н., Абросимова А.Н., Молоканов А.Г., Лалковичова М., Иванов А.А.* Морфофункциональные показатели воздействия протонов на центральную нервную систему // *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2019. Т.64. No2. С.75-81.
37. *Ляхова К.Н., Колесникова И.А., Буденная Н.Н., Северюхин Ю.С., Бычкова М., Никитенко О.В., Утина Д.М., Молоканов А.Г., Иванов А.А.* Влияние препарата СЕМАКС на жизненный статус и морфологические изменения в головном мозге мышей при облучении протонами // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2019. Т.59. No2. С.191-199.
38. *Severyukhin Y. S., Feldman T.B., Ostrovsky M.A. and Molokanov A.G.* Effects of Cranial Exposure to 170-MeV Proton Radiation at a Dose of 5 Gy on the Visual Behavior and Optomotor Response of Adult Rats // *Biology Bulletin*, 2019, Vol. 46, No. 12, P. 46–51.
39. *Cataldi S., Borrelli A., Ceccarini M.R., Nakashidze I., Codini M., Belov O., Ivanov A., Krasavin E., Ferri I., Conte C., Patria F. F., Traina G., Beccari T., Mancini A., Curcio F., Ambesi-Impombato F.S., Albi E.* Neutral Sphingomyelinase Modulation in the Protective/Preventive Role of rMnSOD from Radiation-Induced Damage in the Brain // *Int J Mol Sci*. 2019. V.20 No.21. P.5431.
40. *Красавин Е.А., Борейко А.В., Заднепрянец М.Г., Ильина Е.В., Кожина Р.А., Кузьмина Е.А., Куликова Е.А., Смирнова Е.В., Тимошенко Г.Н., Тиунчик С.И., Чаусов В.Н.* Влияние ингибиторов синтеза ДНК на биологическую эффективность пучка протонов в модифицированном пике Брэгга // *Препринт ОИЯИ*, P19-2018-48, 2018.
41. *Чаусов В.Н., Борейко А.В., Буланова Т.С., Заднепрянец М.Г., Ильина Е.В., Йежкова Л., Красавин Е.А., Кожина Р.А., Кузьмина Е.А., Куликова Е.А., Смирнова Е.В., Тиунчик С.И.* Формирование прямых и энзиматических двунитевых разрывов ДНК в условиях влияния ингибиторов репарации при действии излучений разного

