

УДК 577.3:599.323.4

ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ВЫСОКИХ ДОЗ ИОНОВ УГЛЕРОДА И РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА EX VIVO

© 2024 г. Член-корреспондент РАН В. Е. Балакин¹, Т. А. Белякова^{1,*},
О. М. Розанова², Е. Н. Смирнова², Н. С. Стрельникова¹, Е. А. Кузнецова²

Поступило 26.12.2023 г.

После доработки 19.01.2024 г.

Принято к публикации 22.01.2024 г.

Исследовали действие ионов углерода (¹²C) с энергией 400 МэВ/нуклон на динамику индукции и скорость роста солидных опухолей у мышей при облучении асцитных клеток карциномы Эрлиха (АКЭ) ex vivo в дозах 5–30 Гр относительно действия равноэффективных доз рентгеновского излучения (РИ). Динамика индукции опухолей при действии ¹²C и РИ имела сходный характер и зависела от дозы в течение 3 мес наблюдения. Величина латентного периода при облучении как клеток ¹²C, так и РИ, увеличивалась с ростом дозы, а интервал индукции опухолей уменьшался. Скорость роста опухолей после облучения клеток АКЭ ex vivo не зависела ни от дозы, ни от вида излучения. Доза, при которой в течение 90 сут не индуцируются опухоли АКЭ, для ионов углерода была 30 Гр, для РИ – 60 Гр. Величина относительной биологической эффективности ионов углерода, рассчитанная по равноэффективной дозе 50%-ной вероятности появления опухолей, равнялась 2.59.

Ключевые слова: асцитная карцинома Эрлиха, ex vivo, ионы углерода, рентген, ОБЭ, мыши.

DOI: 10.31857/S2686738924020189, **EDN:** WEFMBS

Ионная радиотерапия представляет собой перспективный метод лечения опухолей, резистентных к конвенциональной фотонной терапии, и опухолей, расположенных вблизи критических органов [1, 2]. В настоящее время в мире в центрах ионной терапии пролечено более 45 000 пациентов (<https://www.rtcog.ch/>). Применение пучков тяжелых ионов в онкологии дает огромное преимущество перед фотонной терапией из-за особенностей прохождения ионов через ткани организма: относительно низкая энергия частиц на входе в биологическую ткань и наличие пика Брэгга, при котором происходит максимальное энергосодержание в конце пробега частицы на заранее заданной глубине, непосредственно в опухоли, а затем резкое падение энергии до нуля, что позволяет более эффективно подавлять рост опухолей и не повреждать окружающие здоро-

вые ткани, в отличие от рентгеновского излучения [3]. Лучевая терапия ионами углерода по сравнению с другим видом адронной терапии – протонной – является более эффективной, поскольку характеризуется высоким значением относительной биологической эффективности (ОБЭ) частиц от 2 до 3 в зависимости от типа клеток, доз и метода регистрации повреждений [4–6]. Поскольку высокое значение ОБЭ ионов углерода обусловлено меньшей зависимостью гибели клеток от фаз клеточного цикла, содержания кислорода в опухоли, преимущественной индукцией кластерных труднорепарированных повреждений ДНК, подавлением некоторых этапов пострадиационной репарации, это позволяет рассматривать ионы углерода как эффективный инструмент уничтожения разных по радиочувствительности клеток солидных опухолей, которые характеризуются экстремально гипоксическими условиями по сравнению с окружающими тканями. Специфика биологического действия ионов углерода также позволяет предположить, что этот вид излучения будет эффективным и в отношении опухолевых стволовых клеток (ОСК), которые обладают потенциалом самообновления, устойчивы к химио- или лучевой терапии, провоцируют рецидивы опухоли и метастазирование за счет стимулирования к делению и дифференцировке после

¹Филиал “Физико-технический центр” Федерального государственного бюджетного учреждения науки Физического института им. П. Н. Лебедева Российской академии наук, Протвино, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пущино, Россия

*E-mail: belyakovata@lebedev.ru

гибели основной массы опухолевых клеток [7–9]. Проблема радиоустойчивости ОСК в настоящее время остроактуальна и далека до решения. Одним из перспективных подходов к решению проблем резистентности, метастазирования и рецидивирования опухолей, обусловленных, в том числе, ОСК, является, на наш взгляд, применение ионной терапии, которая позволяет использовать более высокие, по сравнению с конвенциональной, дозы облучения. В данной работе используется модель индукции солидных опухолей, возникающих после имплантации мышам облученных опухолевых клеток, в пуле которых сохраняются зависимые от дозы уровни ОСК и клетки в сенесцентном состоянии.

