

УДК 575.224.23: 539.125.4

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ ПУЧКОМ ПРОТОНОВ ФАЗОТРОНА ОБЪЕДИНЕННОГО ИНСТИТУТА ЯДЕРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Р. Д. Говорун^а, М. Денерас-Каминьска^{а, б}, Е. М. Зайцева^а,
Е. А. Красавин^а, Г. В. Мицын^а, А. Г. Молоканов^а*

^а Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

^б Светокшыска Академия, Институт биологии, Отделение радиобиологии и иммунологии,
Кельце, Польша

Приведены физические характеристики терапевтического пучка протонов, созданного на фазотроне ОИЯИ для проведения лучевой терапии пациентов. Проведены исследования хромосомных повреждений в клетках (на модели лимфоцитов крови человека) при облучении на входе в объект исходного пучка протонов с энергией 170 МэВ и в области пика Брэгга, что соответствует облучению окружающих тканей на пути пучка и непосредственно тканей опухоли. Показана высокая эффективность протонов в пике Брэгга. Значение ОБЭ составило $\sim 1,25$ в диапазоне доз 1–4 Гр, в то время как протоны исходного пучка по эффективности не отличались от стандартного γ -излучения. Поскольку формирование терапевтической дозы протонов на опухоль осуществляется облучением пациентов с нескольких направлений (до 7), уровень цитогенетических повреждений клеток окружающих тканей на пути исходного пучка оказывается сниженным примерно на порядок. Так, при дозе 3 Гр в опухоли получают повреждения до 80 % ее клеток, а в окружающих тканях их уровень не превысит 10 %. Результаты исследования подтверждают высокую эффективность протонных пучков при лучевой терапии.

The physical parameters of therapeutic proton beam delivered from the JINR Phasotron are described. The study of chromosomal damages in the cells on the model of human blood lymphocytes after irradiation with the initial 170 MeV proton beam at the entrance of an object and in the Bragg peak region has been performed, which corresponds to the irradiation of surrounding tissues along the beam path and tumour tissues. High efficiency of the Bragg peak protons has been shown. RBE value was ~ 1.25 within the dose interval of 1–4 Gy, while protons at the entrance did not differ from γ -radiation. Since the therapeutic proton beam dose to a tumour is formed by patient irradiation from several directions (up to 7), the level of cytogenetical damages of cells in surrounding tissues along the initial proton beam path is decreased by an order. So, about 80% of tumour cells will obtain the damages after irradiation by a dose of 3 Gy, but in surrounding healthy tissues it will not exceed 10%. The data confirm high efficiency of proton beams for radiotherapy.

ВВЕДЕНИЕ

Протоны высоких энергий, генерируемые ускорителями заряженных частиц, все более широко используются в терапии злокачественных опухолей, поскольку по своим физическим характеристикам обладают рядом преимуществ по сравнению с фотонными видами

излучений. Особенности энергосвободы тяжелых заряженных частиц при прохождении через вещество с реализацией «брегговского максимума» в конце пробега позволяют создать условия для оптимального формирования дозы в опухолевых тканях. Терапевтический пучок протонов был создан и в течение длительного периода используется для проведения лучевой терапии пациентов на фазотроне Лаборатории ядерных проблем Объединенного института ядерных исследований [1–3].

В настоящее время не вызывает сомнения ведущая роль структурных нарушений хромосом в развитии лучевых повреждений и постлучевой гибели клеток. В связи с этим представляется важным исследовать повреждения хромосомного аппарата клеток человека при облучении протонами терапевтического пучка, применяемого для лучевой терапии пациентов. В настоящей работе в качестве модели использовались лимфоциты периферической крови человека.

Целью исследования явилось изучение количественных и качественных закономерностей образования аберраций хромосом в лимфоцитах крови человека и оценка относительной биологической эффективности (ОБЭ) терапевтического протонного пучка по цитогенетическим показателям при облучении клеток на входе пучка и в области пика Брэгга.

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1. Протонный пучок. Терапевтический протонный пучок формируется в результате замедления в углеродных блоках генерируемых ускорителем протонов с энергией 660 МэВ до средней энергии 170 МэВ, наиболее оптимальной для облучения широкого класса мишеней. Для уменьшения разброса частиц по энергии, возникающего при их замедлении, проводится магнитный анализ пучка.

