

# Экспериментальный стенд для исследования воздействия ускоренных лазером протонов на биообъекты

К.Ф.Бурдонов, А.А.Еремеев, Н.И.Игнатова, Р.Р.Османов, А.Д.Сладков, А.А.Соловьев, М.В.Стародубцев, В.Н.Гинзбург, А.А.Кузьмин, А.В.Масленникова, Г.Реве, А.М.Сергеев, Ж.Фукс, Е.А.Хазанов, С.Чен, А.А.Шайкин, И.А.Шайкин, И.В.Яковлев

*Представлен оригинальный экспериментальный стенд, предназначенный для исследования воздействия на биологические объекты высокоэнергетических протонов, полученных в результате лазерно-плазменного взаимодействия на петаваттном уровне мощности. В ходе пилотных экспериментов с энергией лазерных протонов до 25 МэВ продемонстрирована способность передавать объекту исследования дозы до десяти грэй за единственный выстрел при магнитном отделении протонов от паразитного рентгеновского излучения и быстрых электронов. Разработана методика облучения клеточной культуры HeLa Kyoto и измерения доли выживших клеток. Обсуждаются пути оптимизации параметров протонных пучков, подходящие способы их энергетической сепарации и транспорта к исследуемым живым объектам. Создание стенда нацелено на отработку лазерных технологий адронной терапии злокачественных новообразований.*

**Ключевые слова:** лазерно-плазменное взаимодействие, высокоэнергетические протоны, облучение клеточных культур.

## 1. Введение

Современные лазерные источники [1–5] и их растущая коммерческая доступность открывают широкие возможности для развития большого числа приложений сверхмощного оптического излучения, одним из которых является лазерное ускорение частиц [6, 7]. Компактные лазерно-плазменные источники ускоренных частиц востребованы во многих приложениях, в первую очередь как более дешевая и удобная альтернатива классическим ускорителям. Кроме этого, лазерные источники частиц обладают дополнительным набором уникальных параметров, таких как, например, точечность и короткоимпульсность, делающих их безальтернативными для некоторых приложений [8]. В медицине лазерные источники ускоренных ионов рассматриваются в первую очередь в аспекте адронной терапии раковых заболеваний, суть которой состоит в облучении быстрыми ионами раковых клеток с целью нарушения их способности к митозу.

Терапия ускоренными ионами позволяет повысить как биологическую эффективность, так и конформность облучения, т. е. дает возможность точно подвести дозу к опухоли с минимальной нагрузкой на окружающие нормальные ткани. В результате достигается повышение показателей выживаемости и улучшение качества жизни па-

циентов [9]. Такая избирательность пучка ионов связана с брэгговским пиком поглощения [10], глубина которого зависит от энергии протона на входе в живую ткань. В мире существует несколько десятков центров ионной терапии рака [11], однако основным препятствием в популяризации такого лечения является высокая себестоимость услуги, обусловленная использованием громоздких и дорогих в обслуживании классических ускорителей, альтернативой которым в будущем могут послужить компактные и относительно недорогие лазерно-плазменные ускорители [12, 13].

Вместе с тем следует отметить, что существующие технологии лазерно-плазменного ускорения не обеспечивают на сегодняшний день необходимую моноэнергетичность и максимальную энергию лазерных протонов, а значит, не могут обеспечить локальность и воздействие на глубоко лежащие ткани. В работе [14] сообщается о получении лазерных протонов с рекордной энергией 67.5 МэВ и спектром, не обладающим моноэнергетическими особенностями. Такая энергия соответствует брэгговскому пику на глубине примерно 3 см [15], что, в принципе, позволяет облучать сетчатку человеческого глаза, но явно недостаточно для лечения глубоко лежащих неперабельных опухолей, например в головном мозге. В связи с этим особую актуальность приобретают работы по усовершенствованию лазерных источников и режимов лазерно-плазменного взаимодействия для повышения максимальных энергий и числа ускоренных протонов, а также разработка способов энергетической сепарации, транспорта и фокусировки пучков, ускоренных лазером. Тем не менее даже на существующих лазерных источниках в исследованных режимах ускорения возможны отработка основных подходов к терапии лазерными протонами и эксперименты на клеточных культурах [16, 17].