Целью работы являлось изучение закономерностей индукции и роста опухолей на модели солидной формы асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) у мышей после облучения асцитных клеток *ex vivo* высокими дозами ускоренных ионов углерода и рентгеновского излучения.

Эксперименты проводили на 2-месячных самцах мышей колонии SHK (31–35 г), которые содержались в стандартных условиях вивария Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (Пушино, Россия). В качестве модели опухолевого роста была использована солидная форма АКЭ [10]. Опухолевые клетки были получены из криобанка культур клеток Института биофизики клетки Российской академии наук (ИБК РАН). Условия поддержания асцитной культуры *in vivo* и подготовки клеток для облучения описаны ранее [11].

Суспензию клеток АКЭ в концентрации $20 \cdot 10^6$ клеток/мл облучали в эппендорфе объемом 1.5 мл при комнатной температуре: 1) ионами

углерода (^{12}C) в модифицированном пике Брэгга ($E = 400$ МэВ, 0.5 Гр/мин, ЛПЭ ~ 39 кэВ/мкм) в дозах 5; 10; 20 и 30 Гр на моноэнергетическом пучке с энергией 400 МэВ/нуклон ускорительного комплекса У-70 на базе ФГБУ “Институт физики высоких энергий имени А. А. Логунова НИЦ “Курчатовский институт” (Протвино); 2) рентгеновским излучением (РИ) в дозах 20; 30; 40 и 60 Гр на установке РУТ (200 кВ, 1 Гр/мин, ЛПЭ ~ 2 кэВ/мкм) в ЦКП “Источники излучения” (ИБК, Пушкино). Дозы были выбраны как равноэффективные исходя из литературных и наших данных по определению ОБЭ при действии ионов углерода *in vivo* и *in vitro* [12, 13].

После облучения мышам имплантировали клетки АКЭ в количестве $2 \cdot 10^6$ в объеме 0.1 мл внутримышечно в бедро левой лапы. Мышам контрольной группы инокулировали такое же количество необлученных клеток АКЭ. В каждой группе было 10 мышей, и для каждой экспериментальной точки было проведено не менее 2 повторов.

После инокуляции клеток АКЭ ежедневно наблюдали за частотой индукции и скоростью роста солидных опухолей у мышей в течение 90 сут. Латентный период оценивали как временной интервал между датой инокуляции клеток карциномы Эрлиха и датой появления пальпируемой опухоли, объем которой был равен 0.4 см^3 (V_0). Дважды в неделю с помощью электронного штангенциркуля с точностью ± 0.01 мм измеряли три ортогональных диаметра опухоли, и объем опухоли (V) рассчитывали по стандартной формуле. Динамику роста опухоли оценивали по среднему относительному объему в зависимости от дней после появления, нормализованному к первоначальному объему

