

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФЛЭШ-ЭФФЕКТА В РАДИОБИОЛОГИИ

© 2024 г. С.И. Глухов*, Е.А. Кузнецова*

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Институтская ул., 3, Пущино Московской области, 142290, Россия

*E-mail: serglukhovmb@gmail.com

Поступила в редакцию 15.03.2024 г.

После доработки 16.07.2024 г.

Принята к публикации 17.07.2024 г.

Использование ионизирующих излучений со сверхвысокой мощностью дозы, называемых флэш-облучением (≥ 40 Гр/с), способствует сохранению здоровых тканей с уровнем контроля над опухолью, сопоставимым с таковым при облучении со стандартной мощностью дозы. Настоящий обзор обобщает современные знания, посвященные исследованиям облучения опухолевых и нормальных клеточных линий, животных, включая опухоленосителей, в конвенциональном и флэш-режимах. Для сравнения приведены и данные по флэш-облучению фотонами, электронами, протонами, ионами гелия и углерода. Обсуждаются биофизические, молекулярно-биологические и иммунологические аспекты флэш-воздействия, необходимые для понимания радиационно-индуцированных процессов в клетках и тканях в целях совершенствования радиотерапии опухолей.

Ключевые слова: флэш-лучевая терапия, сверхвысокая мощность дозы, протонная и фотонная терапия, повреждение ДНК, апоптоз, биологические механизмы.

DOI: 10.31857/S0006302924040183, **EDN:** NFOYQ

В работе 1966 г. было обнаружено, что при подведении летальной дозы 10–14 Гр ионизирующего излучения ускоренными электронами лабораторным мышам С3Н с мощностью подведения дозы 1 Гр/с двумя фракциями, разделенными во времени интервалом длиной 10 мин, происходит существенное (до 2 раз) достоверное снижение пострадиационной гибели к 4-м суткам (ЛД_{50/4}), в то время как никакого снижения пострадиационной гибели при облучении с мощностью 0.017 Гр/с не происходило [1]. Дальнейший анализ показал, что при разделении на 2 пульса при подведении дозы со сверхвысокой мощностью дозы облучение вторым пульсом происходит в гипоксических условиях, эквивалентных атмосфере инертного газа (азота), что снижает радиационное поражение активированными формами кислорода на модели выживания HeLa S3 *in vitro* [2]. На модели кожной токсичности было показано еще большее увеличение снижения пострадиационного поражения при дальнейшем росте мощности подводимой дозы до 66.7 Гр/с уже за одну фракцию облучения, при этом снижение концентрации тканевого кислорода приводило к тому же

уровню снижения радиационной токсичности и для стандартного режима подведения дозы 0.085 Гр/с [3]

Развитие исследований по радиационной токсичности при подведении дозы облучения со сверхвысокой мощностью получило второе рождение в связи с расширением применения ускорителей элементарных частиц (электроны, протоны), заряженных ионов и, конечно, мощных лазеров рентгеновского излучения в радиотерапии опухолей. Для перспективной радиотерапии со сверхвысокой мощностью подведения дозы в 2010-е годы был предложен термин флэш-радиотерапии [4], а сохранение здоровых тканей при таком режиме подведения дозы получило название флэш-эффекта [5]. Снижение радиационной токсичности здоровых тканей при планировании лечения является бесспорным преимуществом перед традиционным режимом подведения дозы (1–3 Гр/мин). Тем не менее, локальная гипоксия, вероятно, важнейший фактор снижения радиационной токсичности при подведении дозы в режиме флэш, потенциально может снижать и противораковые свойства лечения, поскольку быстро растущие злокачественные новообразования, как правило, имеют сниженное обеспечение кислородом из-за отставания ангиогенеза [5]. Среди

Сокращения: ЛПЭ – линейная передача энергии, ИИ – ионизирующее излучение, АФК – активные формы кислорода.

биологических моделей, подвергнутых облучению, в исследованиях радиопротекторного и противоопухолевого флэш-эффекта были использованы: культуры клеток и образцы плазмидной ДНК *in vitro* [2, 6–26], а также *in vivo* с использованием моделей мышей [7, 8, 20, 27–49], крыс [6, 50–52], *Danio rerio* [53–57], минипигов и кошек [58], собак [59], *Caenorhabditis elegans* [60]. Помимо ряда доклинических модельных *in vivo* и ветеринарных испытаний (речь о которых пойдет дальше в соответствующем разделе), для оценки потенциала флэш-радиотерапии было проведено экспериментальное лечение ускоренными электронами в режиме флэш первого пациента, страдавшего кожной лимфомой, которая уже неоднократно подвергалась радиотерапии со стандартным режимом подведения дозы, равно как и успела развить множественную устойчивость к химиотерапевтическим средствам. Применение флэш-радиотерапии спустя 5 месяцев завершилось полной ремиссией с восстановлением кожного покрова и волосяных фолликулов [61]. В настоящее время завершилось первое клиническое испытание флэш-радиотерапии (FAST-01), показавшее сопоставимый со стандартной радиотерапией контроль метастаза костей [62, 63], сейчас осуществляется уже следующее испытание – FAST-02 [64].

Традиционно для медицины флэш-радиотерапия начала проходить клинические испытания, не имея полной картины радиобиологических механизмов флэш-воздействия. Тем не менее, ученые радиобиологи, медицинские физики, биомедики и радиоонкологи намерены понимать глубинных механизмов радиопротекторного флэш-эффекта, ищут новые способы для комбинирования флэш-радиотерапии с иными методами терапии опухолей: химиотерапией или иммунотерапией [65]. К настоящему моменту были проведены исследования радиопротекторных свойств флэш-воздействия для частиц с разной линейной передачей энергии (ЛПЭ): наибольшее число исследователей использовало частицы с умеренной и высокой ЛПЭ – электроны [2–4, 6, 8, 10–12, 23, 25–27, 29, 31, 33, 37, 38, 40, 41, 45, 47, 48, 50, 53, 55, 58–61, 66–72] и протоны [9, 17–22, 24, 28, 30, 32, 35, 42–44, 47, 49, 51–54, 56, 60, 73–80]. Реже были задействованы фотоны с низкой ЛПЭ [7, 16, 36, 39, 46, 66] или тяжелые частицы – ионы углерода [9, 13, 14, 34] или гелия [15, 57] с сугубо высокой ЛПЭ. Для разработки методов флэш-радиотерапии и ее комбинаций был произведен анализ современного состояния исследований природы радиопротекторного и противоопухолевого флэш-эффекта в рамках данного обзора.

ДОЗОВЫЙ ВОПРОС ВО ФЛЭШ-ЭФФЕКТЕ

В многочисленных работах по оценке радиопротекции было обнаружено лучшее сохранение

после воздействия ионизирующего излучения (ИИ) активно пролиферирующих тканей органов – кишечника, кожи, легочного эпителия, кроветворных тканей, а также меньшее нейровоспаление, сопряженное с сохранением когнитивных функций, и сохранение эмбрионального развития (табл. 1). При этом, как правило, радиопротекторный флэш-эффект наступал при воздействии доз не менее 10 Гр (за исключением кроветворной функции, где эффект виден уже при 4 Гр на мышинной модели и отчасти на модели эмбриогенеза перепелов).