- качества // Письма в ЭЧАЯ, 2018, Т. 15, № 6 (218), С. 573-588.
42. *Kuzmina E.A., Chausov V.N., Dubnickova M., Gaevsky V.N., Ilyina E. V., Kozhina R.A., Timoshenko G.N., Tiouchik S.I., Boreyko A. V.* Modifying effect of different forms of lipid A on the induction of DNA double-strand breaks in mice hippocampal cells after exposure to ionizing radiation of different quality in vitro // AIP Conference Proceedings. American Institute of Physics Inc., 2019. V. 2163. № 1. P. 050002.
 43. *Красавин Е.А., Борейко А.В., Заднепрянец М.Г., Ильина Е.В., Кожина Р.А., Кузьмина Е.А., Куликова Е.А., Смирнова Е.В., Тимошенко Г.Н., Тиунчик С.И., Чаусов В.Н.* Влияние ингибиторов синтеза ДНК на биологическую эффективность пучка протонов в модифицированном пике Брэгга // Письма в ЭЧАЯ 2019, Т.16, №2 (221), С. 181-190.
 44. *Красавин Е.А., Борейко А.В., Замулаева И.А.* Новый метод повышения эффективности действия ионизирующих излучений на клетки опухолевых тканей // Материалы 3-й Российской конференции с международным участием «Радиобиологические основы лучевой терапии», Дубна, 2019, стр. 84-85.
 45. *Bugay A.N., Aru G.F., Dushanov E.B., Parkhomenko A.Yu.* Radiation Induced Dysfunctions in the Working Memory Performance Studied by Neural Network Modeling // Belgrade BioInformatics Conference Proceedings. University of Belgrade, 2017. P.18-28.
 46. *Zdravković S., Bugay A.N., Parkhomenko A.Yu.* Application of Morse potential in nonlinear dynamics of microtubules // Nonlinear Dynamics 2017. V.90. P.2841-2849.
 47. *Batmunkh M., Bugay A.N., Bayarchimeg L., Lkhagva O.* Radiation damage to nervous system: designing of optimal models for realistic neuron morphology // European Physical Journal Web of Conferences 2018. V.173. P. 05004.
 48. *Zdravković S., Satarić M.V., Parkhomenko A.Yu., Bugay A.N.* Demodulated standing solitary wave and DNA-RNA transcription // Chaos 2018. V.28. P.113103.
 49. *Batmunkh M., Aksenova S.V., Bayarchimeg L., Bugay A.N., Lkhagva O.* Optimized neuron models for estimation of charged particle energy deposition in hippocampus // Physica Medica 2019. V.57 P.88-94.
 50. *Bayarchimeg L., Bugay A., Batmunkh M., Lkhagva O.* Evaluation of Radiation-Induced Damage in Membrane Ion Channels and Synaptic Receptors // Phys. Part. Nucl. Lett. 2019 V.16, P.54-62.
 51. *Batmunkh M., Bayarchimeg. L., Bugay A.N., Lkhagva O.* Monte Carlo track structure simulation in studies of biological effects induced by accelerated charged particles in the central nervous system // EPJ WoC. 204, 04008, 2019.
 52. *Batmunkh M., Bugay A.N., Bayarchimeg. L., Aksenova S.V., Lkhagva O.* Computer Modeling of Radiation – Induced Damage to Hippocampal Cells // Mongolian Journal of Physics. 2019. V.5. P.76-82.
 53. *Togotokhtur T., Lkhagva O., Batmunkh M., Bayarchimeg L., Lkhagvajav T.* The use of Einstein–Smoluchowski equation to study the chemical reaction-diffusions in neurons induced by a charged particle // Mongolian Journal of Physics. 2019. V. 5. P. 72-75.
 54. *Батмунх М., Баярчимэг Л., Бугай А.Н., Лхагва О.* Компьютерное моделирование формирования повреждений ДНК в нервных клетках при воздействии тяжёлых заряженных частиц // Актуальные вопросы биологической физики и химии, т. 4, № 2, 2019, стр. 214-219.
 55. *Kolesnikova E.A., Bugay A.N.* Modeling the influence of heavy ion beams on neurogenesis and functioning of hippocampal neural networks // EPJ Web of Conferences, Vol. 204, 2019. P. 04007.
 56. *Аксенова С.В., Батова А.С., Бугай А.Н., Душанов Э.Б.* Влияние мутантных форм синаптических рецепторов NMDA на осцилляции в нейронных сетях // Актуальные вопросы биологической физики и химии, т. 4, № 2, 2019, стр. 209-213.
 57. *Batova A.S., Bugay A.N., Dushanov E.B.* Effect of mutant NMDA receptors on the