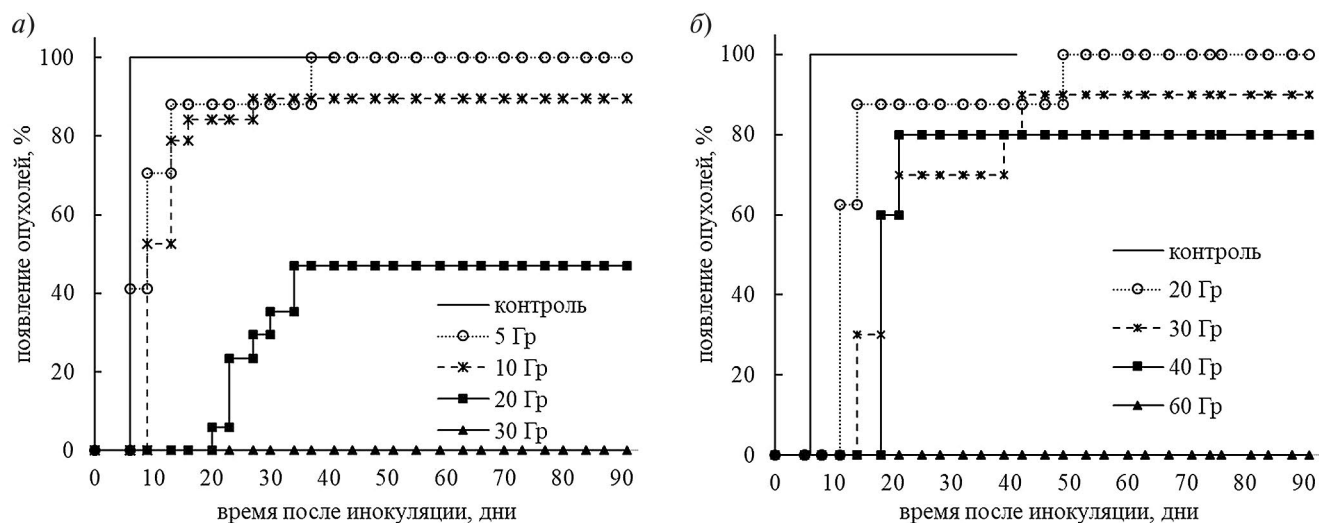


Рис. 1. Динамика появления опухолей у мышей после инокуляции клеток АКЭ, облученных: (а) ионами углерода в диапазоне доз 5–30 Гр; (б) РИ в дозах 20–60 Гр.

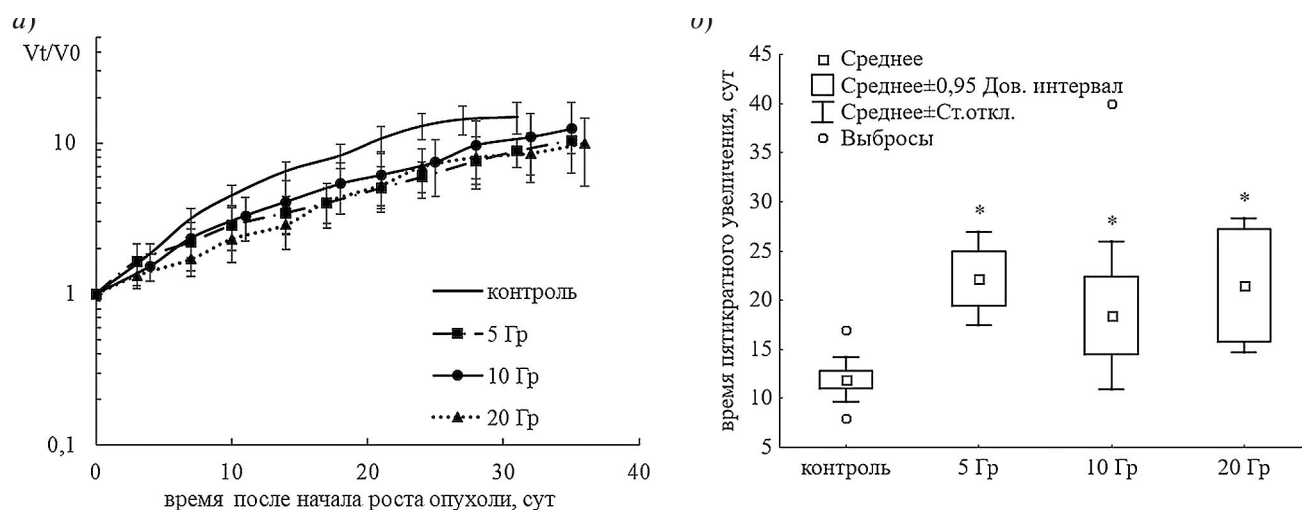


Рис. 2. Динамика роста опухолей у мышей после инокуляции суспензии клеток АКЭ облученных ^{125}I : (а) средние относительные объемы опухоли в зависимости от дней после появления опухоли; (б) данные рисунка (а) представлены в виде количества дней для увеличения объема опухоли в 5 раз по сравнению с первым измеренным объемом. Объемы нормализованы к первому измеренному объему $\geq 0.40 \text{ см}^3$. Статистическая значимость от контрольной группы оценивалась с помощью U -критерия Манна – Уитни (* $p \leq 0.01$).

