

ДИНАМИКА КЛЮЧЕВЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОТОНОВ НА КОЖУ У МЫШЕЙ

¹Аникина В.А., ¹Сорокина С.С., ¹Замятина Е.А., ¹Шемяков А.Е., ^{2,3}Пухова Н.Е.,
⁴Громова Д.С., ¹Попова Н.Р.

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пуццино, e-mail: viktoriya.anikina@list.ru, sorokinasvetlana.iteb@gmail.com, sonyoru162@gmail.com, alshemyakov@yandex.ru, nellipopovaran@gmail.com;

²Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, e-mail: nelli.pukhaeva@gmail.com;

³Северо-Осетинский государственный университет, Владикавказ, e-mail: nelli.pukhaeva@gmail.com;

⁴Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, Самара, e-mail: grmvadarja@rambler.ru

Целью исследования является оценка физиологических показателей у мышей: динамики массы тела, общего анализа периферической крови, индекса массы лимфоидных органов (тимуса, селезенки) и выживаемости – при однократном локальном облучении кожи сканирующим пучком протонов в расширенном пике Брэгга с энергией 88 МэВ в дозах 30 и 40 Гр. В экспериментах использовали самцов белых аутбредных мышей линии SHK (45 особей, 8–9 недель, 30–35 г). Оценку радиационно-индуцированной кожной токсичности проводили в соответствии со шкалой Radiation Therapy Oncology Group. Анализ гематологических и физиологических показателей животных проводили на 7-е, 21-е и 70-е сутки. Исследование динамики данных параметров позволило оценить общее состояние животных при локальном воздействии протонов на кожу, которое может рассматриваться в качестве модели протонной лучевой терапии неглубокозалегающих опухолей *in vivo*. Показано отсутствие радиационно-индуцированных изменений в гематологических и физиологических показателях у облученных мышей. Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшего внедрения протонной лучевой терапии, в том числе по схеме гипофракционирования или флэш-терапии, в клиническую практику в России.

Ключевые слова: протонная лучевая терапия, гипофракционирование, лучевой ожог, гематологическое исследование крови, лимфоидные органы, выживаемость, мыши.

Работа выполнена в рамках госзадания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и Коллаборации ARIADNA (FFRS-2024-0019; FEFN-2024-0002; FEFN-2024-0006).

THE DYNAMICS OF KEY HEMATOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS DURING LOCAL PROTON EXPOSURE TO THE SKIN IN MICE

¹Anikina V.A., ¹Sorokina S.S., ¹Zamyatina E.A., ¹Shemyakov A.E., ^{2,3}Pukhaeva N.E.,
⁴Gromova D.S., ¹Popova N.R.

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, e-mail: viktoriya.anikina@list.ru, sorokinasvetlana.iteb@gmail.com, sonyoru162@gmail.com, alshemyakov@yandex.ru, nellipopovaran@gmail.com;

Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, e-mail: nelli.pukhaeva@gmail.com;

North Ossetian State University, Vladikavkaz, e-mail: nelli.pukhaeva@gmail.com;

Samara State Medical University, Samara, e-mail: grmvadarja@rambler.ru

The purpose of this work is to evaluate the physiological parameters of mice, including body weight dynamics, peripheral blood analysis, lymphoid organ mass index (thymus, spleen), and survival rate using a single local irradiation of skin with a scanning proton beam in the extended Bragg peak with an energy of 88 MeV at doses of 30 and 40 Gy. Male white outbred mice of the SHK line (45 individuals, 8-9 weeks, 30-35 g) were used in the experiments. Radiation-induced skin toxicity was assessed in accordance with the Radiation Therapy Oncology Group scale. The analysis of hematological and physiological parameters of animals was carried out on the 7th, 21st and 70th days. The study of the dynamics of these parameters made it possible to assess the general condition of animals during local exposure to protons on the skin, which can be considered as a model of proton beam therapy for shallow tumors *in vivo*. The absence of radiation-induced changes in hematological and physiological indicators in irradiated mice was demonstrated. The results obtained can be used for further implementation of proton beam therapy, including the hypofractionation scheme, in clinical practice in Russia.

Keywords: proton beam therapy, hypofractionation, radiation burn, hematological blood testing, lymphoid organs, survival, mice.

