

Форма № 21

УТВЕРЖДАЮ
Вице-директор ОИЯИ

_____ 2022 г.

НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОДЛЕНИЯ ТЕМЫ
для включения в
В ПРОБЛЕМНО-ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ОИЯИ НА 2023 г.

Шифр темы: 04-2-1132

Лаборатория ядерных проблем
НХП Отдел фазотрона,
Сектор молекулярной генетики
клетки

Направление: 04 – Физика конденсированных сред, радиационные и радиобиологические исследования

Наименование темы: «Проведение медико-биологических и радиационно-генетических исследований с использованием различных типов ионизирующих излучений»

Руководители темы – Г.В. Мицын, С.Л. Яковенко

Заместитель – С.В. Швидкий

Краткая аннотация:

Основной целью темы является проведение на базе Медико-технического комплекса (МТК) при фазотроне ЛЯП ОИЯИ медико-биологических и клинических исследований по изучению эффективности адронной терапии различных новообразований, совершенствование оборудования и аппаратуры и разработка новых методов лучевой терапии онкологических больных на медицинских адронных пучках ОИЯИ. Кроме того, планируются исследования в области радиобиологии и молекулярной генетики, направленные как на получения новых знаний в соответствующих областях науки, так и на практическое использование результатов этих исследований для повышения эффективности радиотерапии, а также для уменьшения возникающих побочных эффектов при ее проведении.

В Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ на базе ускорителя протонов на энергию 660 МэВ (фазотрона) создан Медико-технический комплекс, на котором с 2000 по 2019 годы курс фракционированной протонной терапии прошли около 1300 пациентов. Облучение проводилось с использованием разработанной методики трехмерной конформной протонной лучевой терапии, при которой максимум формируемого

дозного распределения наиболее точно соответствует форме облучаемой мишени. При этом доза резко падает за границами новообразования, что позволяет проводить облучение ранее не доступных для лучевой терапии локализаций, вплотную примыкающих к жизненно важным радиочувствительным органам пациента.

На протяжении многих лет в России функционировало только 3 центра, где в той или иной степени проводилась протонная терапия, причем исключительно в плане клинических испытаний данного метода лечения. Все они базировались на ускорителях, предназначенных для исследований в области ядерной физики и, строго говоря, по своим параметрам не в полной мере подходили для этих задач. Однако к настоящему времени в России уже открылись и проводят лечение 3 специализированных центра протонной терапии, в связи с чем сам метод протонной терапии перестал считаться экспериментальным. Отсюда возникло предписание Росздравнадзора к уже существующим экспериментальным центрам либо провести сертификацию своего оборудования в качестве медицинского изделия, либо отказаться от облучения пациентов. Понятно, что по ряду причин первое условие осуществить было невозможно, учитывая те жесткие требования, которые предъявляются к таким изделиям. Поэтому к 2019 году работы по облучению пациентов во всех 3-х существовавших в России экспериментальных центрах протонной терапии, в том числе и в ОИЯИ, были остановлены.

Учитывая это обстоятельство в настоящее время в ОИЯИ начались работы по созданию нового специализированного ускорителя для проведения протонной терапии и радиобиологических исследований, который в будущем заменит ускоритель ЛЯП (фазотрон), введенный в эксплуатацию еще в 1949 году. Планируется, что ток протонного пучка на выходе из ускорителя составит около 10 мкА, что на порядок превышает этот параметр у существующих на сегодняшний день ускорителей для ПЛТ и позволит проводить так называемую флэш-терапию, которая возможно в будущем станет новым шагом в лечении онкологии.

На сегодняшний день на протонных пучках в более чем 110 центрах во всем мире было пролечено около 250000 пациентов. Результаты этих клинических исследований со всей очевидностью показали, что протонная терапия является очень эффективным методом лечения онкологических и некоторых других заболеваний, а в некоторых случаях оказывается практически безальтернативным. Благодаря этому накопленному положительному опыту к концу прошлого века при крупных радиологических клиниках начали строиться специализированные центры протонной терапии. На сегодняшний день в мире насчитывается несколько десятков проектов создания подобных центров на разной стадии реализации.

В то же время методические вопросы подведения дозы к патологическому очагу, фиксации и центровки пациента и некоторые другие до конца не решены на сегодняшний день и представляют собой поле деятельности для дальнейших исследований. Одной из основных целей исследований на период 2023 г. будет являться разработка методов облучения пациентов протонным пучком, обеспечивающих наиболее высокую степень конформности создаваемого дозного поля облучаемой мишени. Клинически это выразится в уменьшении дозы, приходящейся на здоровые ткани и органы, окружающие мишень, и к общему повышению эффективности лучевой терапии.