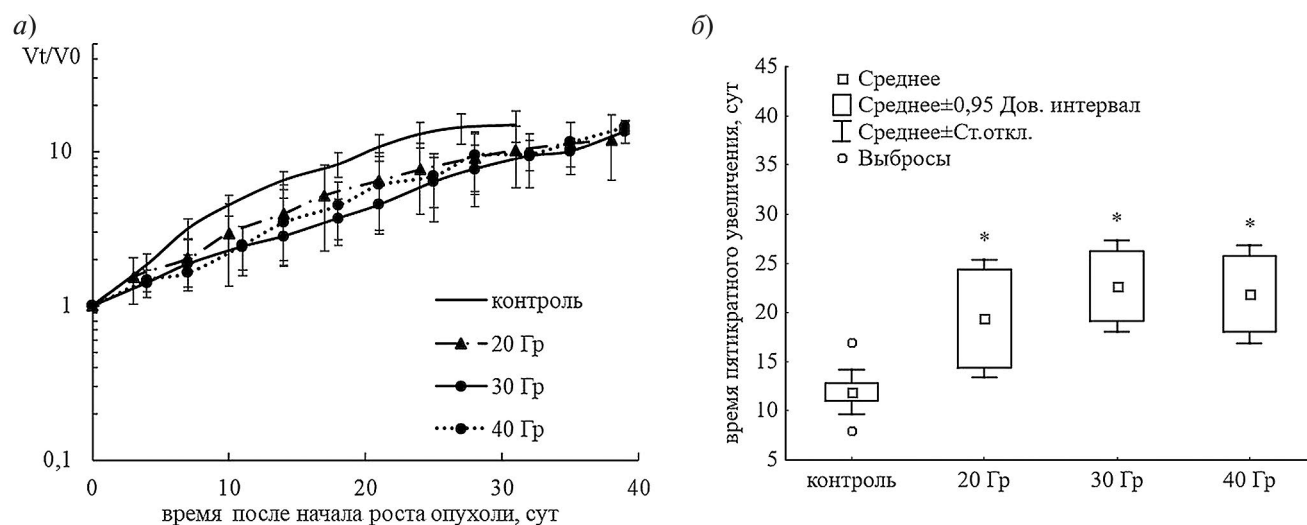


Рис. 3. Динамика роста опухолей у мышей после инокуляции суспензии клеток АКЭ облученных РИ: (а) средние относительные объемы опухоли в зависимости от дней после появления опухоли; (б) данные рисунка (а) представлены в виде количества дней для увеличения объема опухоли в пять раз по сравнению с первым измеренным объемом. Объемы нормализованы к первому измеренному объему $\geq 0.40 \text{ см}^3$. Статистическая значимость от контрольной группы оценивалась с помощью U -критерия Манна – Уитни (* $p \leq 0.01$).

(V_t/V_0). Скорость роста опухоли определяли по среднему времени 5-кратного увеличения опухоли, которое рассчитывалось как среднее количество дней от начала роста опухоли до объема опухоли, достигающего увеличения в 5 раз. Статистические расчеты проводились с помощью программы STATISTICA 10, различия считали статистически значимыми при $p \leq 0.01$.

На рис. 1 представлена динамика появления опухолей у мышей после инокуляции клеток АКЭ,

облученных ^{125}I и РИ. На 5-е сут у 100% мышей, которым были инокулированы необлученные клетки, индуцировались солидные опухоли АКЭ. В группах, которым были инокулированы облученные *ex vivo* клетки, появление опухолей наблюдали с задержкой начала роста, которая зависела от величины дозы. При облучении клеток ^{125}I в дозе 5 Гр появление первых опухолей наблюдали на 8-е сут, 10 Гр – на 11-е сут, 20 Гр – на 21-е сут. После облучения опухолевых клеток РИ в дозе 20 Гр первые

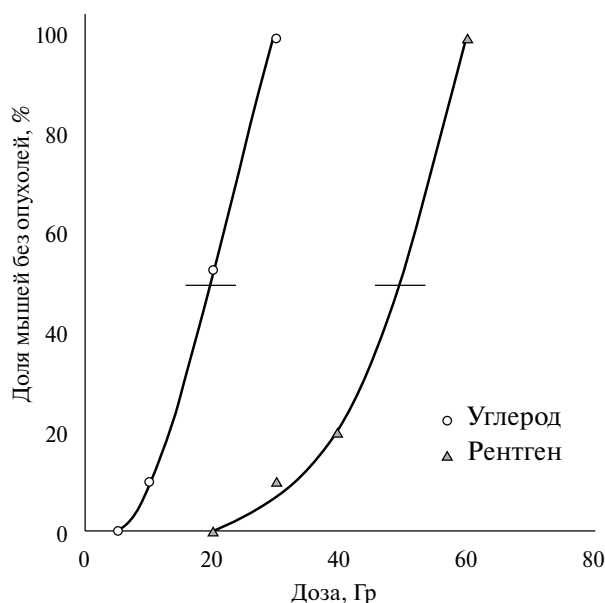


Рис. 4. Зависимость количества мышей без опухолей от дозы ^{12}C и РИ через 90 сут после инокуляции облученных клеток.