- oscillations in a model of hippocampus // Journal of Bioinformatics and Computational Biology, 2019, V.17, №1, P. 1940003.
58. *Иванов А.А., Мицын Г.В., Тимошенко Г.Н., Булынина Т.М., Крылов А.Р., Красавин Е.А.* Моделирование на пучке протонов фазотрона нейтронных полей, формируемых внутри космического аппарата // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2017. Т. 51. № 2. С. 20-25.
 59. *Timoshenko G.N., Krylov A.R., Paraipan M., Gordeev I.S.* Particle accelerator-based simulation of the radiation environment on board spacecraft for manned interplanetary missions // Radiation Measurements 2017 V.107. P. 27-32.
 60. *Beskrovnaia L.G., Guseva S.V., Timoshenko G.N.* Method for Monitoring of Neutron Fields near High-Energy Accelerators. // Physics of Particles and Nuclei Letters. 2018, V. 15, No. 3, P.336-341.
 61. *Toan C.N., Beskrovnaia L.G., Latysheva L.N., Sobolevsky N.M., Timoshenko G.N.* Dosimeter for Measuring the Ambient Dose of Neutrons with Energy from 10^{-4} MeV to 1 GeV Based on a Cylindrical Polyethylene Moderator // Physics of Particles and Nuclei Letters. 2019, V. 16, No. 1, P.63-69.
 62. *Timoshenko G.* Neutron spectrometry at JINR nuclear facilities // Nuclear Instruments and Methods A, 2019, V. 945, No. 21, P. 512-518.
 63. *Timoshenko G., Belvedersky M.* Fluence-to-Effective Dose Conversion Coefficients for Male Astronauts // Journal of Radiological Protection 2019. V. 39, No 2, P. 511-521.
 64. *Тимошенко Г.Н., Парайпан М., Крылов А.Р., Гордеев И.С.* Радиационная безопасность на комплексе NICA // Проектные решения ОИЯИ, 2019.
 65. *Chan Ngok Toan, Beskrovnaia L.G., Timoshenko G.N., Latysheva L.N. Sobolevsky N.M.* Dosimeter for Measuring the Ambient Dose of Neutrons with Energy from 10^{-4} MeV to 1 GeV Based on a Cylindrical Polyethylene Moderator // Physics of Particles and Nuclei Letters, 2019, V.16, No. 1, P. 63-69.
 66. *Митрофанов И.Г., Головин Д.В., Санин А.Б., Никифоров С.Ю., Аникин А.А., Дьячкова М.В., Карпушкина Н.Е., Лисов Д.И., Литвак М.Л., Мокроусов М.И., Тимошенко Г.Н., Крылов А.Р., Швецов В.Н., Мицын Г.В., Молоканов А.Г.* Результаты экспериментальной верификации гамма-спектрометра с мечеными заряженными частицами на протонном пучке ускорителя ОИЯИ // Письма в ЭЧАЯ. 2019. Т.16. №3 (222). С.233-239.
 67. *Timoshenko G., Gordeev I.* Simulation of radiation field inside interplanetary spacecraft // Journal of Astrophysics and Astronomy. 2020. V.41. P.5.

Оценка кадровых ресурсов

Коллектив участников включает 74 сотрудника ЛРБ ОИЯИ, среди которых 20 являются высококвалифицированными специалистами в области радиационной биологии и радиационной физики, имеющими многолетний опыт работы (академик РАН - 1, чл. корр. РАН - 1, докторов наук - 6, кандидатов наук - 12). Число молодых сотрудников до 35 лет - 39, что составляет 53% от общего состава участников.

Более 20 лет на кафедре «Биофизика» Университета «Дубна» по направлению «радиобиология» осуществляется подготовка студентов и аспирантов, многие из которых продолжают успешную работу в ЛРБ. Кроме того, на протяжении многих лет сохраняется традиция привлечения и трудоустройства выпускников МГУ и МИФИ. Все это обеспечивает достаточное пополнение Лаборатории молодыми кадрами.

В качестве соисполнителей выступают исследовательские коллективы из Армении, Беларуси, Болгарии, Вьетнама, Германии, Кубы, Италии, Монголии, Польши, России, Румынии, Сербии, Словакии, Чехии, ЮАР. ЛРБ ОИЯИ входит в состав Международной биофизической коллаборации, что позволит привлечь в проект большее число участников из разных стран.

**Предлагаемый план-график и необходимые ресурсы для осуществления
проекта «Исследования биологического действия тяжелых заряженных частиц
различных энергий»**

Наименования узлов и систем установки, ресурсов, источников финансирования			Стоимость узлов (тыс.долл) установки. Потребности в ресурсах.	Предложение лаборатории по распределению финансирования и ресурсов		
				2021	2022	2023
Необходимые ресурсы	Нормо-час	Нуклотрон	72 ч	-	-	72 ч
		Циклотрон МЦ400	192 ч	-	96 ч	96 ч
		Рокус-М	300 ч	100 ч	100 ч	100 ч
		Мед. пучок фазотрона	300 ч	100 ч	100 ч	100 ч
Источник финансирования	Бюджет	Тема 1077	548200 \$	204200 \$	163200 \$	180800 \$