Среди физико-химических гипотез, объясняющих радиопротекцию при флэш-воздействии, выделяют гипотезу истощения кислорода [2] при мощном кратковременном радиоллизе и гипотезу снижения числа свободных радикалов в межрадикальных реакциях, сконцентрированных во времени и пространстве при краткосрочном воздействии излучения [81], что может объяснять и необходимость набрать определенную дозу для достижения радиопротекции за счет количественного истощения кислорода. Также существуют гипотезы, базирующиеся на разном метаболизме разных типов нормальных и раковых клеток, в частности, на разнице в метаболизме железа и сопряженного с его накоплением роста вероятности ферроптоза [82], а также изменение на уровне общего кооперативного ответа, известного как эффект свидетеля при участии иммунной системы [83]. Известно, что разная энергия частиц, ЛПЭ, способны несколько по-разному осуществлять радиоллиз воды, а также повреждать биологические макромолекулы, в первую очередь ДНК, в разных типах клеток, что в дальнейшем может сказываться на окружающих облученные ткани необлученных областях организма посредством активации иммунитета при участии абскопального эффекта.

РАДИОЛИЗ ВОДЫ ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ПРИ СВЕРХВЫСОКОЙ МОЩНОСТИ ПОДВЕДЕНИЯ ДОЗЫ И КИСЛОРОДНЫЙ ЭФФЕКТ

Согласно главенствующей гипотезе, радиационное поражение ДНК в клетках осуществляется не непосредственно ионизирующими вещество лучами (высокоэнергетическими фотонами рентгеновского или гамма-излучения) или потоками ускоренных частиц – протонами, нейтронами, электронами, ионами гелия или более тяжелых атомов, а продуктами радиолиза воды [84] – активными формами кислорода и отчасти азота со значительно отличающимся сроком жизни [85]. Известно, что радиоллиз чистой воды сопряжен с последующим протеканием порядка 70-ти разных реакций рекомбинации, связанных с молекулами воды электронов (e_{aq}^-), атомов кисло-

Таблица 1. Радиопротекторный FLASH-эффект *in vivo*

№	Тип частиц	Режим подведения дозы, средняя Гр/с		Доза, Гр	Животная модель	Характер флэш-радиопротекции или ее отсутствие	Ссылка
		Флэш	Конвенциональный				
Флэш-радиопротекторный эффект присутствует							
1	He ⁴	?	?	18–24	<i>D. rerio</i> эмбрионы	Лучшая сохранность эмбриогенеза	[57]
2	e ⁻	≥280	0.25	5–15	C3H мыши	Лучшее сохранение кишечных крипт (1.1 раза) и меньшие нарушения микробиоты	[41]
3	e ⁻	200	0.17	27	C57BL/6 мыши	Лучшее сохранение кожи, эффект зависит от оксигенации	[70]
4	e ⁻	5.6 × 10 ⁶	0.09	2 × 10	C57Bl/6 мыши	Лучшее сохранение когнитивных функций, меньше повреждается гематоэнцефалический барьер, меньше пострadiационное воспаление	[45]
5	e ⁻	≥40	0.03	17	C57BL/6J или <i>Terc</i> ^{-/-} мыши	Лучше сохраняются стволовые клетки в легких, меньше маркеров старения	[26]
6	e ⁻	105	0.11	~26	<i>D. rerio</i> эмбрионы	Лучшая сохранность эмбриогенеза	[55]
7	e ⁻	>100	~0.1	10, 12, 14	<i>D. rerio</i> эмбрионы, C57Bl6/J мыши	Лучшее сохранение когнитивных функций, памяти, меньшее нейровоспаление, сохранение эмбриогенеза у зебрафиш	[72]
8	p ⁺	9.3 или 930	0.06	23, 33	Valb/c мыши	Меньшее общее поражение кожи при сходном уровне цитокинов	[75]
9	p ⁺	120	0.17	10	C57BL/6 мыши	Меньший уровень распада сосудистой сети, меньший уровень воспаления и релокализации HMGB1 в цитоплазму	[73]
10	p ⁺	100	0.1	10.5–16.3	C57BL/6 мыши	Лучшая выживаемость	[44]
11	p ⁺	~120	?	13, 16, 19, 22	C57BL/6J мыши	Лучшая выживаемость и снижение потери веса при 16 Гр	[28]
12	p ⁺	100	1	30, 35, 40 одновременно; 2×15, 2×17.2, 3×10, 3×11.6 с перерывом 2 мин	C57Bl/6j мыши	Лучшая радиопротекция кожи. Флэш-радиопротекция пропадает, если доза делилась на 3 интервала, и снижается, если на 2 интервала	[49]

Таблица 1. Окончание

№	Тип частиц	Режим подведения дозы, средняя Гр/с		Доза, Гр	Животная модель	Характер флэш-радиопротекции или ее отсутствие	Ссылка
		Флэш	Конвенционный				
13	p ⁺	130	0.4	25–30	FVB/N мыши	Лучшее сохранение кожи, эффект зависит от оксигенации	[42]
14	p ⁺	100	0.08	0–50	<i>D. rerio</i> эмбрионы	Меньше отек перикарда	[54]
15	p ⁺	8–9000	0.2	30, 40	<i>D. rerio</i> эмбрионы	Лучшая сохранность эмбриогенеза для 30 Гр	[56]
16	p ⁺	100 или 10 ⁶	1	4 или ~8.5	<i>C. japonica</i> эмбрионы	Лучшее сохранение эмбриогенеза	[103]
17	p ⁺ , e ⁻	177 или 278	0.13	?	<i>D. rerio</i> эмбрионы	Лучшая сохранность эмбриогенеза	[53]
18	p ⁺ , e ⁻	1000 (p ⁺), 126 (e ⁻)	0.033 (p ⁺), 0.17 (e ⁻)	10, 20	<i>C. elegans</i> эмбрионы	Лучшая сохранность эмбриогенеза	[60]
Флэш-радиопротекторный эффект отсутствует							
19	e ⁻	>100	~0,4	5, 8, 16	C57BL/6J мыши	нет	[48]
20	p ⁺	~120	0.05–0.4	15, 16, 17, 18	C57BL/6j мыши или <i>Rag1^{-/-}/C57</i> мыши	Повышенная смертность после флэш-режима для обеих моделей	[43]

Примечание. p⁺ – протоны, e⁻ – электроны, He⁴ – гелий.

рода и водорода, ионов гидроксония, молекул кислорода, озона, водорода, их анионов (ОН, Н₂, Н, НО₂⁻, НО₂, ОН⁻, О₂⁻, О₂, О⁻, О₃, О₃⁻, НО₃), перекиси водорода (Н₂О₂) и некоторых других продуктов радиолиза [86].

В живой системе ИИ воздействует на живую материю с разным уровнем организации и компартментализации – макромолекулярные комплексы; клеточные компартменты, органеллы и мембраны; клетки; ткани и органы живого организма. Высоко реакционноспособные активные формы кислорода (АФК) (ОН-радикал, супероксид-анион), реагирующие с ближайшей из возможных молекул в биологических системах, при-

водят к повреждению макромолекул – ДНК, белков, липидов – непосредственно в области воздействия ИИ. Долго живущие АФК, такие как перекись водорода, способны диффундировать через липидные мембраны клетки и, распространяясь с кровотоком, активировать иммунную систему, эндотелий сосудов рядом каскадов передачи сигнала далеко за пределами облученной области [87]. Продукты радиационного поражения макромолекул способны посредством абскопального эффекта инициировать комплексный ответ организма на радиационное повреждение [88]. Радиационное воздействие на живые организмы в условиях снижения растворенного кислорода увеличивают пострадиационное выживание, что

определяется меньшим уровнем АФК (HO_2^- и O_2^-), генерируемых ИИ в условиях гипоксии [89]. Особенностью облучения в режиме флэш является его исключительная краткосрочность (микро- или миллисекунды), потенциально меняющаяся вероятность взаимного гашения высокоактивных радикалов, диффузию АФК в клетке и в организме, локальные градиенты АФК. Исследования вероятности рекомбинации между собой радикалов ДНК с продукцией межцепочечных сшивок, тем не менее, не обнаружили увеличения их продукции при исследовании уровня дополнительной компактизации такими сшивками хвоста ДНК-кометы [69].