The work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation and the ARIADNA Collaboration (FFRS-2024-0019; FEFN-2024-0002; FEFN-2024-0006).

Введение

На сегодняшний день к основным методам лечения злокачественных новообразований относятся в первую очередь лучевая терапия, хирургия и химиотерапия, реже – иммунотерапия, гормональная и генная терапия [1, с. 14]. Среди лучевой терапии особое место последние 10 лет занимает протонная терапия, которая позволяет более точно доставлять заданную дозу в целевую область, что существенно снижает лучевую нагрузку на окружающие здоровые ткани и уменьшает вероятность возникновения ранних и поздних лучевых осложнений, включая вторичные радиационно-индуцированные новообразования [2, 3]. Одним из перспективных направлений развития протонной терапии являются разработка и применение новых схем гипофракционированного облучения опухолей, при которых суммарная очаговая доза 60–80 Гр будет доставляться в опухоль за небольшое количество фракций, что существенно снизит время и стоимость лечения [4].

Поскольку, несмотря на развивающиеся технологии, при использовании протонной терапии отмечается ряд сопутствующих осложнений, в том числе возникновение радиационно-индуцированной кожной токсичности [5, 6] при лечении поверхностных или неглубокозалегающих опухолей, необходимо учитывать жизненно важные показатели, которые могут влиять на результаты эксперимента, в динамике после проведенного курса лучевой терапии [7].

Целью исследования является оценка физиологических показателей у мышей: динамики массы тела, общего анализа периферической крови, индекса массы лимфоидных органов (тимуса, селезенки) и выживаемости – при однократном локальном воздействии тонкого сканирующего пучка протонов в расширенном пике Брэгга с энергией 88 МэВ в дозах 30 и 40 Гр на кожу.

Материал и методы исследования

В экспериментах использовали самцов белых аутбредных мышей линии SHK (45 особей, 8–9 недель, 30–35 г). Экспериментальные группы животных были разделены на подгруппы в зависимости от дозы облучения: группа 0 Гр, группа 30 Гр и группа 40 Гр. Животных содержали в поликарбонатных клетках с подстилом из опилок по 5 особей в виварии ИТЭБ РАН (г. Пущино) при температуре $22\pm 2^\circ\text{C}$. Режим освещенности – 12 ч / 12 ч. Животные имели свободный доступ к воде и полнорационному экструдированному корму для лабораторных животных (ООО «Провими», Россия). В экспериментах следовали этическим

нормам при работе с лабораторными животными по протоколу, утвержденному Комиссией по биоэтике и биологической безопасности ИТЭБ РАН (№ 31/2024 от 18 марта 2024 г.). Все исследования с участием животных в ИТЭБ РАН осуществляются согласно Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

В качестве наркоза во время проведения облучения была использована комбинация препаратов «Золетил 100» (Virbac, Франция) и «Ксила» (Interchemie, Нидерланды) в соотношении 1:3 (40 мг/кг). Облучение недепилированных животных проводили в комплексе протонной терапии «Прометеус» ФТЦ ФИАН (г. Протвино) в дозах 30 и 40 Гр сканирующим пучком протонов в расширенном пике Брэгга с энергией 88 МэВ на платформе из термопластика, расположенной под углом 45°, с дорсальной стороны тела животного. Экспериментально проверку фактического положения пика и оценку поглощенной дозы осуществляли при помощи радиохромной пленки EBТЗ 8*10 (АО «Академлайн», Россия) и комплекса дозиметрического оборудования PTW (PTW-Freiburg, Германия): электрометр Unidose weblinе с ионизационными камерами PinPoint 3D Chamber ТМ31022 и BraggPeak Chamber ТМ34073. Для оцифровки радиохромной пленки EBТЗ использовали планшетный фотопленочный сканер Epson® 10000XL (Seiko Epson Corporation, Япония). Ежедневно в течение 70 суток с момента облучения дополнительно проводили осмотр каждого животного с целью фиксации клинических проявлений радиационно-индуцированной кожной токсичности в соответствии со шкалой Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) [8]. Фотофиксацию животных проводили с дорсальной стороны 1 раз в неделю с использованием зеркальной камеры Nikon D3400 (Япония). Была проведена оценка динамики массы тела, индекса массы лимфатических органов (тимуса, селезенки), результатов гематологического исследования периферической крови и времени дожития (30-суточной выживаемости) мышей после однократного локального воздействия сканирующего пучка протонов в дозе 30 и 40 Гр. Взвешивание животных проводили перед облучением, а затем на 7-е, 21-е сутки и непосредственно в день перед эвтаназией (70-е сутки). Для оценки массы внутренних органов (тимуса, селезенки) на 7-е, 21-е и 70-е сутки часть животных была выведена из эксперимента. Образцы крови отбирали посредством косо́го надреза кончика хвоста над просвечивающей веной перед облучением, а затем на 7-е и 21-е сутки после облучения и непосредственно в день перед эвтаназией (70-е сутки). Образцы крови были взяты для анализа на гематологическом анализаторе ДН36 Вет (Dymind, China) для измерения следующих параметров: количества лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов и тромбоцитов. Оценивали время дожития животных в течение 30 суток после облучения.