В настоящей работе представлен аппаратный комплекс, состоящий из вакуумного лазерного ускорителя протонов на основе петаваттного лазерного комплекса PEARL, магнитного энергетического сепаратора и ори-

К.Ф.Бурдонов, А.А.Еремеев, Р.Р.Османов, А.Д.Сладков, А.А.Соловьев, М.В.Стародубцев, В.Н.Гинзбург, А.А.Кузьмин, А.М.Сергеев, Е.А.Хазанов, А.А.Шайкин, И.А.Шайкин, И.В.Яковлев. Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, Россия, 603950 Н.Новгород, ул. Ульянова, 46; e-mail: kfb.iap@gmail.com, mstar@appl.sci-nnov.ru

Н.И.Игнатова, А.В.Масленникова. Нижегородская медицинская академия, Россия, 603950 Н.Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1  
Г.Реве, Ж.Фукс, С.Чен. Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики РАН, Россия, 603950 Н.Новгород, ул. Ульянова, 46; LULI France, École Polytechnique 91128 Palaiseau Cedex

Поступила в редакцию 24 февраля 2016 г.

гинального модуля для облучения живых культур, включающего в себя интерфейс «вакуум-воздух» и планшет для расположения живой клеточной культуры. Приведены оценки возможностей комплекса с точки зрения достижимых глубин и локальности воздействия и рассмотрены пути усовершенствования режима ускорения частиц и дополнительной фокусировки протонного импульса. В работе также описана методология воздействия лазерными протонами на клеточную культуру *HeLa Kyoto*.

## 2. Лазерное ускорение протонов

Экспериментальная часть исследований проводилась на лазерно-плазменном стенде PEARL (ИПФ РАН, Н. Новгород), существующем на базе одноименного лазерного комплекса [18]. В работе [19] нашей группой были продемонстрированы протоны с энергией до 43.3 МэВ, ускоренные в режиме TNSA [20] при фокусировке р-поляризованного импульса (7.5 Дж, 60 фс) на алюминиевую мишень толщиной 0.8 мкм, расположенную под углом 45° к оптической оси.

Для пилотных экспериментов с биомодулем использовались более толстые (10 мкм) мишени, что обусловлено большей стабильностью углового распределения протонов и меньшей чувствительностью режима ускорения к таким параметрам лазерного излучения, как длительность и контраст. Типичная картина распределения доз, полученных радиохромными пленками (RCF), расположенными на расстоянии около 4 см от области лазерно-плазменного взаимодействия при фокусировке на фольгу толщиной 10 мкм, представлена на рис.1,а, а соответствующий энергетический спектр протонов – на рис.1,б. Протоны достигают исследуемый объект через отверстия по центру пластинок (см. разд.3), темная область вокруг отверстия не имеет отношения к дозе на пластинках.

В экспериментах были получены протонные пучки с экспоненциально спадающим энергетическим спектром, что хорошо согласуется с результатами известных теоретических и экспериментальных работ [21–23].

Характер воздействия ускоренных протонов на среду в первую очередь зависит от ее плотности, поэтому дозы, полученные радиохромными пленками, изготовленными из пластика, близки к дозам, которые получают живые ткани, помещенные в аналогичные условия. Видно, что в результате единственного выстрела биоткани могут полу-

чить дозу в десятки и сотни грэй, что значительно превышает дозы, необходимые для терапевтических целей [24]. Однако эта доза получена в результате воздействия протонов с разными энергиями, а значит воздействие не является локальным. В настоящей работе мы не будем касаться возможной оптимизации углового и энергетического спектров протонного пучка за счет изменения режима лазерно-плазменного взаимодействия, а ограничимся исследованием потенциальной возможности использования режима TNSA в лабораторных экспериментах по воздействию пучков ускоренных протонов на биообъекты.