опухоли фиксировались на 11-е сут, 30 Гр — 14-е сут, 40 Гр — 18-е сут.

Через 30 сут частота индукции опухолей после облучения ^{12}C в дозах 5 Гр (88%) и 10 Гр (89%) не отличалась, в группе 20 Гр этот показатель снижался до 35%, а после облучения 30 Гр опухоли не появлялись (рис. 1а). Частота индукции опухолей после облучения клеток РИ в дозах 20; 30 и 40 Гр не отличалась и составляла 88; 70 и 80% соответственно, при этом у мышей, которым инокулировали клетки, облученные 60 Гр, опухоли в течение месяца не наблюдались (рис. 1б). Таким образом, если время появления первых опухолей зависело от дозы, то частота индукции опухолей в течение 1 мес при действии ^{12}C и РИ не зависела от величины дозы при более низких дозах исследуемого диапазона. Ранее нами при исследовании действия протонов на АКЭ *ex vivo* в дозах 30–150 Гр было показано, что частота индукции опухолей к концу первого месяца при более низких дозах также не зависела от дозы, в отличие от времени появления первых опухолей [11]. Можно предположить, что отсутствие зависимости частоты индукции опухолей от величины дозы на этом этапе развития опухолей свидетельствует о том, что на фоне гибели опухолевых клеток происходят стимулирование деления и дифференцировка ОСК, и эти закономерности зависят от свойств разных видов излучения [11].

При дальнейшем наблюдении до 90 сут было обнаружено, что после облучения ^{12}C в дозе 5 Гр у всех мышей появились опухоли, в дозе 10 Гр — у 90% животных, а при 20 Гр — у 47%. При облучении клеток АКЭ РИ в дозе 20 Гр на 90 сут 100% мышей были с

опухолями, в дозах 30 Гр и 40 Гр — 90 и 80% соответственно. После облучения суспензии АКЭ ^{12}C в дозе 30 Гр, а РИ в дозе 60 Гр опухоли у мышей не индуцировались в течение 90 сут. Следовательно, динамика появления опухолей после облучения клеток АКЭ *ex vivo* ^{12}C и РИ, как и через месяц после облучения, зависела от дозы. При этом эффективность ^{12}C относительно РИ была максимальной при более низких дозах, а затем уменьшалась.

Полученные данные позволили определить интервал времени, в течение которого появляются опухоли, а затем их количество не меняется. Интервал индукции опухолей после инокуляции клеток, облученных ^{12}C в дозе 5 Гр, составил 6–37 сут, 10 Гр — 9–27 сут, 20 Гр — 20–34 сут. При облучении клеток РИ в дозе 20 Гр это время составляло 11–49 сут, 30 Гр — 14–39 сут, а 40 Гр — 18–21 сут. Видно, что с ростом дозы интервал индукции АКЭ сокращался как для ^{12}C , так и для РИ. Медиана латентного периода при облучении ^{12}C в дозах 5 и 10 Гр составила 10 сут, а в дозе 20 Гр — 25 сут, при РИ медиана для 20 Гр равнялась 11 сут, 30 Гр — 17 сут, 40 Гр — 18 сут, что свидетельствует об увеличении латентного периода с ростом дозы для обоих типов излучений ($p \leq 0.01$). Эти закономерности несколько отличаются от действия высоких доз протонов на АКЭ *ex vivo*, где интервал индукции не зависел от дозы, а латентный период также увеличивался с ростом дозы [11].

На рис. 2 представлена динамика роста опухолей у мышей после инокуляции суспензии клеток АКЭ, облученных ^{12}C . Во всех группах, независимо от дозы, было обнаружено значительное торможение роста опухолей по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0.01$). Среднее время пятикратного увеличения объема опухоли при облучении ^{12}C составило 20.7 ± 4.5 сут, а у контроля 12.5 ± 3.5 сут.