Нормальное распределение вариационных рядов, подтвержденное критерием Шапиро–Уилка, позволило результаты исследования представить в виде среднего значения \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$). Однако с учетом малого количества животных статистическую значимость отличий значений в экспериментальных группах определяли с использованием U-критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Полученные данные обрабатывали с использованием программ GraphPad Prism 8.0.1, Microsoft Excel 2016 и ImageJ.

Результаты исследования и их обсуждение

На рисунке 1 показано формирование лучевых ожогов у животных в экспериментальных группах, подвергнутых воздействию 30 и 40 Гр протонов на кожу (100% животных с ожидаемыми проявлениями лучевого ожога 2–4-й степеней, согласно классификации RTOG).

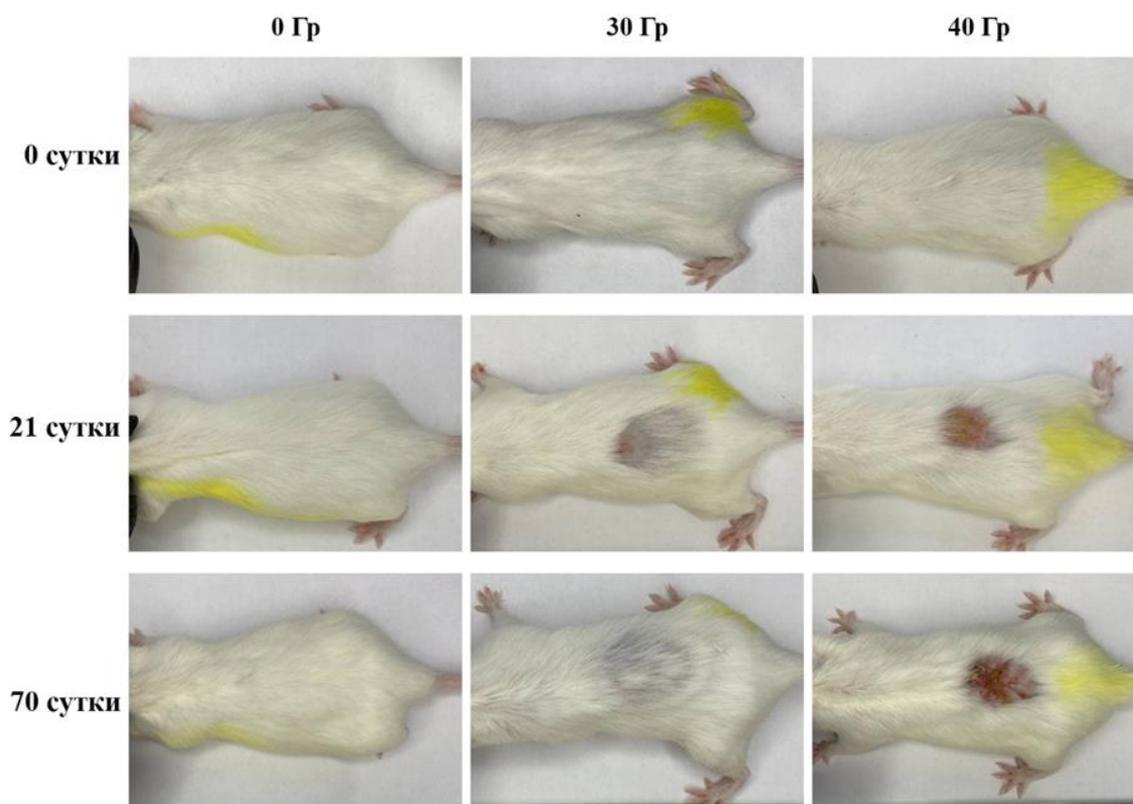


Рис.1. Динамика самопроизвольного заживления ран при однократном локальном облучении протонами в дозе 30 и 40 Гр

Была проведена оценка динамики гематологических (количества лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов и тромбоцитов) и физиологических (изменения массы тела и индекса внутренних органов (тимуса, селезенки) показателей, а также времени дожития мышей при локальном воздействии протонов в дозе 30 и 40 Гр.

Одним из основных физиологических показателей благополучия животных является масса тела. Уменьшение массы тела животных может происходить из-за стресса, вызванного транспортировкой, инъекцией и самим наркозом, а также манипуляций и последствий облучения, в том числе временного обездвиживания во время сеанса и наличия радиационно-индуцированных