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

Протяженность пика Брэгга исходного протонного пучка при прохождении через вещество не превосходит 8 мм эквивалента воды (по 90 %-му уровню мощности дозы). Этого, как правило, бывает недостаточно для облучения реальных мишеней размером в несколько сантиметров. Поэтому на пути пучка устанавливается специальное устройство — гребенчатый фильтр [2], позволяющий модифицировать (расширить) пик Брэгга до требуемого значения.

1.2. Биологические материалы и методы. Лимфоциты выделяли из свежезятой крови здоровых доноров (мужчин и женщин) в возрасте 25–42 лет. Кровь получали на медицинском пункте переливания крови МСЧ №9. Для облучения использовали образцы цельной гепаринизированной крови (10–15 ед./мл гепарина, «Биохеми», Австрия) или плазму крови с лимфоцитами. Все процедуры с кровью проводились с соблюдением стерильных условий. Плазму крови получали после осаждения эритроцитов во флаконе с кровью при комнатной температуре в течение 40 мин путем добавления 10 %-го раствора желатина (1:10). Для облучения образцов крови и плазмы использовали эппендорфовские пробирки ($h = 4$ см, $d = 1$ см, $v = 2$ мл).

Облучение образцов крови проводили на пучке протонов, подготовленном для лучевой терапии пациентов. При облучении был использован гребенчатый фильтр, формирующий пучок протонов с плоской вершиной на глубинном дозном распределении протяженностью около 2 см эквивалента воды (рис. 1).

Для облучения образцов в области пика Брэгга непосредственно перед ними устанавливались блоки из оргстекла, что максимально соответствует реальным условиям облучения пациентов. Суммарная толщина оргстекла равнялась 145 мм эквивалента воды.

В результате образцы оказывались в центральной области модифицированного пика Брэгга (рис. 1). Энергетическое распределение замедленных протонов в области пика является спектром от 0 до 30 МэВ. При этом спектр ЛПЭ частиц простирается до ~ 100 кэВ/мкм [4].

Поглощенная доза измерялась плоскопараллельной ионизационной камерой, расположенной на входе пучка в процедурную кабину и прокалиброванной с помощью аттестованного клинического дозиметра КД-27012 (VEB Robotron-Messelectronik, Дрезден, Германия). Погрешность в определении абсолютного значения поглощенной дозы не превышала 5 %.

Облучение образцов крови проводили в двух точках глубинного дозного распределения — на входе (при нулевой толщине) и в пике Брэгга. Среднее значение ЛПЭ протонов с энергией 170 МэВ на входе было равно 0,49 кэВ/мкм, мощность дозы составляла 0,7 Гр/мин. В модифицированном пике Брэгга мощность дозы протонов была равна 1,3 Гр/мин. Кроме того, для сравнения эффектов облучения и оценки ОБЭ протонов терапевтического пучка было проведено облучение лимфоцитов γ -излучением ^{60}Co на аппарате для дистанционной лучевой терапии РОКУС-М. Мощность дозы была равна 0,9 Гр/мин.

Облученные образцы крови и плазмы переносили во флаконы с питательной средой для последующего культивирования. По 0,5 мл цельной крови вводили в пластиковые пробирки с 4,5 мл среды RPMI-1640, содержащей 20 % фетальной сыворотки теленка, 1 % глутамина (Sigma, США), антибиотики пенициллин (100 ед./мл) и стрептомицин (100 мкг/мл) и стимулятор клеточного деления фитогемагглютинин (ФГА — 15 мкг/мл, Gibco, США). Образцы плазмы крови переносили в чашки Карреля в питательную среду RPMI-1640, содержащую глутамин, ФГА и антибиотики. Продолжительность культивирования составила 48–50 ч. Последующую обработку и приготовление препаратов клеток проводили по общепринятой методике [5–7]. За два часа до фиксации в культуральную суспензию добавляли раствор колцемида по 0,8 мкг/мл. После осаждения лимфоцитов центрифугированием проводили гипотоническую обработку 0,075 М раствором KCl при 37 °С в течение 16–18 мин. Клетки фиксировали охлажденной смесью метанола и ледяной уксусной кислоты (3:1) три раза по 15 мин при –20 °С. Препараты лимфоцитов готовили накапыванием их суспензии на сухие замороженные стекла, высушивали на воздухе. Перед окрашиванием клетки подвергали гидролизу 5N HCl в течение 10 мин