Намечены также работы по исследованию радиобиологических эффектов, возникающих при проведении так называемого флэш-облучения, когда вся подводимая за фракцию доза в несколько Грей отпускается за экстремально короткое время, порядка нескольких десятков миллисекунд. Большое число проведенных в разных центрах исследований уже определенно показали, что при таком фракционировании облучения повреждения здоровых тканей и органов, получающих паразитную дозу при проведении радиотерапии, на несколько десятков процентов ниже, чем в случае

стандартного облучения. Опухолевые же клетки поражаются практически с такой же эффективностью.

На сегодняшний день механизм этого явления еще не до конца изучен, но тот факт, что лидирующие фирмы-производители оборудования для проведения протонной терапии IBA и Varian уже начали негласное соревнование, кто раньше сумеет модернизировать свое оборудование для возможности проведения флэш-терапии, говорит о многом. Этой теме посвящаются крупные конференции и форумы, регулярно проводимые во всем мире. Данный метод, по всей видимости, будет являться новой ступенью в повышении эффективности радиотерапии.

Еще одним из актуальных направлений в радиобиологии является получение новых научных результатов в области исследования влияния ионизирующих излучений разного качества на структуры и функции центральной нервной системы (ЦНС). В рамках Темы проводятся работы по анализу механизмов радиационно-индуцированного повреждения ЦНС и их связи с физическими характеристиками воздействующих излучений. Так, за последние годы получены новые сведения о роли функциональных изменений со стороны рецепторов глутамата, а также о роли нейроглиальных взаимодействий и нейромодуляторных систем мозга при ответе на ионизирующее воздействие.

Запланировано также продолжение молекулярно-генетических исследований в рамках проекта «Радиоген», отслеживающих изменения структуры генов животных и человека, вызываемые воздействием ионизирующих излучений с различным значением линейной передачи энергии (ЛПЭ). Выяснение точных размеров внутригенных делеций и контекста ДНК флалкирующей эти делеции, в генеративных клетках *Drosophila melanogaster*, используя методы ПЦР и секвенирования по Сэнгеру составляет первую цель планируемых исследований.

Как показали результаты нашего пилотного эксперимента по полногеномному секвенированию и биоинформационному анализу, практически все из 9 изученных потомков γ -облученных самцов (40 Гр) имеют множественные структурные изменения ДНК в виде делеций, дупликаций, инверсий и транслокаций, в отличие от 3 контрольных потомков, среди которых 2 имели по одной небольшой делеции. Дальнейшее увеличение выборки изучаемых потомков от контрольных и облученных самцов и расширение биоинформационного анализа для выявления других изменений геномной ДНК составляют вторую цель планируемых молекулярно-генетических исследований.

В рамках проекта «Dsup» предполагается изучение свойств нового радиопротекторного белка тихоходок Damage suppressor (Dsup) и исследование механизмов его действия. Белок Dsup является новым белком, открытым в 2016 году в тихоходке *Ramazzottius varieornatus* – одном из самых радиорезистентных видов многоклеточных организмов. В ходе выполнения проекта в 2021-2022 годах были созданы линии *D. melanogaster* и культура клеток человека HEK293, экспрессирующие данный белок, для которых было показано значительное увеличение радиорезистентности в ходе облучения разными видами ионизирующего излучения.

Проведенные первые эксперименты по определению структуры белка Dsup показали наличие возможной вторичной структуры. Поэтому запланированные на 2023 г. работы являются продолжением исследований в этих направлениях. Будут продолжены эксперименты по установлению вторичной структуры белка в нативных и денатурирующих условиях. Для понимания действия белка Dsup в живых клетках в культуре клеток человека HEK293 будет проведена оценка устойчивости к цитотоксическому действию протонного излучения с помощью оценки метаболической активности клеток (МТТ-тест) и индукции апоптоза (по активности каспаз-3/7), определения уровня активных форм кислорода в клетках. Для решения данных задач будет использован широкий спектр молекулярно-биологических методов: в частности,

методы SAXS, DLS и кругового дихроизма, продуцирование, очистка и хроматография белка, различные биохимические тесты, описывающие состояние культуры клеток. Решаемые в ходе выполнения проекта задачи являются новыми и важным не только для фундаментальной молекулярной биологии и радиобиологии, но и для прикладных направлений биотехнологии, космических исследований и других дисциплин, требующих повышения уровня радиорезистентности организмов.

Этапы работы:

Клинические исследования в области протонной терапии:

- Проведение статистического анализа результатов клинических исследований на терапевтическом протонном пучке фазотрона ЛЯП по облучению пациентов с различными патологиями, прошедших курс протонной терапии с 2000 по 2019 годы.