повреждений, что в конечном итоге может приводить к снижению количества потребляемого корма. На рисунке 2 представлено изменение массы тела экспериментальных животных на 7-е, 21-е и 70-е сутки после однократного локального воздействия протонного излучения в дозах 30 и 40 Гр по сравнению с исходной массой тела до воздействия (0 сутки).

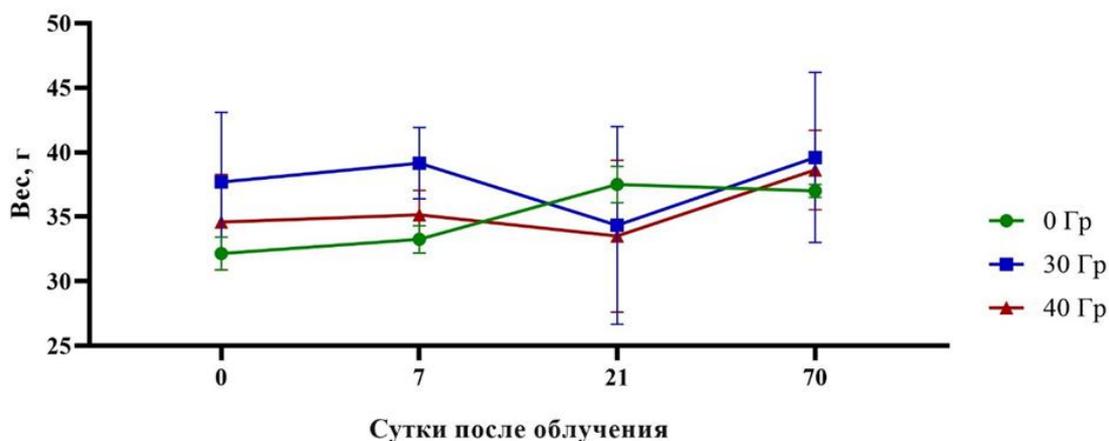


Рис. 2. Изменение массы тела самцов мышей SHK (\bar{x} , $M \pm SD$) при однократном локальном облучении протонами в дозе 30 и 40 Гр ($n=45$)

Показано, что масса тела животных увеличивалась с течением времени, за исключением незначительного спада в группах облученных мышей на 21-е сутки после воздействия, что могло быть связано с разгаром деструктивной фазы лучевого ожога [9]. К концу эксперимента (70-е сутки) масса тела животных увеличивалась на $10 \pm 4\%$ во всех экспериментальных группах, что может быть показателем благополучия животных.

Ионизирующее излучение повреждает гемопоэтические стволовые клетки костного мозга, изменяет способность стромальных элементов костного мозга поддерживать гемопоэз, а также приводит к гибели форменных элементов непосредственно в кровяном русле [10, 11]. Развитие лейкопении и тромбопении может быть качественным индикатором воздействия радиации на организм [12]. В данной работе было проведено исследование выборочных гематологических параметров крови (количества лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов и тромбоцитов) облученных животных на 7-е, 21-е и 70-е сутки по сравнению с интактным контролем (0 Гр) после воздействия однократного локального протонного излучения в дозах 30 и 40 Гр (таблица).