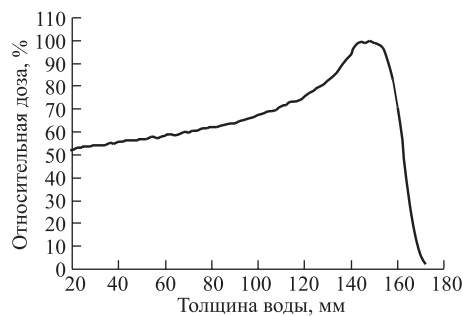


Рис. 1. Глубинное дозное распределение терапевтического протонного пучка со средней энергией 170 МэВ, модифицированного с помощью гребенчатого фильтра № 11, расширяющего пик Брэгга до 19,6 мм (по 90 %-й изодозе)

при комнатной температуре. После промывания водой проводили окрашивание клеток 2 %-м раствором красителя Гимза на фосфатном буфере (рН 6,8) в течение 15 мин при комнатной температуре.

Для анализа хромосомных нарушений в лимфоцитах общепринятым метафазным методом использовали стандартные световые микроскопы. Учитывали все виды хромосомных aberrаций, выявляемых без кариотипирования: фрагменты, интерстициальные делеции, центрические и ацентрические кольца, дицентрики, полицентрики и другие обмены хромосом. При этом к интерстициальным делециям относили все виды парных точковых образований, дицентрики и центрические кольца с сопутствующим фрагментом учитывали как одну aberrацию, трицентрики — как два дицентрика.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Как известно, при стандартном метафазном методе анализа лимфоцитов крови человека после облучения выявляются клетки с так называемыми нестабильными aberrациями хромосом, возникающими в любых хромосомах генома. На рис. 2 и 3 приведены кривые зависимости частоты образования клеток с хромосомными aberrациями и общего их числа от дозы облучения лимфоцитов в позициях на входе протонного пучка в биообъект и в пике Брэгга. Для сравнения приведены соответствующие кривые при γ -облучении. Как видно, при воздействии протонами и γ -лучами наблюдается линейный характер дозовой зависимости частоты образования клеток с хромосомными aberrациями (рис. 2). Он отмечается в диапазоне доз до $\sim 4,5$ Гр при воздействии протонами с энергией 170 МэВ и γ -лучами и до ~ 3 Гр при облучении в пике Брэгга, т. е. до уровня ~ 90 % поврежденных клеток. При последующем увеличении дозы облучения происходит отклонение от линейности и выход на уровень насыщения. Так, для лимфоцитов, облученных в пике Брэгга в дозе 5 Гр, число клеток с хромосомными aberrациями составило 99 %. Приведенные на рис. 3 данные свидетельствуют о высокой частоте повреждений хромосом генома человека при воздействии ионизирующими излучениями. Число возникающих хромосомных aberrаций нелинейно возрастает с увеличением дозы облучения.

Как видно на рис. 2 и 3, по этим цитогенетическим тестам не наблюдается существенных количественных различий при воздействии протонами с энергией 170 МэВ и γ -излучением. Протоны в пике Брэгга являются существенно более эффективными по своему повреждающему воздействию. Оценка ОБЭ протонов проведена по соотношению доз протонного и γ -излучения при равных уровнях эффектов в диапазоне терапевтически значимых доз (1–4 Гр). Величина ОБЭ протонов на входе в объект (со средней энергией 170 МэВ) равна $\sim 1,0$. Для протонов в области пика Брэгга она повышалась в среднем до $\sim 1,25$.