На рис. 3 представлена динамика роста опухолей у мышей после инокуляции клеток АКЭ в зависимости от дозы РИ. Обнаружено, что скорость роста опухолей во всех группах достоверно ниже, чем в необлученном контроле ($p \leq 0.01$). Среднее время пятикратного увеличения объема опухоли при облучении РИ было близко к величине этого показателя, определенного для ^{12}C , и равнялось 22.7 ± 5.2 сут.

Таким образом, скорость роста АКЭ после облучения клеток *ex vivo* ^{12}C и РИ не зависела ни от дозы, ни от вида излучения, ни от времени начала роста солидной опухоли. В работе [14] при облучении ^{12}C ($E = 109.5 \text{ МэВ}$, ЛПЭ = 59 кэВ/мкм) в дозе 10 Гр и РИ (225 кВ) в дозах 20, 25 и 30 Гр саркомы мягких тканей у мышей скорость роста опухолей, облученных 10 Гр ^{12}C и 30 Гр РИ, также была одинаковой. Появление опухолей после инокуляции облучен-

ных асцитных клеток *ex vivo* в высоких дозах ^{12}C свидетельствует о высокой радиорезистентности, как мы предполагаем, ОСК. В исследовании [15] показано, что после облучения ^{12}C опухоли поджелудочной железы в дозе 25 Гр рост опухоли не наблюдался, в дозе 15 Гр у 80% мышей возобновлялся рост опухолей, тогда как при облучении РИ в дозе 60 Гр у 60% мышей опухоли росли. Авторы предполагают, что высокие дозы ^{12}C могут по сравнению с РИ более эффективно повреждать ОСК, расположенные в гипоксических областях опухоли в стадии G_0 , за счет индукции нерепарируемых кластерных повреждений ДНК независимо от стадий клеточного цикла и концентрации кислорода. Полученные нами результаты еще раз демонстрируют высокий туморогенный потенциал и радиорезистентность ОСК АКЭ, поскольку наблюдалась индукция опухолей у здоровых мышей после облучения опухолевых клеток в сублетальных и летальных дозах, величины которых, определенные по клеточной гибели и колониеобразующей способности при облучении ^{12}C *in vitro*, находятся в интервале 4–6 Гр [16].

На основе данных динамики индукции опухолей, были построены дозовые зависимости вероятности развития опухолей через 90 сут после инокуляции облученных клеток (рис. 4).

Доза, при которой у 50% мышей на 90 сут не будет опухолей, для ^{12}C составила 19.1 Гр, а для РИ – 49.4 Гр, что позволило определить по этому показателю величину ОБЭ для ^{12}C , равную 2.59. Это значение ОБЭ сопоставимо с полученным нами ранее по ЛД50/30 при облучении мышей этим же пучком ионов [12]. Наши данные также хорошо согласуются с результатами по определению ОБЭ на трех сублиниях клеток рака предстательной железы крыс, облученных ионами углерода ($E = 290$ МэВ, ЛПЭ = 75 кэВ/мкм) в дозах 17–37 Гр, где значение ОБЭ, определенное по 50%-ному появлению опухолей через 300 сут, составляло 1.62–2.30 [17]. При изучении радиочувствительности стволовых клеток глиомы ОБЭ для ^{12}C варьировалась от 1.87 до 3.44 в зависимости от условий [18]. В работе [19] по выживаемости клеток двух линий мезотелиомы человека после облучения в дозе 6 Гр ^{12}C ОБЭ составляло 2.82 и 2.93, а доля ОСК-подобных клеток увеличивалась через 10 дней после РИ, но не изменялась при облучении ^{12}C .

Таким образом, было обнаружено, что после облучения суспензии клеток АКЭ *ex vivo* ионами углерода в дозе 30 Гр и 60 Гр РИ солидные опухоли у мышей не появлялись в течение всего времени наблюдения. Показано, что динамика появления опухолей после облучения клеток АКЭ *ex vivo* ^{12}C и РИ зависела от дозы. Величина латентного периода, как при облучении клеток ^{12}C , так и РИ, увеличивалась с ростом дозы. Скорость роста опухолей по-

сле облучения клеток АКЭ *ex vivo* не зависела ни от дозы, ни от вида излучения, но значительно отличалась от контроля. Величина ОБЭ, определенная по равноэффективной дозе вероятности индукции опухолей у 50% мышей в течение 90 сут, составила 2.59, что свидетельствует о высокой противоопухолевой эффективности исследуемого пучка ионов углерода.