Для медицинских приложений принципиальна моноэнергетичность воздействующих протонов, обеспечивающая локальность воздействия, поэтому необходимо проводить энергетическую сепарацию. Наиболее простым способом в данном случае является магнитная сепарация, основанная на пропускании протонов через область с постоянным магнитным полем, что и было реализовано в настоящей работе. Негативный фактор использования такой сепарации – существенное снижение дозы, получаемой объектом исследования, что тоже учитывалось.

## 3. Экспериментальный стенд

Для воздействия на биообъекты стенд лазерного ускорения был дополнен модулем для помещения живых объектов и оборудованием для обеспечения жизнедеятельности живых клеточных культур.

Принципиальная схема экспериментального стенда для воздействия на биообъекты пучком ускоренных протонов представлена на рис.2. Лазерный импульс (центральная длина волны 910 нм, энергия до 10 Дж, длительность около 60 фс) поступал в вакуумную мишенную камеру, где при помощи внеосевого параболического зеркала  $f/4$  фокусировался на поверхность мишени (алюминиевая фольга толщиной 10 мкм), расположенной под углом 45° к падающему излучению. Для измерения энергетических спектров протонов использовалась диагностика радиохромными пленками [23, 25], собранными в стек, установленный на расстоянии 35 мм позади мишени по нормали к ее поверхности. В стекле было проделано отверстие диаметром 3.5 мм, через которое генерируемый пучок протонов (после прохода через постоянный магнит) направлялся на подложку с клеточной культурой. Для оценки параметров прошедшего через отверстие

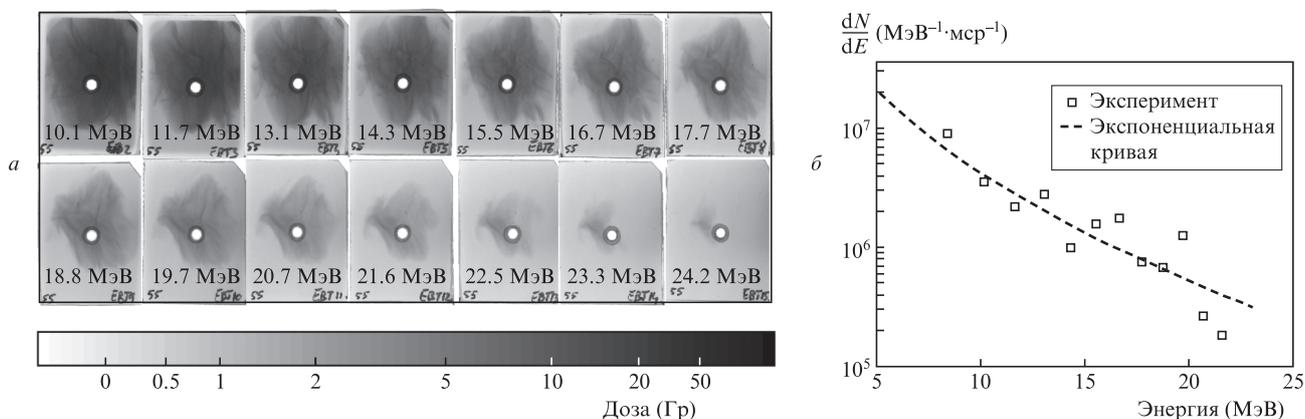


Рис.1. Картины распределения доз, полученных радиохромными пленками (а) в результате облучения TNSA-протонами, и соответствующий энергетический спектр (б) для энергии лазерного импульса 5 Дж и мишени толщиной 10 мкм. Отверстия по центру пленок предназначены для пропускания протонов к исследуемому объекту, темное кольцо вокруг отверстия не связано с дозой. Нулевой уровень выбран по уровню фона на пластинках, соответствующих высокой энергии протонов.