Анализ генерации ОН-радикала на биохимическом уровне был проведен в реакции с перекисью карбоксикумарином. Было показано, что при флэш режиме накапливается меньше ОН-радикалов. При этом исчерпание молекулярного кислорода ($\Delta p\text{O}_2$), растворенного в воде, происходит с меньшей скоростью, что свидетельствует в пользу меньшей продукции АФК (ОН-радикал) при флэш-воздействии вследствие вероятного взаимного уничтожения свободных радикалов [9]. Наряду с кумарином обнаружение характерного для флэш-режима подведения дозы окисления пептидов и белков может быть произведено и методом масс-спектрометрии белков облученных клеток [66]. Вовлечение растворенного кислорода в создание АФК *in vitro* при флэш-воздействии было проведено с помощью водорастворимого биологического совместимого сенсора — Охурфог 2Р. Было обнаружено, что падение уровня кислорода при достижении концентрации перекиси АФК — сывороточного альбумина — до уровня 3–5% (нормальный уровень альбумина сыворотки крови) в растворе достигается предельная скорость исчерпания растворенного кислорода при подведении дозы 20 Гр в режиме флэш (300 Гр/с, электроны, 10 МэВ) [8]. Как правило, флэш-радиопротекция достигается как раз при дозах не менее 10–20 Гр, а также 20–40 Гр, что говорит в пользу того, что практически все порожденные при флэш-воздействии высокорезистивные АФК успевают прореагировать между собой или с окружающими макромолекулами без дополнительного накопления более долгоживущих АФК типа перекиси водорода или избыточного накопления органических пероксидов. Так, при росте мощности подведения дозы с 0.06 Гр/с до >9.3 Гр/с объем облученной в кровеносных сосудах крови растет в 50–100 раз [75], а также известно, что при облучении воды в проточной ячейке регистрируемый уровень АФК может превосходить в тысячи раз таковой, регистрируемый в стоячей воде [90].

Серия экспериментов по облучению в условиях гипоксии показала возникновение или усиление радиопротекторного флэш-эффекта, в то

время как при исследованиях *in vitro* флэш-эффект при нормоксии и физиоксии чаще не наблюдался (табл. 2).

Снижение концентрации кислорода с 20.0 до 0.5% в среде с облучаемыми лимфоцитами приводит к росту доли (от общей совокупности с одноцепочечными разрывами ДНК) FPG-чувствительных сайтов в 2.3 раза с сопряженным уменьшением более окисных повреждений ДНК — одноцепочечных разрывов, в то время как облучение в конвенциональном режиме при аналогичном снижении концентрации кислорода в среде приводит к уменьшению доли FPG-чувствительных сайтов только в 1.3 раза. Дальнейшее снижение концентрации кислорода до 0.35% позволяет увеличить долю FPG-сайтов после конвенционального режима облучения до ≤ 2 раз [69]. При парциальном содержании кислорода 0.25–0.5% уровень щелочелавильных сайтов в ДНК облученных лимфоцитов был достоверно ниже после 20 Гр флэш-воздействия, в то время как при более 1% разница между режимами облучения пропадала [68]. Линия клеток рака простаты DU145 меньше гибнет при радиационном воздействии *in vitro* во время флэш-радиовоздействия при 1.6% кислорода [23]. Линия клеток китайского хомячка СНО-К1 показывает меньшую радиационную гибель в ответ на флэш-воздействие при 0.5% кислорода, в то же время при 0% и 21% радиационная гибель увеличивается [14]. Для легочных фибробластов и клеток аденокарциномы легкого — А549, Н1437 — показана лучшая пострадиационная выживаемость после флэш-облучения при 1% кислорода и дозе ≥ 8.5 Гр, при 4 Гр и большей концентрации кислорода радиопротекция исчезала [15]. На модели облучения 2D-клеточных культур и 3D-сфероидов из клеток той же культуры, имеющих гипоксическое ядро, для доз 10–15 Гр возрастает выживаемость клеток А549 при флэш-воздействии при росте доли гипоксических клеток в сфероиде. В 2D-культурах, где отсутствует гипоксическое ядро, не наблюдается рост устойчивости клеток к облучению при подведении его в режиме флэш. Для доз до 5 Гр и более 20 Гр разница была незначительна. В ряду клеточных культур разница в выживаемости сфероидов при 10 Гр флэш-облучения варьирует от 1.6 до >2.0: А549, НТ29, МДА-МВ-321 [10]. По критерию набора длины тела при облучении в условиях гипоксии во флэш-режиме меньше страдает эмбриогенез *D. rerio* [55]. При облучении в режиме флэш в тканях опухоли ксенографта МДА-МВ-231 и в прилегающих к здоровой коже мышце областях происходит снижение концентрации кислорода, причем в опухоли в более чем в 2 раза меньше (чем больше доза — 10, 20, 30 Гр, тем больше степень превосходства), а гипоксия длится 12–14 с. В то же время при конвенциональном режиме облучения (длящемся 250 с) не происходит никакого изменения кон-

Таблица 2. Цитотоксичность (при нормоксии или физиоксии) FLASH-режима в сравнении с конвенциональным режимом *in vitro* (клоногенный тест)

№	Тип частиц	Пик Брэгга (+/-/?)	Доза, Гр	Линия клеток (нормальная/раковая)	Цитотоксичность относительно стандартного режима	Ссылка
1	C ¹²	+/-	1–3	HFL1 (нормальная) HSGc-C5 (раковая)	Сопоставима	[13]
2	C ¹²	?	7.5	CHO-K1 (раковая)	Сопоставима	[14]
3	He ⁴	+/-	8, 12	A549 (раковая), H1437 (раковая)	Сопоставима	[15]
4	e ⁻	-	10–30	HeLa S3 (раковая)	Снижена	[2]
5	e ⁻	-	0–18	NS1 (раковая)	Снижена при 18 Гр	[6]
6	e ⁻	-	5–25	DU145 (раковая)	Снижена при 18 Гр и физиоксии	[2]
7	e ⁻	-	0–10	FaDu (раковая)	Сопоставима	[67]
8	e ⁻	-	0–5	SKX (раковая)	Сопоставима	[67]
9	e ⁻	-		HEK293T (нераковая)	Сопоставима	[25]
10	p ⁺	+	15	IMR90 (нормальная)	Снижена	[18]
11	p ⁺	?	15	A549 (раковая)	Повышена	[18]
12	p ⁺	+	0–10	IMR90 (нормальная)	Сопоставима	[19]
13	p ⁺	+/-	0–9	HSG (раковая)	Сопоставима	[24]

Примечание. p⁺ – протоны, e⁻ – электроны, He⁴ – гелий, C¹² – углерод.

центрации кислорода [8], что в совокупности с данными по усилению радиопротекторного флэш-эффекта [14, 15, 23, 55, 68, 69] при гипоксии свидетельствует в пользу важности вклада кислорода в природу радиопротекторного флэш-эффекта.