Влияние локального протонного излучения в дозе 30 и 40 Гр на морфологический состав периферической крови самцов белых мышей SHK ($10^9/\text{л}$, $M \pm SD$), $n=45$

Сутки после воздействия протонного излучения	Экспериментальная группа		
	0 Гр	30 Гр	40 Гр
Количество лейкоцитов (WBC), $10^9/\text{л}$			
0-е сутки	13,58±3,48		
7-е сутки	11,65±0,73	9,39±2,03	12,18±0,98
21-е сутки	9,16±0,54	13,90±1,06	12,19±4,66
70-е сутки	8,55±0,61	14,44±3,55	12,91±5,46
Количество лимфоцитов (Lym), $10^9/\text{л}$			
0-е сутки	7,53±2,17		
7-е сутки	8,32±3,57	6,43±1,84	6,41±0,38
21-е сутки	5,53±2,74	6,44±2,26	7,46±2,87
70-е сутки	5,60±3,80	8,81±2,63	6,77±2,43
Количество гранулоцитов (Gran), $10^9/\text{л}$			
0-е сутки	4,07±1,85		
7-е сутки	2,03±0,92	2,00±0,26	4,07±0,90
21-е сутки	2,23±0,33	4,79±0,63	2,93±1,15
70-е сутки	1,98±0,22	3,48±0,70	4,74±2,84
Количество тромбоцитов (PLT), $10^9/\text{л}$			
0-е сутки	434±73		
7-е сутки	518±42	552±107	373±67
21-е сутки	665±73	339±58	642±103
70-е сутки	640±138	491±96	406±157

Как видно из данных, приведенных в таблице 1, на 7-е, 21-е и 70-е сутки после воздействия однократного локального протонного излучения в дозах 30 и 40 Гр не наблюдаются статистически значимые изменения количества форменных элементов крови во всех экспериментальных группах. Авторы отмечают, что, согласно проведенной дозиметрии, вся энергия при облучении протонами поглощалась непосредственно эпидермисом и дермой, не затрагивая красный костный мозг, поэтому влияние на состав форменных элементов крови можно было бы ожидать только при наличии «коммунального» (организменного «эффекта свидетеля»), опосредованно влияющего через воспалительные процессы в пораженном участке облученной кожи.

В исследованиях относительной биологической эффективности протонного излучения чаще всего применяют тотальное облучение в дозах примерно 0,5–2 Гр, что связано с разовой фракционной дозой при терапевтическом лечении опухолей, а также с суммарной дозой космического облучения во время долгосрочной миссии. Так, в одной из статей было продемонстрировано дозозависимое снижение количества лейкоцитов и лимфоцитов до 61% и 72% соответственно через 24 ч у мышей, облученных протонами с энергией 1 ГэВ или 51,24 МэВ в дозах до 2 Гр [13]. В работе A.L. Romero-Weaver и соавторов было показано, что

однократное тотальное фотонное и так называемое SPE-like proton radiation (протонное излучение, возникающее во время вспышек на Солнце) в дозах 0,5–2 Гр (230 МэВ) вызывают значительное снижение количества всех типов клеток крови в разное время после облучения мышей [14]. Тотальное облучение самцов мышей C57BL/6J протонами (150 МэВ) в дозе 0,5 Гр как на 4-й, так и на 30-й день приводило к снижению количества лейкоцитов и лимфоцитов. Авторы не обнаружили в исследовании существенных различий в количестве тромбоцитов и эритроцитов между группами для обеих временных точек [15]. Исследование на самках мышей C57Bl/6, которых облучали тотально протонами (208 МэВ) в дозе 8,5 Гр, продемонстрировало серьезное снижение количества лейкоцитов к 2-му дню после облучения, а через 7–10 суток последовало снижение количества тромбоцитов, затем снижение количества эритроцитов примерно через 2 недели после облучения. Восстановление всех компонентов крови начиналось через 3 недели после облучения [16]. Авторами не было обнаружено локального действия высоких доз протонов на гематологический состав крови в столь отдаленные сроки после воздействия.