При анализе разных видов нарушений хромосом в лимфоцитах, подвергнутых облучению пучком протонов, выявлен высокий уровень aberrаций хромосом обменного типа (до 75 %). Среди них преобладают дицентрические хромосомы (дицентрики), которые составляют около 50 % от общего числа хромосомных aberrаций (с учетом единично встречающихся трицентриков при наиболее высоких дозах облучения). Кольцевые хромосомы в заметных количествах встречаются только при высоких уровнях доз облучения. По отношению к числу дицентриков они составляют 0,09–0,12, а с учетом ацентрических колец отношение повышается до 0,15–0,20. На рис. 4–6 показано изменение числа

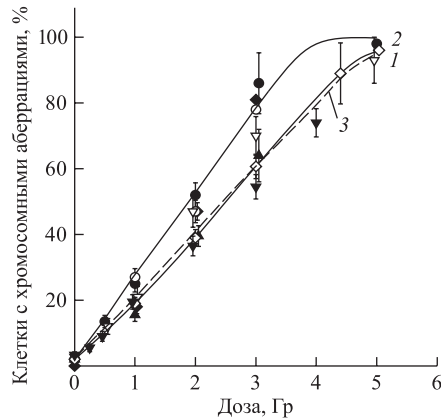


Рис. 2. Зависимость от дозы частоты образования клеток с хромосомными aberrациями после облучения лимфоцитов крови человека протонами терапевтического пучка с энергией 170 МэВ (1), в модифицированном пике Брэгга (2) и после γ -облучения ^{60}Co (3). ●, ○, ◆ — данные отдельных экспериментов при облучении в пике Брэгга; ◇ — после облучения протонами с энергией 170 МэВ; ▽, ▲, ▼ — после γ -облучения

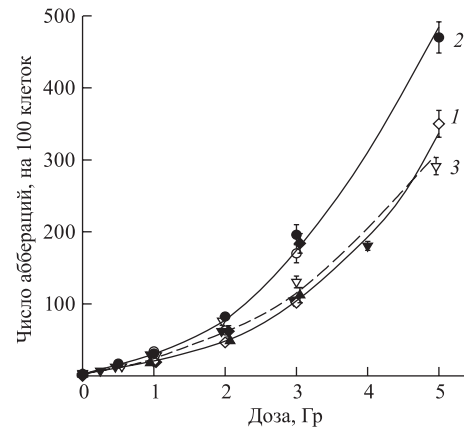


Рис. 3. Дозовая зависимость общего числа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека после облучения протонами терапевтического пучка с энергией 170 МэВ (1), в модифицированном пике Брэгга (2) и после γ -облучения ^{60}Co (3). Обозначения см. на рис. 2

отдельных видов хромосомных aberrаций, индуцированных исследованными видами излучений, в зависимости от дозы. На рис. 4 видно, что суммарная частота образования дицентрических и кольцевых хромосом нелинейно возрастает с увеличением дозы облучения. При этом наблюдается их более высокий уровень при облучении протонами, наибольший для протонов в пике Брэгга.

Приведенные на рис. 5 кривые свидетельствуют о характерной для aberrаций обменного типа степенной зависимости частоты образования интерстициальных делеций и ацентрических колец от дозы облучения протонами и γ -лучами [8]. Эти виды aberrаций являются идентичными по механизму образования. Как можно видеть, γ -излучение и протоны как на входе, так и в пике Брэгга инициируют аналогичное количество таких внутривнутрихромосомных aberrаций вплоть до дозы облучения 2 Гр. Но при более высоких дозах их число существенно возрастает при облучении протонами, особенно в пике Брэгга.

Проведенный анализ обменов хромосом внутривнутрихромосомного и межхромосомного типов не выявил существенных различий при воздействии как протонного, так и γ -излучений. Отношение общего числа интерстициальных делеций и колец к числу дицентрических и других единично выявленных межхромосомных обменов находилось в пределах 0,55.

При микроскопировании препаратов в облученных лимфоцитах выявлен высокий уровень фрагментов хромосом. Доля общего числа хроматидных и так называемых свободных парных ацентрических фрагментов (без учета связанных парных фрагментов, являющихся сопутствующими элементами при образовании дицентриков и центрических