РУКОВОДИТЕЛИ ПРОЕКТА

/Красавин Е.А./

/ Бугай А.Н./

План-график работ

№	Наименование основных работ и этапов	Сроки работы (год, квартал)	
		Начало	Окончание
1	Определение закономерностей формирования кластерных двунитевых разрывов ДНК при действии тяжелых заряженных частиц в ядрах фибробластов кожи человека, радиорезистентных опухолевых клетках U87.	2021, I	2023, IV
2	Анализ закономерностей формирования и структуры сложноорганизованных кластерных повреждений ДНК методом иммуноцитохимического окрашивания белков репарации γ H2AX, 53BP1, OGG1, XRCC1 в ядрах фибробластов человека при действии ускоренных тяжелых ионов.	2021, I	2023, IV
3	Исследование кинетики репарации кластерных двунитевых разрывов ДНК после действия тяжелых заряженных частиц в ядрах фибробластов кожи человека, радиорезистентных опухолевых клетках U87.	2021, I	2023, IV
4	Изучение закономерностей формирования различных типов повреждений ДНК (однонитевых разрывов ДНК, повреждений оснований, комплексных повреждений ДНК) при действии тяжелых заряженных частиц в ядрах фибробластов человека.	2021, I	2023, IV
5	Определение вклада различных путей репарации двунитевых разрывов ДНК в фибробластах человека при действии излучений разного качества методом иммуноцитохимического окрашивания белков репарации RAD51 (HR) и DNA PKcs (NHEJ).	2021, I	2023, IV
6	Изучение закономерностей формирования и кинетики репарации кластерных двунитевых разрывов ДНК при действии тяжелых заряженных частиц в ядрах клеток предшественников и зрелых нейронах, а также глиальных клетках ЦНС млекопитающих с использованием маркеров клеточных субпопуляций - NeuN, doublecortin, GFAP, BrdU, calbindin.	2021, I	2023, IV
7	Проведение экспериментов по изучению экспрессии генов кодирующих белки, участвующие в репарации (RAD51, DNAPKcs, NBS1, MRE11 и др.) в фибробластах кожи человека при действии тяжелых заряженных частиц.	2021, I	2023, IV
8	Изучение закономерностей индукции апоптоза в фибробластах кожи человека, в нейронах ЦНС млекопитающих при действии тяжелых заряженных частиц.	2021, I	2023, IV

9	Проведение экспериментов по изучению экспрессии генов кодирующих белки и каспазы, участвующие в индукции апоптоза в фибробластах человека и нервных клетках при действии тяжелых заряженных частиц.	2021, I	2023, IV
10	Изучение закономерностей формирования и элиминации двунитевых разрывов ДНК в клетках гиппокампа крыс <i>in vitro</i> с использованием первичной культуры гиппокампа, получаемой из крыс возраста P0-P1.	2021, I	2023, IV
11	Определение закономерностей формирования двунитевых разрывов ДНК при действии γ -квантов и ускоренных тяжелых ионов в нейронах ЦНС млекопитающих	2021, I	2023, IV
12	Исследование кинетики репарации кластерных двунитевых разрывов ДНК при действии γ -квантов и ускоренных тяжелых ионов в нейронах ЦНС млекопитающих.	2021, I	2023, IV
13	Изучение закономерностей экспрессии генов, кодирующих белки репарации (RAD51, DNA PKcs, NBS1, MRE11 и др.) в фибробластах человека при действии ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками.	2021, I	2023, IV
14	Изучение закономерностей индукции точечных мутаций и структурных перестроек пучками ускоренных ионов.	2021, I	2023, IV
15	Изучение влияния нарушения дыхания в результате повреждения митохондриальной ДНК на чувствительность к повреждающему и мутагенному действию излучения.	2021, I	2023, IV
16	Изучение характеристик мутации, понижающей чувствительность клеток к излучению.	2021, I	2023, IV
17	Анализ радиочувствительности, генетической стабильности и биохимических особенностей инактивированной фосфатазы человека и дрожжей.	2021, I	2023, IV
18	PCR-анализ структурных нарушений <i>hprt</i> -гена у потомков облученных клеток (линия V-79).	2021, I	2021, IV
19	Сопоставление спектров структурных и хромосомных нарушений, выявленных у радиационно-индуцированных мутантов в разные сроки после облучения.	2021, III	2023, IV
20	Исследование индукции комплексных aberrаций в нормальных (лимфоциты) и опухолевых (карцинома молочной железы Cal 51) клетках человека <i>in vitro</i> при действии фотонов, протонов и ускоренных ионов бора и азота.	2021, I	2023, IV