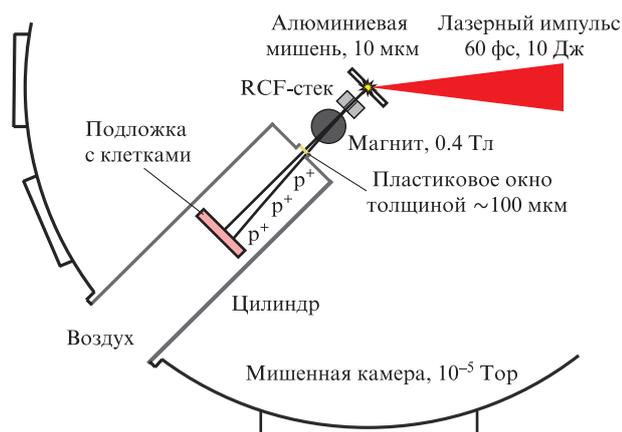


Рис.2. Схема эксперимента по воздействию лазерными протонами на биологические объекты.

протонного пучка использовалась доза, полученная пленками в области, прилегающей к отверстию; при этом для упрощения расчетов угловое распределение внутри отверстия предполагалось однородным. Это допустимо, поскольку характерный угловой размер протонного пучка в наших экспериментах для энергий менее 20 МэВ обычно существенно превышает размер отверстия в радиохромных пластинках (см. рис.1,а).

Для ускорения протонов за счет лазерно-плазменного взаимодействия эксперимент необходимо проводить при давлении не выше  $10^{-3}$  Тор, что несовместимо с выживаемостью клеточной культуры. Поэтому протонный пучок вводился в специально созданный модуль, приспособленный для обеспечения жизнедеятельности живых культур, находящихся при атмосферном давлении. Вывод протонного пучка из мишенной камеры осуществлялся через окно диаметром 15 мм, закрытое пластиковой пленкой толщиной ~100 мкм. Учитывалось неизбежное небольшое снижение энергии протонов (на 0.2 МэВ для протонов с энергией 20 МэВ) при прохождении окна. Окно было установлено в металлическом цилиндре длиной 0.5 м, расположенном на одном из фланцев мишенной камеры. Это давало возможность размещать подложку с клеточной культурой на расстояниях не менее 0.3 м от источника протонов.

Энергетическая сепарация протонов осуществлялась при помощи системы из постоянных магнитов (6 см, 0.4 Тл) с перспективой увеличения магнитной индукции до 2.5 Тл; система также позволяла дифференцировать протонное воздействие и воздействие рентгеновского излучения. Для контроля доз, полученных клеточной культурой, с лицевой и тыльной сторон подложки с клеточной культурой располагались радиохромные пленки.

В пилотных экспериментах для данной геометрии дозы в районе расположения планшета достигали десятков грэй при слабо выраженной энергетической сепарации протонов.

#### 4. Методика работы с клеточными культурами

В качестве объекта исследования в ходе дальнейших экспериментов с живыми клетками предполагается использовать клеточную культуру *HeLa Kyoto* – рака шейки матки [26]. Культура выбрана из соображений простоты

содержания данного типа клеток в лабораторных условиях.

Клетки предполагается культивировать в среде ДМЕМ, содержащей глутамин, 10% сыворотки и антибиотики, в атмосфере с 5%  $CO_2$  и при температуре 37 °С. Количество клеток на одну лунку составляет около 3000. Через сутки после посева клеточная культура облучается протонным пучком. Непосредственно перед моментом выстрела питательная среда удаляется из лунок, и подложка помещается в биомодуль вертикально, поскольку протонный пучок выходит из мишени в горизонтальной плоскости. После облучения в лунки вносится свежая питательная среда, и планшет помещается в  $CO_2$ -инкубатор на 24 ч. Все манипуляции должны проводиться с соблюдением правил асептики. На следующие сутки после выстрела проводится МТТ-тест для оценки доли выживших в ходе эксперимента клеток [27]. В качестве контрольных используются лунки, не подвергшиеся облучению.

Описанная процедура аналогична широко используемой для медицинских исследований, однако требует поддержания в физической лаборатории соответствующего уровня чистоты и дезинфекции, а также установки оборудования для работы с клеточной культурой.