Ранее нами при разработке биомедицинских моделей и способов повышения эффективности высокоэнергетических протонов было показано, что после облучения асцитных клеток высокими дозами в условиях *ex vivo* и *in vivo* динамика индукции и рост опухолей не зависят от условий облучения [11]. Облучение опухолевых клеток не только *ex vivo* с последующей инокуляцией животным является удобным, результативным и экономичным подходом к изучению разных по радиочувствительности форм опухолей (асцитной и солидной), зависимости радиочувствительности от количества клеток, содержания кислорода в суспензии, но и позволяет быстрее проводить скрининг химических и физических способов модификации ионного излучения, использовать методы генной инженерии для повышения противоопухолевой эффективности, поскольку не требует транспортировки животных, сложного позиционирования при локальном облучении на ускорителях, упрощает контроль дозы и ее равномерного распределения. Мы предполагаем, что поскольку регистрируемые в нашей работе показатели опухолевого роста являются интегральным результатом гибели, задержки деления разных по радиочувствительности клеток опухоли, стимулирования дифференцировки и пролиферации ОСК в условиях влияния микроокружения опухоли и естественного противоопухолевого иммунитета организма, то предложенная экспериментальная модель может послужить полезным инструментом для исследования проблем радиорезистентности и рецидивирования опухолей и дальнейшего исследования потенциала ионной терапии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам Лаборатории ионного лучевого комплекса НИЦ “Курчатовский институт” Пикалову В. А. и Васильевой А. Г. за помощь в организации и проведении экспериментов на оборудовании “Радиобиологического стенда на углеродном пучке У-70”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 075-01025-23-01 Федерального государственного бюджетного учреждения науки — Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук и при частичном финансировании из средств договора НИР № 28/22 между Филиалом “Физико-технический центр” Федерального государственного бюджетного учреждения науки Физического института им. П.Н. Лебедева Российской академии наук и Федеральным государственным бюджетным учреждением науки — Институтом теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ И СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с Руководством Национального института здравоохранения по уходу и использованию лабораторных животных (<http://oacu.od.nih.gov/regs/index.htm>). Протоколы с использованием животных были одобрены комиссией ИТЭБ РАН по биологической безопасности и биоэтике (№ 11/2023 от 08.02.2023).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yamada S., Takiyama H., Isozaki Y., et al. Carbon-ion Radiotherapy for Colorectal Cancer // *J. Anus. Rectum Colon*. 2021. V. 5. № 2. P. 113–120.
2. Malouff T.D., Mahajan A., Krishnan S., et al. Carbon Ion Therapy: A Modern Review of an Emerging Technology // *Front. Oncol*. 2020. V. 10:82.
3. Durante M., Debus J., Loeffler J.S. Physics and biomedical challenges of cancer therapy with accelerated heavy ions // *Nat. Rev. Phys*. 2021. Vol. 3. № 12. P. 777–790.
4. Desouky O., Zhou G. Biophysical and radiobiological aspects of heavy charged particles // *Journal of Taibah University for Science*. 2015. Vol. 10. P. 187–194.
5. Saager M., Glowa C., Peschke P., et al. Split dose carbon ion irradiation of the rat spinal cord: Dependence of the relative biological effectiveness on dose and linear energy transfer // *Radiotherapy and oncology: journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2015. Vol. 117. P. 358–363.
6. Elsasser T., Weyrather W.K., Friedrich T., et al. Quantification of the relative biological effectiveness for ion beam radiotherapy: direct experimental comparison of proton and carbon ion beams and a novel approach for treatment planning // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2010. Vol. 78. P. 1177–1183.
7. Battle E., Clevers H. Cancer stem cells revisited // *Nat. Med*. 2017. Vol. 23. P. 1124–1134.
8. Dzobo K., Senthebane D.A., Ganz C., et al. Advances in therapeutic targeting of cancer stem cells within the tumor microenvironment: an updated review // *Cells*. 2020. Vol. 9, № 8.
9. Chang L., Graham P., Hao J., et al. Cancer stem cells and signaling pathways in radioresistance // *Oncotarget*. 2016. Vol. 7. № 10. P. 11002–11017.
10. Mishra S., Tamta A.K., Sarikhani M., et al. Subcutaneous Ehrlich ascites carcinoma mice model for studying cancer-induced cardiomyopathy // *Scientific reports*. 2018. Vol. 8. № 1. Published 2018 Apr 4.
11. Balakin V.E., Rozanova O.M., Smirnova E.N., et al. Growth induction of solid Ehrlich ascitic carcinoma in mice after proton irradiation of tumor cells *ex vivo* // *Doklady Biochemistry and biophysics*. 2023. Vol. 511. № 1. P. 151–155.
12. Заичкина С.И., Розанова О.М., Смирнова Е.Н. и др. Оценка биологической эффективности ускоренных ионов углерода с энергией 450 МэВ/нуклон в ускорительном комплексе У-70 по критерию выживаемости мышей // *Биофизика*. 2019. Т. 64. № 6, С. 1208–1215.
13. Koch R.A., Boucsein M., Brons S., et al. A time-resolved clonogenic assay for improved cell survival and RBE measurements // *Clinical and translational radiation oncology*. 2023. Vol. 42.
14. Brownstein J.M., Wisdom A.J., Castle K.D., et al. Characterizing the potency and impact of carbon ion therapy in a primary mouse model of soft tissue sarcoma // *Mol. Cancer Ther*. 2018. Vol. 17. № 4. P. 858–868.
15. Sai S., Wakai T., Vares G., et al. Combination of carbon ion beam and gemcitabine causes irreparable DNA damage and death of radioresistant pancreatic cancer stem-like cells in vitro and in vivo // *Oncotarget*. 2015. Vol. 6. № 8. P. 5517–5535.
16. Комарова Л.Н., Мельникова А.А., Балдов Д.А. Синергические эффекты комбинированного действия ионов углерода и химиопрепарата доксорубицин на раковых клетках линии HeLa // *Известия высших учебных заведений. Ядерная энергетика*. 2021. № 3, С. 158–168.
17. Glowa C., Karger C.P., Brons S., et al. Carbon ion radiotherapy decreases the impact of tumor heterogeneity on radiation response in experimental prostate tumors // *Cancer Letters*. 2016. Vol. 378. № 2. P. 97–103.
18. Chiblak S., Tang Z., Campos B., et al. Radiosensitivity of patient-derived glioma stem Cell 3-dimensional cultures to photon, proton, and carbon irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2016. Vol. 95. № 1. P. 112–119.
19. Sai S., Suzuki M., Kim E.H., et al. Effects of carbon ion beam alone or in combination with cisplatin on malignant mesothelioma cells in vitro // *Oncotarget*. 2017. Vol. 9. № 19. P. 14849–14861.