21	Исследование индукции и элиминации (3-6 месяцев после облучения) хромосомных aberrаций в клетках костного мозга и лимфоцитах крови животных mFISH и стандартным метафазным методом.	2021, I	2023, IV
22	Использование метода mFISH для исследования хромосомных aberrаций, индуцированных в лимфоцитах периферической крови человека различными видами излучений, используемых в терапии рака.	2021, I	2023, IV
23	Кариотипирование и анализ структурных и численных хромосомных aberrаций в различных линиях культивируемых <i>in vitro</i> стволовых клеток человека методом mFISH.	2021, I	2023, IV
24	Исследование индукции разрывов хроматина в разные сроки после облучения гамма, протонами и ускоренными ионами в нормальных (лимфоциты) и опухолевых (карцинома молочной железы Cal 51) клетках человека методом преждевременной конденсации хроматина	2021, I	2023, IV
25	Оценка отдаленных последствий облучения головы обезьян (<i>Macaca mulatta</i>) ускоренными ионами углерода и криптона метафазным методом.	2021, I	2022, IV
26	Исследование морфологических и функциональных изменений в ЦНС крыс линии SD и мышей CD-1 после воздействия протонного излучения	2021, I	2021, IV
27	Разработка противолучевых средств на основе новых представлений о патогенезе радиационных поражений, включая влияние на ЦНС и кроветворение.	2022, I	2022, IV
28	Исследование эффектов протонного облучения, а также эффектов вторичного излучения, после прохождения протонов через элементы космического аппарата и строительные материалы для космических баз.	2023, I	2023, IV
29	Исследование влияния корпускулярных видов излучений с различной ЛПЭ на патогенез в органах и тканях организма мелких лабораторных животных	2023, I	2023, IV
30	Исследование секреции воспалительных цитокинов в гомогенатах мозга мышей после облучения	2021, I	2022, IV
31	Измерение уровня основного белка миелина (МВР) в гомогенатах мозга облученных мышей в различные времена после облучения	2021, IV	2023, IV
32	Исследование количества предшественников олигодендроцитов и основного белка миелина (МВР) на срезах мозга облученных мышей с использованием флуоресцентных маркеров в различные времена после облучения.	2023, I	2023, IV

33	Исследование влияния АраЦ на выживаемость различных линий нормальных и опухолевых клеток млекопитающих и человека (по критерию клонообразования, формированию апоптоза) при действии протонов и γ -квантов.	2021, I	2023, IV
34	Исследование образования и элиминации γ H2AX/53BP1 фокусов в культуре клеток глиобластомы U87 и других радиорезистентных линий опухолей при облучении протонами в пике Брэгга и γ -квантами в нормальных условиях и в присутствии АраЦ (+/- ГМ).	2021, I	2023, IV
35	Изучение закономерностей формирования двунитевых разрывов ДНК в различных отделах центральной нервной системы грызунов при облучении <i>in vivo</i> протонами и γ -квантами без применения радиомодификаторов и в присутствии АраЦ (+/- ГМ).	2021, I	2023, IV
36	Изучение кинетики формирования и преобразования одностебельных разрывов ДНК в двунитевые разрывы ДНК для различных нормальных и опухолевых типов облученных клеток в присутствии или отсутствии АраЦ (+/- ГМ).	2021, I	2023, IV
37	Исследование воздействия АраЦ (+/- ГМ) на радиосенсибилизацию нормальных опухолевых клеток при различных схемах фракционирования облучения и уровнях клеточной гипоксии.	2021, I	2023, IV
38	Поиск новых радиосенсибилизаторов (4,6-дихлор-5-нитропиримидин, 5-нитро-2,4-дихлорпиримидин) и других соединений, сходных по механизму действия с АраЦ.	2021, I	2023, IV
39	Моделирование формирования и репарации повреждений ДНК при действии тяжелых заряженных частиц различных энергий на нормальные и опухолевые клетки.	2021, I	2023, IV
40	Моделирование формирования мутаций и хромосомных aberrаций в клетках эукариот при действии тяжелых заряженных частиц различных энергий.	2021, I	2023, IV
41	Моделирование роста популяции опухолевых клеток при действии ионизирующих излучений в присутствии ингибиторов синтеза ДНК.	2021, I	2023, IV
42	Моделирование роста популяции опухолевых клеток при действии ионизирующих излучений в присутствии металлических наночастиц.	2021, I	2023, IV
43	Моделирование действия спектра заряженных частиц, соответствующего галактическим космическим лучам, на формирование и элиминацию повреждений ДНК в клетках нервной системы.	2021, I	2023, IV