#### 5. Расчет дозы, полученной клетками

Информация об энергетическом спектре ускоренных протонов, полученная при интерпретации потемнения радиохромных пленок вокруг отверстия, легла в основу расчета дозы, поглощенной испытуемыми клетками. В предположении однородности углового распределения для протонов, прошедших сквозь отверстие, рассчитывались их траектории и полученная клетками доза. При этом учитывались потери при прохождении пленочного окна и неоднородность магнитного поля.

На рис.3 представлены расчетные дозы для монослоя клеток, расположенного в биомодуле, и экспериментальный протонного спектра (максимальная энергия 43.3 МэВ [19]), полученного с помощью лазера PEARL. Хорошо видно, что в модуле реализованы условия, позволяющие посредством лазерных протонов передавать исследуемым клеткам существенные дозы, причем с помощью магнитного поля можно отделять воздействие протонов от воздействия сопутствующих электронов и рентгеновского излучения.

Возможность воздействия на глубоколежащие ткани продемонстрирована на рис.4, где показаны распределения доз, полученных толстой биологической тканью, рас-

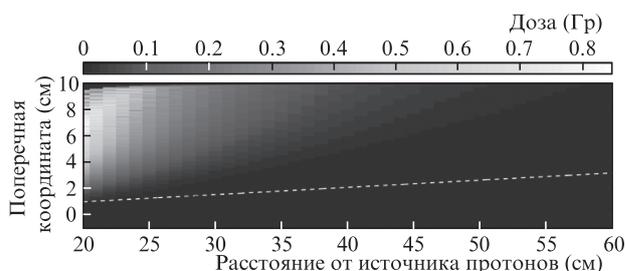


Рис.3. Распределение доз, полученных за один выстрел живой клеткой (или монослоем клеток), помещенной в экспериментальный модуль, для типичного протонного спектра при использовании магнита с индукцией 2.5 Тл. Штриховой линией обозначена область, находящаяся в зоне «прямой видимости» для рентгеновского излучения.

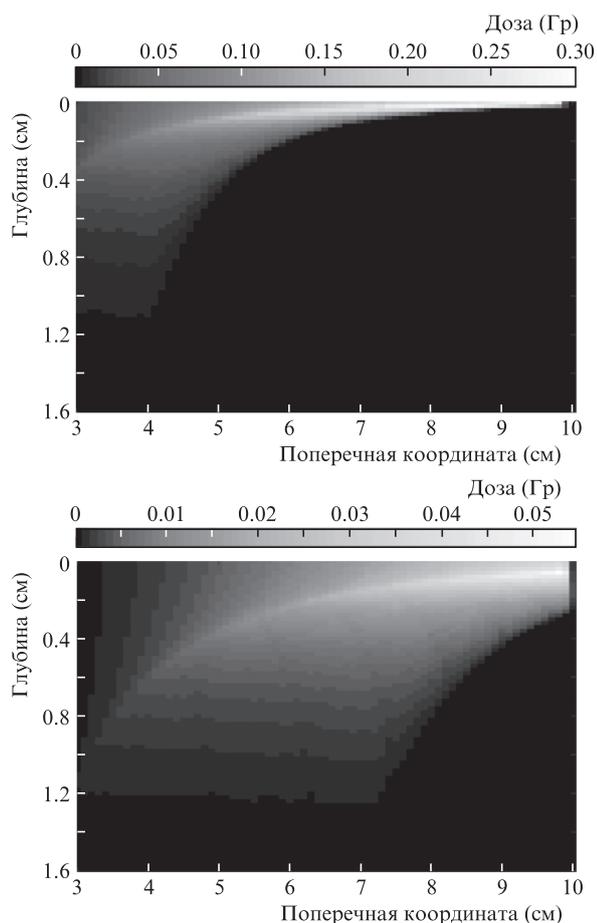


Рис.4. Распределения доз, полученных слоем биоткани, в зависимости от глубины залегания и поперечной координаты в биомодуле при расстоянии объекта 30 см от источника и индукции магнитного поля 2.5 Тл (а), а также при расстоянии 60 см и магнитной индукции 1.8 Тл (б).