В настоящее время данные по изучению лимфоидных органов при различных патологических процессах, в частности при терапевтическом облучении, немногочисленны. Лимфоидные органы, а именно селезенка и тимус, обладают высокой радиочувствительностью и одними из первых реагируют на воздействия ионизирующего излучения. Структурные, морфологические, клеточные и функциональные изменения в селезенке и тимусе могут быть связаны с резкой интенсификацией клеточной деструкции, влекущей за собой потерю лимфоцитов, и с полным угнетением клеточной митотической активности и дифференцировки [17]. При действии высоких доз ионизирующего излучения при тотальном облучении в ближайшем периоде отмечается иммуносупрессия в различных звеньях иммунной системы [18]. Вместе с тем, представляет большой интерес изучение изменений периферических лимфоидных органов иммунной системы в отдаленном периоде после локального облучения. В частности, динамика массы и морфологии тимуса и селезенки могут быть использованы в качестве параметров оценки воздействия радиации, в том числе и протонного излучения, на общее состояние организма, кроветворную и иммунную системы. Известно, что на ранних стадиях стресс-реакции наблюдается снижение массы тимуса и селезенки, происходит заселение лимфоцитов в костный мозг и соединительную ткань, усиливается костномозговое кроветворение, увеличивается количество стволовых клеток в костном мозге, что позволяет в итоге повысить сопротивляемость организма. При повторяющемся стрессе, а также при облучении развивается острая или хроническая воспалительная реакция, которая на тимусе морфологически будет проявляться в виде

акцидентальной инволюции. Данная реакция характеризуется прогрессирующим снижением его массы и изменением функциональной активности.

Результаты исследования изменения относительной массы тимуса и селезенки в % от веса экспериментальных животных на 7-е, 21-е и 70-е сутки после воздействия однократного локального протонного излучения в дозах 30 и 40 Гр относительно интактных животных графически представлены на рисунках 3 и 4.

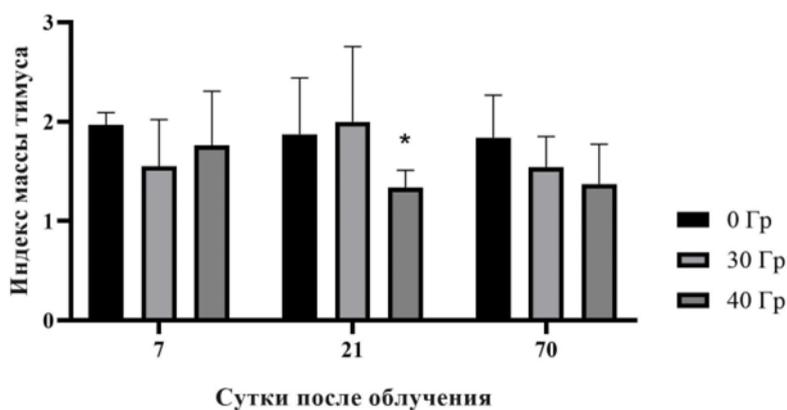


Рис. 3. Индекс массы тимуса самцов мышей SHK после однократного действия локального протонного излучения в дозах 30 и 40 Гр (n=45)

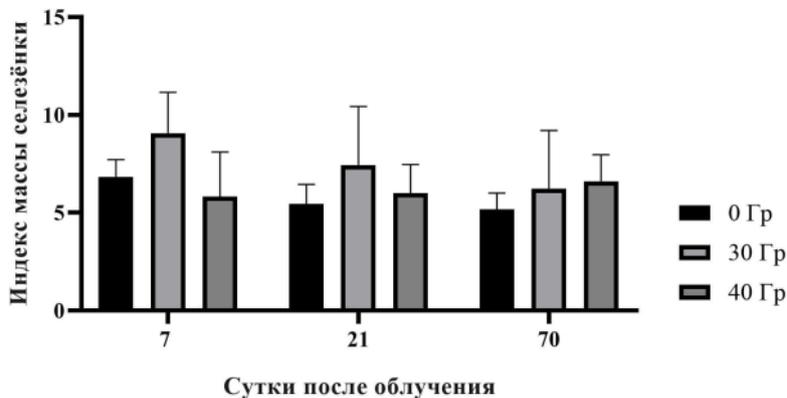


Рис. 4. Индекс массы селезенки самцов мышей SHK после однократного действия локального протонного излучения в дозах 30 и 40 Гр (n=45)