44	Моделирование нарушений структуры и функций мутантных и оксидированных форм белков методом молекулярной динамики.	2021, I	2023, IV
45	Моделирование радиационно-индуцированных нарушений нейрогенеза и глиогенеза, нейровоспалительных процессов в структурах центральной нервной системы.	2021, I	2023, IV
46	Моделирование действия тяжелых заряженных частиц на работу нейронных сетей головного мозга	2021, I	2023, IV
47	Проведение радиобиологических экспериментов на пучках ионов Нуклотрона.	2023, I	2023, IV
48	Проведение радиобиологических экспериментов на пучках ионов МЦ400.	2022, I	2023, IV
49	Проведение радиобиологических экспериментов на фазотроне и на Рокус-М.	2021, I	2023, IV
50	Работы по прогнозированию радиационной обстановки на комплексе NICA.	2021, I	2023, IV
51	Модернизация облучательной установки «Геном».	2021, I	2022, IV
52	Исследования радиационных полей на установках ОИЯИ.	2021, I	2023, IV

РУКОВОДИТЕЛИ ПРОЕКТА

/Красавин Е.А./

/Бугай А.Н./

Смета затрат по проекту «Исследования биологического действия тяжелых заряженных частиц различных энергий»

NN пп	Наименование статей затрат	Полная стоимость (тыс. долл)	1 год	2 год	3 год
	Прямые расходы на Проект				
1.	Материалы	240	70	70	100
2.	Оборудование	158,2	84,2	43,2	30,8
3.	Оплата НИР, выполняемых по договорам	-	-	-	-
4.	Командировочные расходы в т.ч.	150	50	50	50
	а) в страны нерублевой зоны				
	б) в города стран рублевой зоны				
	в) по протоколам				
	Итого по прямым расходам	548,2	204,2	163,2	180,8

Руководители Проекта

/Красавин Е.А./

/ Бугай А.Н./

Директор Лаборатории

/ Бугай А.Н./

Ведущий инженер-экономист Лаборатории

/Леснинова И.Ю./

Анализ сильных и слабых сторон проекта

Сильными сторонами проекта являются:

1. Многолетний опыт работы главных исполнителей проекта в области радиобиологии, их широкая известность в международных научных кругах.
2. Руководителем темы является член-корреспондент РАН, имеющий большой авторитет и широкое признание в науке.
3. Научная и методическая поддержка планируемых исследований со стороны совета РАН по радиобиологии.
4. Выполнение проекта планируется в сотрудничестве с широким кругом высококвалифицированных специалистов из разных стран, в том числе в составе Международной биофизической коллаборации.
5. Большое число молодых специалистов в составе коллектива.
6. В качестве технической базы планируется использовать ускорительные установки нескольких лабораторий ОИЯИ.

Слабые стороны проекта:

1. Модернизация источников ускоренных многозарядных ионов в 2021-22 гг ограничивает число экспериментов на базе ОИЯИ.

Возможности:

1. Высокий научный потенциал и современная научная база открывают широкие перспективы для привлечения молодых специалистов из стран-участниц ОИЯИ.
2. Повышение научного авторитета ОИЯИ, как одной из уникальных организаций, где ведутся современные фундаментальные и прикладные исследования в области радиобиологии тяжелых ионов.
3. Результаты выполнения исследований в области космической радиобиологии открывают возможности для оценки безопасности космонавтов в ходе планируемых программ освоения Луны и Марса.
4. Результаты выполнения исследований в направлении молекулярно-биологических аспектов совершенствования методов лучевой терапии раковых заболеваний открывают перспективы для повышения эффективности фотонных и протонных терапевтических установок, снижению стоимости и негативных последствий при лечении пациентов.

Угрозы:

Задержка постройки и ввода в эксплуатацию прикладных каналов исследований в составе комплекса NICA может замедлить выполнение части проекта.