положенной на расстоянии 30 и 60 см, для магнитной системы с индукцией 2.5 и 1.8 Тл соответственно. Видно, что в топологии с одним магнитом, использовавшейся в наших экспериментах, увеличение расстояния приводит к улучшению сепарации по глубинам воздействия (при сохранении глубины воздействия), однако это достигается ценой снижения дозы. В то же время для обеспечения разделения рентгеновского излучения и частиц приходится варьировать магнитное поле – его необходимо увеличивать при приближении к источнику.

## 6. Обсуждение результатов и возможные пути совершенствования системы

Дозы, измеренные непосредственно в месте нахождения биокультуры, а также расчеты на основании данных RCF-спектрометра показали, что установка позволяет за единственный выстрел сообщить испытуемым биоклеткам дозу, достаточную для поражения. С другой стороны, из расчетов следует, что энергетическая сепарация (а значит, и обеспечение локальности воздействия) при помощи единственного магнита малоэффективна, т.к. она приводит к существенному снижению дозы. Например, как видно из рис.4,б, для терапии биологической ткани на глубине 1 см с использованием имеющегося источника протонов необходима аккумуляция воздействия за несколько сотен выстрелов.

В то же время использованная топология позволяет эффективно отделять протоны от рентгеновского излучения, что дает возможность проводить эксперименты на монослое клеток или срезах.

Отметим, что представленная работа не является пионерской. В качестве примера можно привести работу [16], в которой описан аналогичный комплекс по утилизации лазерных протонов, основанный на импульсно-периодической лазерной системе с энергией в импульсе около 2 Дж. Отличие от нашего случая заключается в использовании более мощной лазерной установки, что потенциально позволяет накапливать необходимую дозу за меньшее число (единицы) выстрелов.

Очевидным усовершенствованием системы будет применение в дальнейшем методов магнитной оптики для дополнительной фокусировки пучка при сохранении эффективности сепарации. Например, возможно использование селектора типа «шикана» [28] или более сложной системы из постоянных магнитов [29].

Фокусирующие поля также могут создаваться в результате лазерно-плазменного взаимодействия. На наш взгляд, наиболее перспективными в смысле фокусировки и энергетической сепарации протонного пучка в режиме TNSA являются тороидальные магнитные поля, возникающие при взаимодействии наносекундного лазерного импульса с твердотельной мишенью [30], а также радиальные электрические поля, инициированные облучением полого микроцилиндра [31]. Такие схемы дают возможность дополнительно повысить дозу за счет компактности энергетического сепаратора, позволяющего располагать объект исследования ближе к исходно сильно расходящемуся протонному пучку в режиме TNSA. Платой за компактность будет существенное усложнение постановки эксперимента.

В то же время на установке PEARL проводится комплекс работ, позволяющий повысить пиковую интенсивность в области взаимодействия за счет повышения энергии импульса [32, 33], оптимизации его фокусировки и длительности [34]. Ожидается, что оптимизация лазерных параметров может существенно поднять максимальные энергии и заряд ускоренного лазером протонного пучка [35].

## 7. Заключение

Создан экспериментальный биостенд, состоящий из лазерного источника протонов на базе лазерного комплекса PEARL и биомодуля для помещения испытуемых биокультур с пленочным интерфейсом «вакуум-воздух». Использовался простейший энергетический сепаратор с единственным постоянным магнитом, позволявший отделять протонное воздействие от паразитного воздействия рентгеновского излучения и быстрых электронов. Пилотные эксперименты продемонстрировали, что исследуемые культуры могут получать критические дозы радиации 1–2 Гр за единственный выстрел, что достаточно для проведения экспериментов на живых клетках. Разработана и апробирована методика проведения эксперимента на клеточной культуре *HeLa Kyoto*. Показано, что топология эксперимента с единственным магнитом малоэффективна, поскольку при достижении необходимой сепарации существенно снижается доза воздействия, а это приводит к необходимости аккумулировать воздействие за десятки и сотни выстрелов. Намечены пути усо-

вершенствования биологического модуля и энергетического сепаратора при помощи специальной магнитной оптики и оптимизации режимов взаимодействия для повышения дозы и локальности воздействия.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (контракт № 14.Z30.31.0007) и РФФИ (гранты № 14-29-06099, 16-32-60183, 15-32-20922, 16-32-60125).