Показано, что на 7-е и 70-е сутки после воздействия статистически значимые различия между экспериментальными группами отсутствуют, при этом к 21-м суткам наблюдается снижение массы тимуса в группе мышей, облученных дозой 40 Гр, по сравнению с интактными животными (0 Гр) (рис. 3). На рисунке 4 показано, что на протяжении всего эксперимента индекс массы селезенки облученных мышей статистически значимо не отличается ни от аналогичного показателя контрольных животных, ни между экспериментальными группами.

В данном исследовании установлено, что локальное облучение протонами в дозах 30 и 40 Гр оказывает токсическое воздействие на кожу мышей, приводя к ожогам 2–3-й степени, при этом не вызывает системного ответа ни кровеносной системы, ни лимфоидных органов. Авторы отмечают, что в группе мышей, облученных в дозе 40 Гр, на 21-е сутки после воздействия наблюдалось значимое уменьшение относительной массы тимуса. Сравнение и интерпретация полученных результатов крайне затруднительны, поскольку работы по исследованию влияния протонов на лимфоидные органы очень малочисленны, а исследования по локальному действию частиц в отдаленные сроки наблюдения отсутствуют.

Тест на выживаемость животных в течение 30 суток ($LD_{50/30}$) – это наиболее широко применяемый и хорошо охарактеризованный критерий для оценки острого и хронического радиационного повреждения [19]. В работе проведена оценка времени дожития животных после однократного локального воздействия протонного излучения в дозах 30 и 40 Гр. Установлено, что к 30-м суткам выживаемость животных во всех группах составила 100%, кроме того, все животные дожили до окончания эксперимента (70 суток). Полученные данные по выживаемости подтверждают, что доза была поглощена непосредственно кожей животных и не были затронуты жизненно важные органы и системы. В вышеупомянутой работе [16] при тотальном облучении самок мышей C57Bl/6 протонами (208 МэВ) в дозе 8,5 Гр было показано, что в группе из 45 облученных животных наблюдалось 15 летальных исходов в течение 30 дней после облучения.

Заключение

Оценка ключевых гематологических и физиологических показателей у мышей после однократного локального облучения животного с дорсальной стороны тела пучком протонов в дозах 30 и 40 Гр в течение 70 суток после воздействия указывает на отсутствие влияния локального протонного излучения в исследуемых дозах на благополучие и общее состояние животных. Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшего внедрения протонной лучевой терапии, в том числе по схеме гипофракционирования или флэш-терапии, в клиническую практику в России.

Список литературы

1. Стандарты лучевой терапии / под ред. А. Д. Каприна, А. А. Костина, Е. В. Хмелевского. М: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 384 с.
2. Spiotto M.T., McGovern S.L., Gunn G.B., Grosshans D., McAleer M.F., Frank S.J., Paulino A.C. Proton radiotherapy to reduce late complications in childhood head and neck cancers // International Journal of Particle Therapy. 2021. Vol. 8. Is. 1. P. 155-167. DOI: 10.14338/IJPT-20-00069.1.