Серия экспериментов по облучению во флэш-режиме при увеличении парциального давления кислорода показала исчезновение радиопротекторного флэш-эффекта. Добавление кислорода в газовую смесь вентиляции легких до 100% приводит к исчезновению радиопротекторного эффекта на модели кожного поражения [70]. Доведение кислорода при вентиляции легких до 95% снижает протекцию когнитивных функций после флэш-воздействия [72]. Радиопротекция кожного покрова (рубцевание, толщина эпидермиса, толщина коллагена) после облучения в режиме флэш аннулируется использованием кислорода в ингаляционной газовой смеси [42]. Анализ прямого накопления перекиси водорода в чистой воде при концентрации растворенного кислорода 4% (физиологический уровень) также показал достоверно меньшее накопление перекиси в ответ

на флэш-режим воздействия электронного излучения [72]. Резкое снижение накопления перекиси водорода происходит при приближении мощности подведения дозы к 100 Гр/с [79].

Сравнение радиолитической воды пучками протонов 2 и 10 МэВ, осуществленное в замкнутой емкости, где останавливались все ускоренные частицы, показало существенно большее накопление перекиси водорода для протонов 2 МэВ [86, 91]. Поскольку для протонов с меньшей энергией в рамках условий эксперимента (протоны полностью останавливались в водной ячейке) большая доля дозы облучения приходится на конечный участок траектории протонов, приходящийся на пик Брэгга, то очевидно, что в пике Брэгга формируется большее число окислительных форм. флэш-эффект тем не менее был показан и при облучении в пике Брэгга.

Анализ вовлечения молекулярного кислорода в создание АФК измерялся по уровню истощения растворенного молекулярного кислорода при облучении с разной мощностью дозы (1, 3 и 50 Гр/с) рентгеном (225 КэВ), ускоренными протонами (225 МэВ) и ионами углерода (150 и

400 МэВ/нуклон) в замкнутой водной ячейке. Фотоны и частицы исчерпывают молекулярный кислород практически идентично друг другу [92]. Работа по определению уровня ОН-радикала с карбоксимарином показала, что и для протонов с низкой ЛПЭ (высокоэнергетические протоны 27.5 и 55 МэВ) и для тяжелых ионов с высокой ЛПЭ — ускоренных ионов углерода (140 МэВ/нуклон) — накопление 7-ОН-3-карбоксимарина происходит на сходном уровне [9]. Поскольку рост ЛПЭ частицы приводит к накоплению молекулярного кислорода в реакциях радиолитического разложения воды [86, 91, 93], то это чревато редуцированием локальной гипоксии при сверхмощном краткосрочном подведении дозы и может иметь дополнительные особенности в механизме реализации радиопротекторного флэш-эффекта, обнаруженного также для тяжелых ионов, как и для более легких частиц.

Среди наименее исследованных последствий радиолитического разложения воды сверхвысокой мощностью дозы также можно отметить мгновенное закисление среды [94] в случае флэш-воздействия большой суммарной дозой, способное оказывать влияние на pH даже в забуференной среде.

ПОВРЕЖДЕНИЕ ДНК ПРИ ФЛЭШ-ВОЗДЕЙСТВИИ

Оценка уровня повреждений ДНК в радиобиологии отягощена массовым окислением [68] продуктами радиолитического разложения не только отдельных нуклеотидов и азотистых оснований, возникающих в норме, но и группами поврежденных нуклеотидов (азотистых оснований, остатков рибозы) в комбинации с бесоснованными сайтами, межцепочечными и ДНК-белковыми сшивками. При значительных дозах радиации, а также после воздействия частиц с высокой ЛПЭ кластеры точечных повреждений сочетаются с множественными одноцепочечными разрывами и двухцепочечными разрывами сахаро-фосфатного остова ДНК [95]. Такие сложные для ферментативного анализа повреждения ДНК традиционно обнаруживаются по изменению размера фрагментов в анализах по изменению подвижности в геле или градиенте плотности очищенной от белков ДНК на уровне единичных клеток — метод ДНК-комет, или совокупной клеточной ДНК [96, 97]. Сложности с одновременным разделением слишком коротких и слишком длинных фрагментов ДНК, возникающие для методов на основе измерения подвижности, устраняются в методах, обнаруживающих работу ферментов репарации в области кластеров повреждений, получивших название «индуцированные излучением фокусы репарации» (IRIF) [98]. Для оценки степени повреждений ДНК после воздействия ИИ в режиме флэш были использованы методы обеих групп: метод ДНК-комет и

методы визуализации фокусов репарации — γ H2A.X и 53BP1.

Облучение в дозе 3 Гр клеток HeLa протонами (20 МэВ) на лазерном ускорителе протонов Мюнхенского тандемного ускорителя Университета Людвиг-Максимилиана приводило к генотоксическому стрессу (маркер γ H2A.X) при облучении во флэш-режимах 10^9 Гр/с или 10^4 Гр/с [99], что идентично данным, полученным на культуре нормальных фибробластов легких IMR90 [19]. При сравнении флэш-протонного излучения ($\sim 10^9$ Гр/с), конвенционального протонного или рентгеновского излучения в дозах 2–4 Гр не было обнаружено различий в индукции фокусов γ H2A.X на модели радиостойчивых клеточных линий глиобластомы SF763 и U87-MG [99]. На клеточных культурах A549, MRC5, IMR 90 при сравнении стандартного (0.03 Гр/с) и флэш (40 Гр/с) облучения электронами (4.5 МэВ) в дозе 5 Гр определяли наличие фокусов белков 53BP1 и γ H2A.X [100]. В данной работе отличия в клеточном ответе к 30 и 180 мин после облучения найдены не были. В другой работе той же научной группы было показано, что при флэш-облучении дозой 5 Гр достоверно снижается численность двухцепочечных разрывов ДНК по маркеру 53BP1, но не γ H2A.X в нормальных линиях фибробластов человека MRC5, IMR 90; в раковых клетках линии A549 нет достоверного снижения ни для одного из маркеров при сравнении разных режимов подведения дозы [19]. Группа исследователей под руководством Д.Ж. Бреннера на Радиологическом исследовательском ускорителе (США) провели исследования клеточных реакций на нормальных фибробластах человека (IMR90). Подведение доз вплоть до 10 Гр не обнаруживает различий в накоплении фокусов γ H2A.X к 30 мин после протонного облучения при сравнении режимов флэш (100 или 1000 Гр/с) и конвенционального (0.05 Гр/с) [19]. В работе с использованием ускорителя электронов [68] не было обнаружено изменения уровня вносимых повреждений ДНК при росте мощности подведения дозы с 30 Гр/с до 2000 Гр/с, в то время как в этой же работе стандартная мощность подведения дозы — 0.1–3.0 Гр/с — существенно отличалась по уровню повреждений от мощностей доз более 30 Гр/с. Эксперименты на медицинском ускорителе электронов (10 МэВ) Медицинского радиационно-физического подразделения Университета Лунда (Швеция) показали отсутствие существенной разницы в повреждении ДНК (53BP1 маркер двухцепочечных разрывов ДНК) для линий, демонстрировавших снижение клеточной гибели при флэш-режиме облучения (линии - MDA-MB-231, HeLa, LU-HNSCC4) для доз облучения в диапазоне 3–6 Гр [101]. Облучение клеток глиобластомы U87 не показало зависи-

мость уровня $\gamma\text{H2A.X}$ от режима подведения дозы на 1 и 24 ч после облучения [18].