1. Gaul E.W. et al. *Appl. Opt.*, **49** (9), 1676 (2010).
2. Yu T.J. et al. *Opt. Express*, **20** (10), 10807 (2012).
3. Chu Y. et al. *Opt. Express*, **21** (24), 29231 (2013).
4. Danson C. et al. *High Power Laser Science and Engineering*, **2**, e34 (2014).
5. Kiriya H. et al. *IEEE Sel. Top. Quantum Electron.*, **21** (1), 232 (2015).
6. Esarey E. et al. *Rev. Modern Phys.*, **81**, 1229 (2009).
7. Daido H. et al. *Rep. Prog. Phys.*, **75**, 056401 (2012).
8. Wenz J. et al. *Nat. Commun.*, **6**, 7568 (2015).
9. Schardt D. et al. *Rev. Modern Phys.*, **82** (1), 383(2010).
10. Bragg W.H., Kleeman R. *Philos. Mag., Ser. 6*, **10** (57), 318 (1905).
11. <http://www.proton-therapy-today.com/where-to-get-pt/>.
12. Tajima T. et al. *Rev. Accel. Sci. Technol.*, **02** (01), 201 (2009).
13. Hooker S.M. *Nat. Photonics*, **7**, 775 (2013).
14. Gaillard S.A. et al. *Phys. Plasmas*, **18**, 056710 (2011).
15. Jia S.B. et al. *Rep. Pract. Oncol. Radiother.*, **19** (6), 376 (2014).
16. Kraft S.D. et al. *New J. Phys.*, **12**, 085003 (2010).
17. Zeil K. et al. *Appl. Phys. B*, **110**, 437 (2013).
18. Lozhkarev V.V. et al. *Laser Phys. Lett.*, **4**, 421 (2007).
19. Soloviev A.A. et al. *Proc. Conf. Ultrafast Opt. 2015* (Beijing, China, 2015).
20. Wilks S.C. et al. *Phys. Plasmas*, **8**, 542 (2001).
21. Mora P. *Phys. Rev. E*, **72**, 056401 (2005).
22. Fuchs J. et al. *Nat. Physics*, **2**, 48 (2006).
23. Nurnberg F. et al. *Rev. Sci. Instrum.*, **80**, 033301 (2009).
24. Труфанов Г.Е. и др. *Лучевая терапия* (СПб: Гэотар-медиа, 2013).
25. Vatnitsky S.M. *Appl. Radiation and Isotopes*, **48**, 643 (1997).
26. Gey G.O. et al. *Cancer Res.*, **12**, 264 (1952).
27. Аникина Л.В. и др. *Фундаментальные исследования*, **12** (7), 1423 (2014).
28. Chen S. et al. *Rev. Sci. Instrum.*, **85**, 043504 (2014).
29. Nishiuchi M. et al. *Appl. Phys. Lett.*, **94**, 061107 (2009).
30. Albertazzi B. et al. *Rev. Sci. Instrum.*, **86**, 043502 (2015).
31. Toncian T. et al. *Science*, **312**, 410 (2006).
32. Бурдонов К.Ф. и др. *Квантовая электроника*, **43** (11), 1082 (2013).
33. Шайкин А.А. и др. *Квантовая электроника*, **44** (5), 426 (2014).
34. Mironov S.Yu. et al. *Laser Phys. Lett.*, **12** (2), 025301 (2015).
35. Esirkepov T.Zh. et al. *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Research A*, **745**, 150 (2014).