Развитие и совершенствование методик протонной терапии:

- Будет продолжена разработка и создание аппаратуры для проведения динамического конформного облучения протонным пучком глубоко залегающих мишеней, включающая создание управляемых от компьютера замедлителя переменной толщины и полномасштабного варианта многолепесткового коллиматора.
- Предполагается провести разработку и создания компьютеризированной системы отпуска дозы при проведении протонной терапии, необходимой для реализации динамических методик облучения.
- Продолжаются работы по расширению функциональных возможностей разрабатываемой в МТК трехмерной программы планирования конформной протонной радиотерапии и по ее верификации в сеансах протонного облучения с использованием фантомов и радиохромной пленки.
- Разработка, изготовление и апробация систем диагностики и дозиметрии протонного пучка с большой мощностью дозы для флэш-терапии.

Дозиметрия и микродозиметрия терапевтических адронных пучков:

- Совместно с сотрудниками фирмы Advacam (Чехия) будут продолжены работы по измерениям спектров ЛПЭ протонного пучка фазотрона ЛЯП с использованием кремниевых детекторов MiniPix 300 и MiniPix 500.
- При проведении радиотерапии в устройствах формирования протонного пучка образуются вторичные частицы, в частности нейтроны и фотоны, которые облучают окружающие здоровые ткани. Дозы от таких полей должны быть минимизированы, т.к. они могут приводить к негативным последствиям вплоть до образования вторичных радиационно-индуцированных опухолей. На медицинском протонном пучке фазотрона планируется проведение работ по измерению фоновых условий в кабине протонной терапии. Подобные измерения будут проводиться также и на сканирующем клиническом протонном пучке в Центре протонной терапии в Праге (РТС). Полученные данные будут сравниваться с результатами измерений на протонном пучке ЛЯП ОИЯИ.

Радиобиология:

- Изучение эффектов повышения цитотоксического действия лучевой терапии в присутствии металлических наночастиц в клетках млекопитающих. Выявление новых механизмов комбинированных методов лечения опухолевых клеток с использованием металлических наночастиц и выявление их роли в усилении эффекта влияния γ -лучей и протонов на опухолевые клетки.

- Сравнительное изучение кинетики отдельных этапов репарации двунитевых разрывов ДНК с использованием маркеров репарационных белковых комплексов после воздействия протонов и ускоренных тяжелых ионов. Моделирование процессов повреждения и репарации ДНК в клетках млекопитающих и человека с использованием программного пакета Geant4-DNA.
- Изучение фундаментальных свойств репарации ДНК в отдельных участках головного мозга и их связи с метаболизмом нейромедиаторов после воздействия ионизирующих излучений разного качества.
- Выявление интегративных связей между отделами головного мозга после воздействия излучений разного качества на основе анализа динамики нейромедиаторного обмена. Изучение роли иерархических сетей головного мозга в функциональных изменениях работы ЦНС после облучения.
- Исследования различий радиобиологических реакций для нормальных и опухолевых клеток, облученных методом FLASH: а) Определение кривых выживаемости (клоногенный анализ); б) Исследование пролиферативной активности клеток (МТТ-тест); в) Исследование цитогенетического повреждения (микроядерный тест, H2AX- focu); г) Исследование образования активных форм кислорода.

Молекулярная генетика:

- Выяснение точных размеров внутригенных делеций и контекста ДНК флалкирующей эти делеции, в генеративных клетках *Drosophila melanogaster*, используя методы ПЦР и секвенирования по Сэнгеру.
- Увеличение выборки изучаемых потомков от контрольных и облученных самцов *Drosophila melanogaster* и расширение биоинформационного анализа для выявления других изменений геномной ДНК.
- Изучение свойств нового радиопротекторного белка тихоходок Damage suppressor (Dsup) и исследование механизмов его действия.

Ожидаемый результат по завершении темы.

В результате выполнения намеченной программы работ будут получены оценки эффективности адронной терапии для ряда злокачественных образований, выданы практические рекомендации по выбору оптимальных вариантов лучевого лечения онкологических больных и по дальнейшему развитию методов лучевой терапии с использованием пучков адронов, разработаны и апробированы новые средства и методики облучения онкологических больных на этих пучках.

Также будут получены новые экспериментальные результаты и фундаментальные знания в области радиобиологии и молекулярной генетики.

Список участников и организаций.