В то время как для доз 6 Гр и менее радиопротекция генома, как правило, не наблюдается, при больших дозах появляется устойчивая тенденция к уменьшению уровня повреждений ДНК в ответ на флэш-воздействие. На линиях клеток аденокарциномы легкого A549 и немелкоклеточного рака легкого H1437 было показано существенно меньшее число фокусов репарации $\gamma\text{H2A.X}$ на 12 ч после облучения ионами гелия в режиме флэш при сниженном до 1% кислороде. При этом с ростом дозы от 8 до 12 Гр кратность различий возрастала на модели A549 с 1.5 до >2.0 раз [7]. Подведение дозы 20 Гр во флэш-режиме (100 или 1000 Гр/с) и в конвенциональном (0.05 Гр/с) при протонном облучении показало, что для дозы в 20 Гр наблюдается существенное снижение числа фокусов $\gamma\text{H2A.X}$ в облученных нормальных фибробластах человека в режиме 1000 Гр/с по сравнению с режимами 0.05 и 100 Гр/с (между которыми разницу обнаружить не удалось) через 30 мин после облучения [19]. Общий уровень повреждений ДНК в лимфоцитах крови, облученных *ex vivo*, как было установлено щелочной версией метода ДНК-комет, существенно растет после конвенционального режима облучения. При этом достоверно большие отличия в повреждениях ДНК данным методом обнаруживаются только для доз 20 Гр и более [69]. Достоверно меньший уровень повреждений ДНК по маркеру $\gamma\text{H2A.X}$ на 12 ч (не ранее 4 ч и не позднее 24 ч) наблюдался в столбчатых клетках кишечника после получения 14 Гр тотального облучения абдоминальной области у мышей в режиме флэш (флэш-режим — 216 Гр/с, конвенциональный — 0.079 Гр/с). В то же время в подсаженной опухоли линии ID8, эпителиальной раковой линии яичника мыши, разницы в эффективности внесения двухцепочечных разрывов не наблюдалось в течение всего периода наблюдения за накоплением маркера разрывов [29]. При облучении в дозе ~9.6 Гр (конвенциональный режим) в клетках головного мозга, начиная с 1 ч после облучения, наблюдается достоверное удвоение числа фокусов $\gamma\text{H2A.X}$ по сравнению с флэш; достоверность превосходства радиопротекции ДНК после флэш-режима сохраняется до 7 суток [19]. В работе совместной американо-корейской группы [102] отслеживался маркер разрывов ДНК — $\gamma\text{H2A.X}$ — и было обнаружено на 6-й час после облучения существенно большее повреждение ДНК (порядка 2 раз, ранее никем не регистрировавшееся) и в клетках опухоли, и в клетках эндотелия (CD31+) сосудов при конвенциональном облучении (0.06 Гр/с) при сравнении с флэш-облучением (350 Гр/с); использовались ускоренные электроны (16 МэВ). Несколько неожиданно в этой же работе обнаружили примерно 2-кратное увеличение уровня окислительного стресса (DCHFDA — сенсор АФК) к тому же 6-му

ч после облучения, что фиксировалось уже для флэш-режима подведения дозы, лишь отчасти объяснимое большей активностью нейтрофилов (S100A8+) в опухолях.

Для определения уровня одноцепочечных разрывов ДНК, возникающих при флэш-режиме облучения, было проведено два *in vitro* исследования по измерению потери суперскрученности кольцевой плазмидной ДНК pBR322 (для чего достаточно единичного одноцепочечного разрыва ДНК) и ее линеаризации (возникновения двухцепочечного разрыва). Более раннее исследование показало наличие флэш-радиопротекции в 25% в адрес возникновения только одноцепочечных разрывов, но не двухцепочечных для 100 МэВ пучка электронов, но не для пучков 200 или 300 МэВ; при этом рабочий диапазон доз составил 0 — ~60 Гр [11]. В следующей работе авторы, сравнивая уровни 20 и 30 Гр ускоренных электронов с терапевтической энергией 16 МэВ, обнаружили 1.5–3.0-кратную радиопротекцию после флэш-воздействия по уровню двухцепочечных разрывов и протекцию в 10–15% по уровню одноцепочечных разрывов [12].

Как и уровень двухцепочечных разрывов ДНК после относительно невысоких доз, уровень микроядер после 3 Гр протонного излучения не зависел от режима подведения дозы на *in vitro* моделях кератиноцитов [21] и HeLa [22]. В работе по анализу флэш-радиопротекции эмбрионального развития перепела японского было обнаружено, что в отличие от дозы 4 Гр, доза 8.5 Гр приводит к достоверному уменьшению числа эритроцитов периферической крови с микроядрами у эмбриона через 3.5 суток после облучения 5.5-суточных инкубационных яиц [103]. При анализе уровня персистирующих разрывов ДНК на модели облучения грудной клетки мышей дозой 17 Гр было показано достоверное снижение до 1.5 раз уровня маркера $\gamma\text{H2A.X}$ через 3 месяца после облучения [20]. В качестве дополнительного дестабилизирующего фактора после воздействия ИИ в режиме флэш был определен дефицит функции теломерызы на мышшиной *terc*^{-/-}-модели, где было показано, что генотип *terc*^{-/-} приводит к потере радиопротекции при флэш-режиме с развитием фиброза [19], что может быть связано с низким уровнем потенциала по репопуляции легочного эндотелия при сокращенных теломерах, отягощенных повреждениями ДНК. Анализ вероятности возникновения межхромосомных перестроек на модели индукции двухнитевого разрыва системой gRNA/Cas9 в клетках линии HEK293T не показал зависимости частоты возникновения транслокаций хромосом от режима подведения дозы (10 Гр) [25]. Работа, посвященная оценке активации cGAS-STING-иммунного ответа, связанного с систематическим ответом при участии интерферона (STING) в ответ на повышение кон-

центрации цитозольной фрагментированной ДНК и активацией циклоГМФ-АМФ синтазы (сGAS) в ответ на облучение рентгеном, показала активацию генов STING после конвенционального режима, но не флэш, при условии генетического нокдауна PD-L1 — контролера иммунного чекпойнта, а также большую степень присутствия ДНК в цитозоле нормальных клеток кишечных органоидов генотипа PD-L1-KO, но не для раковых клеток МС38 [7]. Митохондриальная ДНК, также активирующая в цитоплазме сGAS-зависимый путь активации стрессового ответа, меньше повреждается при облучении во флэш-режиме ускоренными протонами в пике Брэгга [18].

В среднем меньшая дестабилизация ДНК, обнаруживаемая после облучения в режиме флэш, в конечном итоге может быть одним из объяснений существенно меньшего клеточного старения, наблюдающегося после флэш-облучения, что обнаружено по уровню функционирования β-галактозидазы [19, 20, 26] и экспрессии TGF-β1 [19, 30, 46, 75] на фоне сниженного пострадиационного фиброза *in vivo* [7, 35]. Интересно, что в работах, где удалось показать радиопротекцию после флэш-режима облучения в тканях, относящихся к активно пролиферирующим, что выражалось в меньших кожных токсических поражениях, поражениях кишечника (табл. 2), кроветворной ткани [103], было показано и меньшее поражение ДНК, хотя и не всегда в явной форме: на фоне модифицированного генетического фона — инактивации PD-L1 [7] или теломеразного комплекса [20], что свидетельствует в пользу меньшего накопления скрытой нестабильности генома после флэш-режима облучения и в принципе согласуется с отсутствием разницы (при сравнении режимов флэш-облучения и конвенционального) в обнаружении повреждений ДНК в раковых линиях *in vitro*, клетках исходно менее генетически стабильных, где небольшие по степени повреждения ДНК растворяются в общей более выраженной массе спонтанных повреждений.