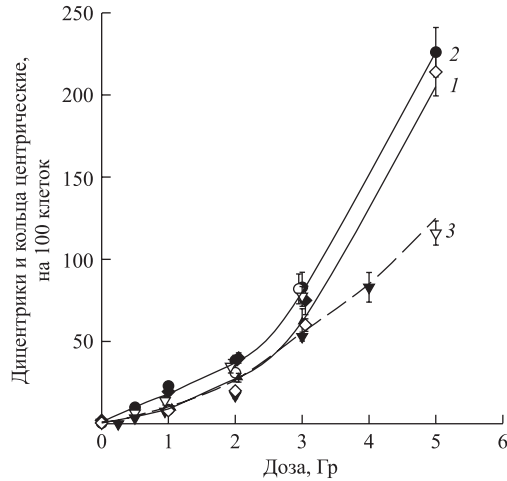


Рис. 4. Дозовая зависимость частоты образования дицентриков и колец центрических после облучения лимфоцитов крови человека протонами терапевтического пучка с энергией 170 МэВ (1), в модифицированном пике Брэгга (2) и после γ -облучения ^{60}Co (3). ●, ○, ◆ — данные отдельных экспериментов при облучении в пике Брэгга; ◇ — после облучения протонами с энергией 170 МэВ; ▽, ▲, ▼ — после γ -облучения

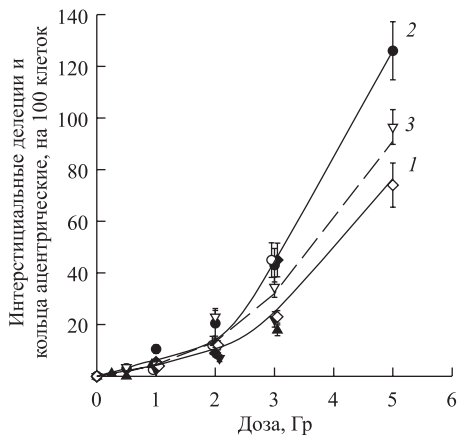


Рис. 5. Дозовая зависимость частоты образования интерстициальных делеций и колец ацентрических после облучения лимфоцитов крови человека протонами терапевтического пучка с энергией 170 МэВ (1), в модифицированном пике Брэгга (2) и после γ -облучения ^{60}Co (3). Обозначения см. на рис. 4

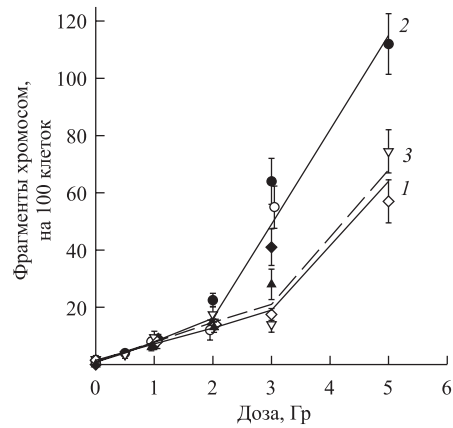


Рис. 6. Зависимость от дозы частоты образования хроматидных и парных ацентрических фрагментов после облучения лимфоцитов крови человека протонами терапевтического пучка с энергией 170 МэВ (1), в модифицированном пике Брэгга (2) и после γ -облучения ^{60}Co (3). Обозначения см. на рис. 4

колец) достигала 25 % от общего числа aberrаций хромосом. Как видно на рис. 6, при воздействии протонами и γ -излучением их количество линейно возрастало с увеличением дозы облучения. При этом наблюдается двухфазный характер дозовых кривых: при высоких уровнях доз эффекты резко возрастают, что сопровождается изменением наклона дозовых кривых. Такое увеличение проявляется при меньшей дозе и более выражено для лимфоцитов, облученных протонами в пике Брэгга. Кроме того, в интервале доз 0,5–2 Гр эффект линейно возрастал, не выявляя количественных различий при воздействии всеми видами излучений. Протоны с энергией 170 МэВ (на входе пучка) по уровням эффекта практически не отличались от γ -излучения во всем диапазоне исследуемых доз.

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Разработанный в конце 50-х — начале 60-х гг. и ставший классическим метафазный метод анализа хромосом в лимфоцитах крови человека [5–7] позволяет обнаружить в них многие виды aberrаций хромосом при воздействии различными физическими и химическими агентами, в том числе ионизирующими излучениями: различные хромосомные и хроматидные делеции и обмены между поврежденными хромосомами. Все они приводят к появлению в популяции неполноценных клеток, нарушениям их последующего деления и распределения генетического материала по клеткам, что завершается их гибелью в ходе нескольких первых циклов деления после повреждающего воздействия [9–11]. Лимфоциты крови человека широко используются в качестве модельной тест-системы для оценки реакции клеток человека на воздействие повреждающих агентов. Использование лимфоцитов крови человека позволяет избегать вынужденных экстраполяций и оговорок, неизбежно возникающих при интерпретации результатов в случаях использования других видов объектов. Более того, как было показано в ряде исследований, выход хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека, индуцированных воздействием ионизирующих излучений *in vitro*, совпадает с выходом aberrаций *in vivo* [12–15].