ANTI-TUMOR EFFECT OF HIGH DOSES OF CARBON IONS AND X-RAYS DURING IRRADIATION OF EHRlich ASCITES CARCINOMA CELLS EX VIVO

**Corresponding Member of the RAS V. E. Balakin^a, T. A. Belyakova^{a, #}, O. M. Rozanova^b,
E. N. Smirnova^b, N. S. Strelnikova^a, E. A. Kuznetsova^b**

^a Branch "Physical-Technical Center" of P.N. Lebedev Physical Institute of the Russian Academy
of Sciences, Protvino, Russian Federation

^b Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences,
Pushchino, Russian Federation

[#] E-mail: belyakovata@lebedev.ru

The effect of carbon ions (¹²C) with the energy of 400 MeV/nucleon on the dynamics of induction and growth rate of solid tumors in mice under irradiation of Ehrlich's ascites carcinoma cells (EAC) ex vivo at doses of 5–30 Gy relative to the action of equally effective doses of X-ray radiation was studied. The dynamics of tumor induction under the action of ¹²C and X-rays had a similar character and depended on the dose during 3 months of observation. The value of the latent period, both when irradiating cells with ¹²C and X-ray, increased with increasing dose, and the interval for tumor induction decreased. The rate of tumor growth after ex vivo irradiation of EAC cells was independent of either dose or type of radiation. The dose at which EAC tumors are not induced within 90 days was 30 Gy for carbon ions and 60 Gy for X-rays. The value of the relative biological effectiveness of carbon ions, calculated from an equally effective dose of 50% probability of tumors, was 2.59.

Keywords: Ehrlich ascites carcinoma, ex vivo, carbon ion, X-ray, RBE, mice.