РАДИАЦИОННАЯ КЛЕТОЧНАЯ ГИБЕЛЬ: АПОПТОЗ, НЕКРОЗ, АУТОФАГИЯ, ПИРОПТОЗ

Традиционно исследования радиационного поражения связаны с оценкой степени радиационной гибели клеток в тканях и *in vitro* разными молекулярно-клеточными механизмами: апоптозом, некрозом, а также аутофагией, аутолизом, ассоциированным с активацией иммунитета продуктами клеточной гибели пироптозом и ассоциированным с пролонгированным окислительным стрессом и метаболизмом железа ферроптозом [104, 105]. Результаты изучения механизмов гибели при флэш-воздействии пока сильно ограничены и находятся на стадии накопления данных. Было проведено несколько исследований по

оценке разных механизмов клеточной гибели, большинство об активации апоптоза [16–18, 29, 31, 46, 77, 106], значительно меньше — некроза [17, 18, 106, 107], пироптоза [7] и аутофагии [18, 77]. Авторы большинства работ поддерживают большую активацию апоптоза и аутофагии после флэш-режима в противовес некрозу, либо меньшую активацию апоптоза в тканевых образцах облученных животных, где апоптоз определяли по окрашиванию ферментативно фрагментированной геномной ДНК методом TUNEL или по уровню Cas3-белка. Среди механистических работ присутствуют всего две. Было показано, что апоптоз запускается под контролем p53-Dp1-сигнального пути и задействует меньшее поражение митохондрий, а также больше активирует аутофагию после 15 Гр флэш-протонного воздействия в нормальных фибробластах, в то время как после идентичной дозы в конвенциональном режиме активируется некротическая гибель [18]. Также в данной работе было показано, что сходный более апоптотический фенотип обнаруживается и после конвенционального режима, но при условии на порядок меньшей дозы излучения. Интересно, что принципиально более апоптотический фенотип (~5× раз) после флэш и некротический (~3× раза) после конвенционального режима наблюдался через 4 ч после воздействия, а уже через 24 ч наблюдалось лишь 2-кратное превышение общего апоптоза/некроза после конвенционального режима. В данной статье использовались для облучения протоны пика Брэгга, что поднимает вопрос о вкладе мгновенного локального закисления среды [94, 108] и мембранного митохондриального потенциала и его связи с проницаемостью митохондриальной мембраны при развитии апоптоза [109].

ИММУННАЯ РЕАКЦИЯ И ЭФФЕКТ СВИДЕТЕЛЯ

Безусловно, первостепенной задачей радиотерапии опухоли является избавление пациента от опухоли, и только во вторую очередь учитывается возможное снижение побочных эффектов. Несмотря на то, что было проведено первое экспериментальное благополучное излечение пациента от местной кожной лимфомы флэш-радиотерапией пучком электронов [61], первые клинические испытания [62] завершаются (FAST-01) или идут (FAST-02). Для определения области применимости новой радиотерапии необходимы широкие доклинические испытания на базе животных моделей.

Среди работ по контролю роста опухолей можно выделить группы исследований по контролю роста опухолей мозга глиомы и глиобластомы, инокулированной как подкожно, так и внутривенно инъекцией (ортопически) на моделях мышей и крыс, а также самых разнообразных

подкожных и внутрибрюшинных графтов мышечных и человеческих линий раковых клеток (табл. 3).

Для внутричерепных графтов показано, что контроль опухоли не отягощен после флэш-воздействия избыточным иммунным воспалением, однако противоопухолевые свойства его не превосходят конвенциональное [6, 33, 52], вероятно, ввиду меньшего поражения и гематоэнцефалического барьера [45]. И хотя единственным исчерпывающим объяснением радиопротекторного флэш-эффекта специфическая активация иммунитета быть не может, что было показано сравнением в одной работе противоопухолевого ответа на моделях мышей с разной степенью иммунодефицита [37], где также не обнаружено и иного профиля иммунных клеток на модели ортотопической опухоли легкого, в ряде других работ, наоборот, обнаруживается более цитотоксический профиль иммунных клеток в опухоли после флэш-воздействия. Для некоторых случаев иммунного профиля дикого типа была показана лучшая инфильтрация цитотоксическими лимфоцитами CD8+ [46, 74], цитотоксическими макрофагами M1-подтипа [74] и, как правило, не худший, а иногда и лучший контроль опухоли, чем при конвенциональном режиме (табл. 3). При этом общий уровень воспалительных цитокинов [6, 37, 75] и профиль иммунных клеток часто не отличались между режимами [37, 38, 51]. Безусловно, большая статистика на разных генетических профилях опухолей, учитывающая и метаболизм раковой клетки в *in vivo* моделях, значительно востребована.

Уровень общего противоопухолевого ответа, активируемого путем так называемого радиобиологического эффекта свидетеля и общей активации иммунного ответа организма при вторичной инокуляции той же опухоли, был идентичен при флэш и конвенциональном режимах облучения [6], равно как и уровень иммунной памяти, проверенный повторной инокуляции той же опухоли спустя продолжительное время [37, 47]. В одной из работ было показано дополнительное усиление цитотоксических свойств T-клеток после флэш-воздействия в комбинации с анти-PD-1 иммунотерапией, что свидетельствует в пользу потенциала для развития комбинированной флэш-радио- и иммунотерапии [38].

В свете радиопротекторных свойств флэш-излучения в адрес гипоксических клеток, к которым относятся и раковые, интересно было бы определить, насколько повышаемая устойчивость раковых клеток к цитотоксическим лимфоцитам, возникающая в ответ на конвенциональное радиационное воздействие [110], сохраняется и при флэш-терапии, и какую роль в итоговом противоопухолевом ответе будут играть эти два взаимно уравновешивающих эффекта.

ИССЛЕДОВАНИЯ ФЛЭШ-ЭФФЕКТА В РОССИИ

Группа исследователей из Троицкого института инновационных и термоядерных исследований (ГНЦ РФ ТРИНИТИ, Троицк, Москва) совместно с Российским научным центром рентгено радиологии (Москва) и Московским научно-исследовательским онкологическим институтом им. П.А. Герцена, а также Объединенным институтом высоких температур РАН (Москва) изучала биологические эффекты воздействия фотонов и электронов с разной мощностью дозы с использованием терапевтического аппарата «Рокус-АМ» (гамма-излучение, мощность дозы 1 Гр/мин) и установок высокоинтенсивного тормозного излучения «Ангара-5-1» (200–600 кэВ, мощность дозы $(1-4) \times 10^9$ Гр/мин) и «Мир-М» (сильноточный наносекундный ускоритель электронов; выходная энергия — до 800 кВ, мощность дозы до 100 МГр/с). Показано, что в культивируемых клетках рака предстательной железы человека РС3, карциномы легкого (A549) и меланомы (MelMtp-x) человека фотонное излучение со сверхвысокой мощностью дозы индуцирует более значительные повреждения при дозах от 2 до 7 Гр, большее количество двунитевых разрывов ДНК по сравнению с таковыми после облучения на гамма-установке «Рокус-АМ», и различия более заметны при более высоких дозах облучения [111]; установила, что фотонное излучение со сверхвысокой мощностью дозы в диапазоне доз 1–6 Гр индуцирует апоптоз в лимфоцитах, выделенных из периферической крови здоровых доноров, в опухолевых линиях лимфоцитарного происхождения Raji и Jurkat (B- и T-клеточные лимфомы человека) достоверно выше, чем гамма-излучение с низкой мощностью дозы, одновременно в меньшей степени индуцируя некроз [16].