В наших исследованиях была проанализирована частота образования разных видов aberrаций хромосом в лимфоцитах крови человека после облучения протонами терапевтического пучка, используемого для лучевой терапии пациентов. Облучение проводится таким образом, чтобы пик Брэгга сформированного по размеру опухоли пучка протонов с наибольшими значениями их ЛПЭ локализовался непосредственно в опухоли, как можно меньше затрагивая окружающие ткани. Кроме того, для снижения нежелательного воздействия на клетки здоровых тканей проходящего по пути к ней пучка протонов с начальной энергией 170 МэВ опухоль облучают с нескольких направлений (до 7) для достижения требуемой терапевтической дозы (обычно от 2 до 5 Гр) в каждом сеансе фракционированного облучения.

Полученные нами данные при облучении лимфоцитов протонами в пике Брэгга отражают реакцию хромосомного аппарата клеток опухоли на воздействие дозы, соответствующей максимуму суммарного пространственного дозного распределения. Эффекты при облучении пучком протонов с энергией 170 МэВ показывают реакцию клеток нормальных тканей на воздействие сниженной в соответствующее число раз дозы за счет облучения с нескольких направлений и меньшего значения дозы на входе относительно пика Брэгга (см. рис. 1). И таким образом на порядок величины может уменьшаться повреждение клеток нормальных тканей на пути протонного пучка по сравнению с опухо-

левыми. Так при облучении опухоли протонами в пике Брэгга с нескольких направлений (до 7) в суммарной дозе 3 Гр выход клеток с хромосомными нарушениями составляет ~ 80 % (рис. 2, кривая 2). При этом в нормальных тканях по ходу протонного пучка с энергией 170 МэВ получают повреждение ~ 7–10 % клеток, а при суммарной дозе 4 Гр — ~ 10–15 % клеток (рис. 2, кривая 1). Различие может быть даже большим, если учесть, что облучение клеток человека и млекопитающих приводит к задержке вступления клеток в деление и нарушению их прохождения по клеточному циклу, особенно выраженным для клеток, тяжело поврежденных высокими дозами излучений, так что часть таких клеток вообще не достигает митоза [16–18] и поэтому при микроскопировании препаратов клеток не могла быть нами учтена.

Анализ отдельных видов хромосомных aberrаций свидетельствует об увеличении фрагментоза хромосом при облучении протонами терапевтического пучка. Он зависит от величины поглощенной энергии в клетках, которая определяется величиной дозы и ЛПЭ излучений. В исследованиях с использованием плотноионизирующего излучения (ионов) с высоким значением ЛПЭ [19, 20] отмечалось существенное возрастание фрагментоза хромосом по сравнению с воздействием редкоионизирующих излучений. Мы полагаем, что двухфазный характер кривых для выхода свободных фрагментов (рис. 6) указывает на увеличение фрагментоза хромосом протонами в пике Брэгга при облучении дозами более 2 Гр. Некоторое повышение частоты образования фрагментов хромосом, хотя и существенно менее выраженное, отмечается также и при воздействии протонов с энергией 170 МэВ и γ -лучей для высоких доз (> 3 Гр). Наблюдаемая в нашем исследовании высокая частота хромосомных aberrаций обменного типа, в первую очередь определяющих нарушение процессов деления клеток и их гибель, может свидетельствовать также об активно проходящих в клетках процессах репарации после воздействия как протонным, так и γ -излучением. Как общепризнано, хромосомные aberrации обменного типа возникают в клетках вследствие «ошибочной репарации» поврежденных хромосом («misrepair»).