3. Eaton B. R., MacDonald S. M., Yock T. I., Tarbell N. J. Secondary malignancy risk following proton radiation therapy // *Frontiers in oncology*. 2015. Vol. 5. P. 261.
DOI: 10.3389/fonc.2015.00261.
4. Santos A, Penfold S, Gorayski P, Le H. The Role of Hypofractionation in Proton Therapy // *Cancers*. 2022. Vol.14. Is.9. P. 2271. DOI: 10.3390/cancers14092271.
5. Bray F.N., Simmons B.J., Wolfson A.H., Nouri K. Acute and chronic cutaneous reactions to ionizing radiation therapy // *Dermatology and therapy*. 2016. Vol. 6. P. 185-206.
DOI: 10.1007/s13555-016-0120-y.
6. Kumar S., Juresic E., Barton M., Shafiq J. Management of skin toxicity during radiation therapy: a review of the evidence // *Journal of medical imaging and radiation oncology*. 2010. Vol. 54. Is. 3. P. 264-279. DOI: 10.1111/j.1754-9485.2010.02170.x.
7. Lee G.H., Kim K.S., Jo W. Stress evaluation of mouse husbandry environments for improving laboratory animal welfare // *Animals*. 2023. Vol. 13. Is. 2. P. 249. DOI: 10.3390/ani13020249.
8. Venkatakrishnan P., Kumar G.J., Sampadarao B. Study of the various cutaneous adverse reactions to radiotherapy // *International Journal of Research in Dermatology*. 2021. Vol. 7. Is. 2. P. 250. DOI: 9.18203/issn.2455-4529.IntJResDermatol20210577.
10. Гребенюк А.Н., Легеза В.И., Заргарова Н.И., Владимирова О.О. Способ моделирования сочетанных радиационных поражений, включающих общее гамма- и местное бета-облучение // Патент РФ №2534802. Патентообладатель Гребенюк А.Н., Легеза В.И., Заргарова Н.И., Владимирова О.О. 2014. Бюл. №34.
11. Shao L., Luo Y., Zhou D. Hematopoietic stem cell injury induced by ionizing radiation // *Antioxidants & redox signaling*. 2014. Vol. 20. Is. 9. P. 1447-1462. DOI: 10.1089/ars.2013.5635.
12. El-Shanshoury H., El-Shanshoury G., Abaza A. Evaluation of Low Dose Ionizing Radiation Effect on Some Blood Components in Animal Model // *J. Radiat. Res. Appl. Sci*. 2016. Vol. 9. P. 282–293. DOI: 10.1016/j.jrras.2016.01.001.
13. Ware J. H., Sanzari J., Avery S., Sayers C., Krigsfeld G., Nuth M., Wan X. S., Rusek A., Kennedy A.R. Effects of proton radiation dose, dose rate and dose fractionation on hematopoietic cells in mice // *Radiation research*. 2010. Vol. 174. Is. 3. P. 325-330. DOI: 10.1667/RR1979.1.
14. Romero-Weaver A.L., Wan X.S., Diffenderfer E.S., Lin L., Kennedy A.R. Effect of SPE-like proton or photon radiation on the kinetics of mouse peripheral blood cells and radiation biological effectiveness determinations // *Astrobiology*. 2013. Vol. 13. Is. 6. P. 570-577.
DOI: 10.1089/ast.2012.0916.
15. Mao X.W., Boerma M., Rodriguez D., Campbell-Beachler M., Jones T., Stanbouly S., Sridharan V. Combined effects of low-dose proton radiation and simulated microgravity on the mouse retina

and the hematopoietic system // Radiation research. 2019. Vol. 192. Is. 3. P. 241-250. DOI: 10.1667/RR15219.1.

16. Mendonca M., Todd P., Orschell C., Chin-Sinex H., Farr J., Klein S., Sokol P. High-Energy Proton Irradiation of C57Bl6 Mice under Hindlimb Unloading. In Proceedings of the 39th COSPAR Scientific Assembly, Mysore, India, 14–22 July 2012; Abstract PPP.1-7-12, 12252012. p. 1225.

17. Grigorenko D., Erofeeva L. M., Sapin M. R. Cytologic profile of mouse thymus and spleen after gamma-irradiation // Morfologiya (Saint Petersburg, Russia). 1997. Vol. 112. Is. 6. P. 53-57.

18. Жетписбаев Б.А., Алимбаева А. А., Адрисова К. С., Жетписбаева Х.С., Хисметова З. А., Ильдербаева Г. О. Отдаленные эффекты разной дозы гамма-излучения на лимфоидные органы иммуногенеза // Наука и здравоохранение. 2014. Т. 4. №.49. С.49-53.

19. Williams J.P., Brown S.L., Georges G.E., Hauer-Jensen M., Hill R.P., Huser A.K., Krich D.G., Macvittie T. H., Mason K. A., Medhora M. M., Moulder J. E., Okunieff P., Otterson M. F., Robbins M. E., Smathers J. B., McBride W. H. Animal models for medical countermeasures to radiation exposure // Radiation research. 2010. Vol. 173. Is. 4. P. 557-578. DOI: 10.1667/RR1880.1.