Другие исследователи из Института ядерных исследований РАН (ИЯИ, Троицк, Москва) совместно с Российским научным центром рентгено радиологии (Москва) и Институтом теоретической и экспериментальной биофизики РАН изучали биологические эффекты воздействия ускоренных протонов на культивируемые опухолевые (HCT116 и HT29) и нормальные (фибробласты ADSC) клетки человека в интервале доз 3–30 Гр в пике Брэгга и вне его с разной мощностью дозы. Был обнаружен высокий уровень апоптоза в опухолевых клетках; показано, что режим одноимпульсного протонного облучения в пике Брэгга позволяет снизить апоптоз нормальных клеток [106]. Облучение проводили с использованием сильноточного линейного ускорителя протонов Института ядерных исследований РАН, который имеет энергию 105–269 МэВ, частоту импульсов 1–100 Гц, длительность импульсов 0.3–100 мкс и ток от 0.1 мкА до 10 мА [112]. Ускоритель

Таблица 3. Контроль роста опухоли и иммунный ответ при флэш-радиотерапии

№	Тип частиц/волн	Режим подведения дозы, средняя мощность дозы (Гр/с), доза (Гр)			Характеристики биологических объектов и моделей		Флэш-эффекты		Ссылка
		Флэш	Конвенциональный	Доза, Гр	Графт (линия клеток)	Животное-опухоленоситель	Флэш-радиопротекция здоровых тканей	Флэш-усиление/ослабление противоопухолевой активности	
1	C^{12}	120	0.3	?	LM8	C3H/He мыши	Декларируется лучшее сохранение здоровых тканей	Лучшее подавление метастаз	[34]
2	?	200	0.033	20, 10×2	A549	Valb/c-ну мыши	Меньшая пострadiационная пневмония	Сопоставимо	[27]
3	Рентген	700–1200	0.1	12–30	EMT6	C57BL/6, BAL b/c мыши	Лучшая выживаемость	Лучший контроль роста опухоли при сходной выживаемости опухоленосителей	[39]
4	Рентген	100–120	0.03	13, 5×5	MC38	C57BL/6 мыши, PD-L1-KO	Меньше поражаются кишечные крипты при генотипе PD-L1-KO	Сопоставимо	[7]
5	Рентген	125	0.2	10	Pу8119 и Pу230	C57Bl/6 мыши	Лучшая сохранность кишечных крипт	Сопоставимо, лучше инфильтрация опухоли CD8+, но не CD4+	[46]
6	e^-	$2.5 \cdot 10^3 - 7.8 \cdot 10^6$	0.1	4×3.5, 2×7, 3×10, 14, 25 (полголовы)	H454/H454 Luc ⁺ ; U87/U87 Luc ⁺	Nude, мыши	Нет	Сопоставимо	[33]
7	e^-	270	0.12	3×6, 3×8, 11, 15, 25, 30	B16F10 GL261	C57BL/6, мыши	Небольшое превосходство в сохранении кожи при 25 Гр	Сопоставимо, для 11 Гр конв. Лучшее стимулирует CD8+ инфильтрацию опухоли	[40]
8	e^-	300	0.1	10, 20, 30	BSA до 5%, MDA-MB-231 ксенографт	Nude мыши	–	–	[8]
9	e^-	216	0.079	14 или 16	ID8	C57BL/6 мыши	Снижение функций пищеварения, плотности кишечных крипт, стволовых клеток, перфораций кишечника	Сопоставимо	[29]
10	e^-	210	0.126	14	ID8 и UPK10	C57BL/6 мыши	Сопоставимая с конвенциональным	Лучшая инфильтрация опухоли Т-лимфоцитами, сочетается с анти-PD-1 иммунотерапией	[38]
11	e^-	200	~0.07	4	M106, M108, M114	BRγс ^{-/-} мыши, NSG Z NOD/scid/IL-2Rg null мыши	Лучшее сохранение предшественников лимфоидной линии в гуманизированных мышях	Для 2 из 3 (M106, M114) генотипов принципиально лучшие противоопухолевые свойства, для третьего (M108) – лучшее лечение при стандартном режиме	[31]
12	e^-	70–90	0.13	3×8, 12.5, 15	NS1	Fisher 344 крысы	Нет	Сопоставимо	[50]

Таблица 3. Окончание

№	Тип частиц/волн	Режим подведения дозы, средняя мощность дозы (Гр/с), доза (Гр)			Характеристики биологических объектов и моделей		Флэш-эффекты		Ссылка
		Флэш	Конвенционный	Доза, Гр	Графт (линия клеток)	Животное-опухолоноситель	Флэш-радиопротекция здоровых тканей	Флэш-усиление/ослабление противоопухолевой активности	
13	e^-	66	0.13	1–18, 2×8, 2×12.5	NS1	Fisher 344 крысы	-	Лучший контроль подкожного графта, активация иммунитета, но не для внутричерепного	[6]
14	e^-	2000	0.1	20, 2×6, 3×8	SV2, MEERL95, GL261, H454, U87, RKO	C57BL/6J мыши, Swiss nude: NU[Ico]-Foxn1nu мыши, NRG:NOD-Rag1null IL2rgnull мыши	-	Сопоставимо	[37]
15	p^+	~257	~4	25	?	Крысы	Лучшее сохранение когнитивных функций	Сопоставимо	[52]
16	p^+	60	0.05	?	?	?	Нет	Лучший контроль роста опухоли, больше соотношение CD8 ⁺ /t _{per} лимфоцитов и M1/M2 макрофагов в опухоли	[74]
17	p^+	89	0.33–0.63	40–60	C3H	CDF1	Меньше фиброза и кожного изъязвления	Сопоставимо	[35]
18	p^+	69–124	~1	12, 30–45	LSL-KrasG12D/wt; p53FL/FL	C57BL/6, C3H/HeJ мыши; собаки	Лучшая сохранность мышц и костей	Сопоставимо	[30]
19	p^+	~78	~0.9	15, 18	MH641905	C57BL/6J мыши	Лучшая толщина мышц кишечника, число возобновленных кишечных крипт	Сопоставимо	[32]
20	p^+	~257	~4	15, 25	RG2	Fischer 344 крысы	Быстрее происходит заживление кожи, эффект зависит от кислорода	Сопоставимо	[51]
21	p^+	~257	~4	25	RG2	Fischer 344 крысы	Меньше поражаются когнитивные функции	Сопоставимо	[52]
22	p^+, e^-	≥110	0.1	10, 20	GL261	C57BL/6J мышь	Лучшее сохранение когнитивных свойств, сходное для протонов и электронов	Сопоставимо	[47]

Примечание. p^+ – протоны, e^- – электроны, C^{12} – углерод, Рентген – рентгеновские лучи.

позволяет облучать в разных режимах: одноимпульсный флэш-режим (сокращенно назван SPLASH) при $\sim 10^6$ Гр/с, «обычный» флэш-режим при ~ 100 Гр/с и конвенциональный режим при < 1 Гр/с. Проведен анализ влияния мощности дозы на развитие эмбрионов при облучении яиц перепела японского (*Coturnix japonica*) в трех указанных режимах. Обнаружили протекторный эффект флэш/SPLASH-облучения по критериям смертности эмбрионов, массы и длины тела эмбрионов, количества эритроцитов с аномалиями (двухядерные, безъядерные, с микроядрами) в крови эмбрионов и птенцов, скорости перемещения однодневных птенцов [103].