ОИЯИ ЛЯП (Дубна) – А.В. Агапов, Т.О. Азорская, И.В. Александрова, И.Д. Александров, М.В. Александрова, Г.А. Андреев, К.П. Афанасьева, О.В. Белов, К. Белокопытова, В.М. Бреев, В.Н. Гаевский, Е.А. Грицкова, С.А. Густов, Г.В. Донская, М.П. Зарубин, Е.И. Лучин, И.И. Клочков, С.В. Кораблинова, Л.Н. Коровина, Е.В. Кравченко, О.А. Кулдошина, И.Е. Миллер, Г.В. Мицын, А.Г. Молоканов, Т.Н. Муругова, Н.В. Орлова, С.А. Писарева, А.В. Рзянина, А.Н. Русакович, О.П. Солодилова, К.А. Тарасов, Н.Е. Харченко, И. Хасенова, С.В. Швидкий, К.Н. Шипулин, А.С. Яхненко

ИМБП (Москва, Россия) – Абросимова А.Н., Шуршаков В.А.

ФМБЦ им. А.И. Бурназяна (Москва, Россия) – Осипов А.Н.

ИТЭБ РАН (Пушино, Россия) – Шемяков А.Е.

СГУ им. Н.Г. Чернышевского (Саратов, Россия) – Бучарская А.Б.

МГУ (Кишинев, Молдова) – М. Лешану

ВЦО (Познань, Польша) – Ю. Малицкий, Д. Борович

ОРД ИЯФ ЧАН (Ржеж, Чехия) – К. Пахнерова-Брабцова

ЦПТ (Прага, Чехия) – В. Вондрачек

Фирма «Адвакам» (Прага, Чехия) – К. Граня, К. Оанчеа

НИФЯИ им. Хулубея (Бухарест-Магурель, Румыния) – Д.Ю. Саву

Babes-Bolyai University (Клуж-Напока, Румыния) – В. Чис

УАИС Университет «Александру Иоан Куза» (Яссы, Румыния) – Д. Креанга

ИЛАБС (Фаур, ЮАР) – Ш. Вандевордэ

Руководители темы – Г.В. Мицын, С.Л. Яковенко

Заместитель – С.В. Швидкий

Сроки выполнения работы: 01.01.2023 – 31.12.2023

Полная сметная стоимость темы - 105,6 тыс. \$ США

Бюджет ОИЯИ – 105,6 тыс. \$ США

Предлагаемый план-график и необходимые ресурсы по теме 04-2-1132
 «Проведение медико-биологических и радиационно-генетических исследований с
 использованием различных типов ионизирующих излучений»
 на 2023 г.

Наименование узлов и систем установки, ресурсов, источников финансирования	Стоимость узлов (тыс. долл.); потребность в ресурсах (часы)	Предложения по распределению финансирования и ресурсов
		2023 г.
<u>Основные узлы и оборудование</u>		
1. Материалы и оборудование для разработки методик протонной терапии	4	4
2. Дозиметрическое оборудование	4	4
3. Материалы и оборудование для радиобиологических исследований	7	7
4. Материалы и оборудование для молекулярно- генетических исследований	72,6	72,6
<u>Необходимые ресурсы (нормо/час)</u>		
Фазотрон ЛЯП ОИЯИ	120	120
Опытное производство ЛЯП	50	50
<u>Источники финансирования Бюджетные</u>		
Затраты из бюджета в том числе инвалютные средства	87,6	87,6
<u>Внебюджетные</u>		
Средства по договорам и грантам	0	0

**Смета затрат по теме 04-2-1132
«Проведение медико-биологических и радиационно-генетических исследований с
использованием различных типов ионизирующих излучений»
на 2023 г.**

NN пп	Наименование статей затрат	Единицы измерения	2023 год
1.	Ускоритель фазотрон	час.	120
2.	Опытное производство ЛЯП	нормо-час	50
3.	Материалы	тыс. долл.	72
4.	Оборудование	тыс. долл.	15,6
5.	Командировочные расходы	тыс. долл.	18
Итого по прямым расходам:		тыс. долл.	105,6

СОГЛАСОВАНО

Главный ученый секретарь ОИЯИ

_____/_____/_____
“ ____ “ _____ 2022 г.

Директор лаборатории

_____/_____/_____
“ ____ “ _____ 2022 г.

Начальник Планово-финансового отдела

_____/_____/_____
“ ____ “ _____ 2022 г.

Ученый секретарь лаборатории

_____/_____/_____
“ ____ “ _____ 2022 г.

Начальник Научно-организационного отдела

_____/_____/_____
“ ____ “ _____ 2022 г.

Экономист лаборатории

_____/_____/_____
“ ____ “ _____ 2022 г.

Руководители темы

_____/_____/_____
“ ____ “ _____ 2022 г.

_____/_____/_____
“ ____ “ _____ 2022 г.