Полученные нами данные свидетельствуют о более высокой эффективности протонов пика Брэгга. При оценке по таким обобщенным цитогенетическим показателям, как частота образования клеток с хромосомными aberrациями и общее число aberrаций, величина ОБЭ составляет ~ 1,25. Как показано проведенными нами ранее цитогенетическими исследованиями реакции лимфоцитов на воздействие ускоренными тяжелыми ионами с высокими значениями ЛПЭ, полученные в данной работе значения ОБЭ соответствуют воздействию ускоренных заряженных частиц с ЛПЭ ~ 11 кэВ/мкм (например, ионов ^{12}C с энергией 473 МэВ/нуклон [21]).

Изменение значения ОБЭ в зависимости от глубины прохождения протонного пучка в тканях было также показано рядом исследователей [19, 22–24]. Оно определяется снижением при этом энергии протонов с соответствующим ростом величин ЛПЭ. Проведенная нами оценка ОБЭ протонов терапевтического пучка хорошо согласуется с результатами, полученными в ряде исследований действия протонов разных энергий на клетки человека и млекопитающих [3, 23, 25, 26].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мицын Г. В. и др. Дубненский центр адронной терапии, статус и перспективы // Материалы 3-го Российского науч. форума «Лучевая диагностика и лучевая терапия в клинике XXI в.». М., 2002. С. 109.

2. *Молоканов А. Г.* Применение гребенчатых фильтров в немоноэнергетических протонных пучках. Сообщение ОИЯИ 9-89-391. Дубна, 1989.
3. *Витанова А. и др.* Исследование относительной биологической эффективности клинического протонного пучка фазотрона ЛЯП ОИЯИ. Сообщение ОИЯИ Р16-2002-71. Дубна, 2002. 7 с.
4. *Paganetti H.* // *Phys. Med. Biol.* 1998. V. 43. P. 2147.
5. *Moorhead P. S. et al.* // *Exp. Cell Res.* 1960. V. 20. P. 613.
6. *Гольдман И. Л., Левина Л. Я.* // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 1964. Т. 58, № 11. С. 103.
7. *Hangerford D. A.* // *Stain Technol.* 1965. V. 40. P. 333.
8. *Севанькаев А. В., Бочков Н. П.* // *Генетика.* 1968. Т. 4, вып. 5. С. 130.
9. *Buckton K. E. et al.* // *Mutagen-Induced Chromosome Damage in Man* / Eds. by H. Evans, D. Lloyd. Edinburgh University Press, 1978. P. 142.
10. *Norman A. et al.* // *Blood.* 1966. V. 27. P. 706.
11. *Lucas J. N. et al.* // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1996. V. 70. P. 309.
12. *Bajerska A., Liniecki J.* // *Mutat. Res.* 1975. V. 27. P. 271.
13. *Brewen J. G., Gengozian N.* // *Mutat. Res.* 1971. V. 13. P. 383.
14. *Buckton K. E. et al.* // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1971. V. 19. P. 369.
15. *Schmid E. et al.* // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1974. V. 26. P. 31.
16. *Говорун Р. Д. и др.* // *Радиобиология.* 1982. Т. 22, вып. 5. С. 648.
17. *Ritter S. et al.* // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1994. V. 66. P. 625.
18. *Ritter S. et al.* // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1996. V. 69. P. 155.
19. *Тоцева А. М. и др.* // *Космич. биология и авиакосмич. медицина.* 1980. Т. 14, № 1. С. 54.
20. *Fussel K., Ritter S., Kraft G.* // *Proc. of 6th Workshop on Heavy-Charged Particles in Biology and Medicine.* GSI. Report 97-09. 1997. V. C3. P. 1.
21. *Говорун Р. Д. и др.* // *ЭЧАЯ.* 2004. Т. 35, вып. 6. С. 1483.
22. *Courdi A., Brassart J., Chauvel P.* // *Br. J. Radiol.* 1994. V. 67. P. 80.
23. *Tang J. V. et al.* // *Br. J. Cancer.* 1997. V. 76. P. 220.
24. *Paganetti H.* // *Phys. Med. Biol.* 2002. V. 47. P. 747.
25. *Говорун Р. Д. и др.* // *Космич. биология и медицина.* 1973. Т. 7, № 2. С. 79.
26. *Герасименко В. Н., Говорун Р. Д., Рыжов Н. И.* // *Радиобиология.* 1980. Т. 20, вып. 2. С. 206.