В Объединенном институте ядерных исследований (ОИЯИ, Дубна) пилотные работы по исследованию флэш-эффекта были начаты еще в 2020 г. на пучке действующего ускорителя фазотрон с энергией протонов 660 МэВ и максимальным током 1 мкА. С этой целью был сформирован однородный в сечении протонный пучок с диаметром около 45 мм (по 90%-й изодозе) и мощностью дозы 70 Гр/с. Определение выживаемости культивируемых клеток карциномы легкого человека A549 проводили после облучения на протонном пучке фазотрона ОИЯИ методом «на пролет» в двух режимах (стандартном, при мощности дозы около 0.1 Гр/с, и во флэш-режиме, при мощности дозы 70 Гр/с), был выявлен значимый протекторный флэш-эффект только при больших дозах — 4 и 6 Гр [113]. В настоящее время предусматривается создание инновационного центра для проведения экспериментальных и клинических исследований в области протонной терапии. Пилотной установкой будущего медицинского центра станет протонный медицинский ускоритель MSC-230, который планируется реализовать уже в 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из анализа литературы видно, что эффект флэш может как снизить токсичность для нормальных тканей, так и повысить эффективность уничтожения опухоли. Тем не менее, сообщалось, что многочисленные исследования предполагают небольшую разницу, отсутствие различий в задержке роста опухоли или даже обратную разницу флэш-терапии по сравнению с облучением с обычной мощностью дозы [32]. Здесь необходимо отметить, что эти исследования могли быть проведены с другими параметрами луча или за пределами тех параметров облучения, которые необходимы для получения значительного флэш-эффекта, и подчеркивают тот факт, что критические физические параметры, необходимые для запуска этого биологического эффекта, до сих пор полностью не изучены. В целом данные исследований в настоящее время указывают на три потенциальных механизма повышения вероятно-

сти контроля над опухолью при возможности снижения осложнений в нормальных тканях во время флэш-облучения частицами. В частности, шадящие эффекты для нормальных тканей возникают из-за: быстрого истощения кислорода, меньшего поражения ДНК и дифференцированного иммунного ответа. Требуется дальнейшее исследование *in vivo* и *in vitro* ввиду определенной осторожности при клинической интерпретации полученных к настоящему времени результатов: в большинстве таких исследований используется облучение до пика и в пике Брэгга, строго не соответствующее объему опухоли; существуют вопросы к дозиметрии, оксигенации мишени, роли генетического и метаболического фона.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы искренне благодарят заведующего лабораторией медицинской физики ИЯИ РАН д.ф.-м.н. С.В. Акулиничева за ценные консультации по протонному облучению с разной мощностью дозы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнялась в рамках Государственного задания для ИТЭБ РАН (№ 075-00224-24-00).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hornsey S. and Alper T. Unexpected Dose-rate Effect in the Killing of Mice by Radiation. *Nature*, **210** (5032), 212–213 (1966). DOI: 10.1038/210212a0
2. Town C. D. Effect of high dose rates on survival of mammalian cells. *Nature*, **215** (5103), 847–848 (1967). DOI: 10.1038/215847a0
3. Field S. B. and Bewley D. K. Effects of dose-rate on the radiation response of rat skin. *Int. J. Radiat. Biol.*, **26** (3), 259–267 (1974). DOI: 10.1080/09553007414551221
4. Favaudon V., Caplier L., Monceau V., Pouzoulet F., Sayarath M., Fouillade C., Poupon M.-F., Brito I., Hupé P., Bourhis J., Hall J., Fontaine J.-J., and Vozenin M.-C. Ultrahigh dose-rate FLASH irradiation increases the differential response between normal and tumor tissue in mice. *Sci. Translat. Med.*, **6** (245), 245ra93 (2014). DOI: 10.1126/scitranslmed.3008973
5. Atkinson J., Bezak E., Le H., and Kempson I. The current status of FLASH particle therapy: a systematic re-

- view. *Phys. Engineer. Sci. Med.*, **46** (2), 529–560 (2023). DOI: 10.1007/s13246-023-01266-z
6. Liljedahl E., Konradsson E., Gustafsson E., Jonsson K. F., Olofsson J. K., Ceberg C., and Redebbrandt H. N. Long-term anti-tumor effects following both conventional radiotherapy and FLASH in fully immunocompetent animals with glioblastoma. *Sci. Rep.*, **12** (1), 12285 (2022). DOI: 10.1038/s41598-022-16612-6
 7. Shi X., Yang Y., Zhang W., Wang J., Xiao D., Ren H., Wang T., Gao F., Liu Z., Zhou K., Li P., Zhou Z., Zhang P., Shen X., Liu Y., Zhao J., Wang Z., Liu F., Shao C., Wu D., and Zhang H. FLASH X-ray spares intestinal crypts from pyroptosis initiated by cGAS-STING activation upon radioimmunotherapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119** (43), e2208506119 (2022). DOI: 10.1073/pnas.2208506119
 8. Cao X., Zhang R., Esipova T. V., Allu S. R., Ashraf R., Rahman M., Gunn J. R., Bruza P., Gladstone D. J., Williams B. B., Swartz H. M., Hoopes P. J., Vinogradov S. A., and Pogue B. W. Quantification of oxygen depletion during flash irradiation *in vitro* and *in vivo*. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **111** (1), 240–248 (2021). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2021.03.056
 9. Kusumoto T., Inaniwa T., Mizushima K., Sato S., Hojo S., Kitamura H., Konishi T., and Kodaira S. Radiation chemical yields of 7-hydroxy-coumarin-3-carboxylic acid for proton- and carbon-ion beams at ultra-high dose rates: potential roles in FLASH effects. *Radiat. Res.*, **198** (3), 255–262 (2022). DOI: 10.1667/RADE-21-00.230.1
 10. Khan S., Bassenne M., Wang J., Manjappa R., Melemenidis S., Breittkretz D. Y., Maxim P. G., Xing L., Loo B. W., and Pratz G. Multicellular spheroids as *in vitro* models of oxygen depletion during FLASH irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **110** (3), 833–844 (2021). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2021.01.050
 11. Small K. L., Henthorn N. T., Angal-Kalinin D., Chadwick A. L., Santana E., Aitkenhead A., Kirkby K. J., Smith R. J., Surman M., Jones J., Farabolini W., Corsini R., Gamba D., Gilardi A., Merchant M. J., and Jones R. M. Evaluating very high energy electron RBE from nanodosimetric pBR322 plasmid DNA damage. *Sci. Rep.*, **11** (1), 3341 (2021). DOI: 10.1038/s41598-021-82772-6
 12. Perstin A., Poirier Y., Sawant A., and Tambasco M. Quantifying the DNA-damaging effects of FLASH irradiation with plasmid DNA. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **113** (2), 437–447 (2022). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2022.01.049
 13. Tashiro M., Yoshida Y., Oike T., Nakao M., Yusa K., Hirota Y., and Ohno T. First human cell experiments with FLASH carbon ions. *Anticancer Res.*, **42** (5), 2469–2477 (2022). DOI: 10.21873/anticancer.15725
 14. Tinganelli W., Sokol O., Quartieri M., Puspitasari A., Dokic I., Abdollahi A., Durante M., Haberer T., Debus J., Boscolo D., Voss B., Brons S., Schuy C., Horst F., and Weber U. Ultra-high dose rate (FLASH) carbon ion irradiation: dosimetry and first cell experiments. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **112** (4), 1012–1022 (2022). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2021.11.020
 15. Tessonnier T., Mein S., Walsh D. W. M., Schuhmacher N., Liew H., Cee R., Galonska M., Scheloske S., Schömers C., Weber U., Brons S., Debus J., Haberer T., Abdollahi A., Mairani A., and Dokic I. FLASH dose rate helium ion beams: first *in vitro* investigations. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **111** (4), 1011–1022 (2021). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2021.07.1703
 16. Bozhenko V. K., Ivanov A. V., Kulinich T. M., Smirnov V. P., Shishkin A. M., and Solodky V. A. Comparison of biological effects of γ -radiation of low and ultra-high dose rate on lymphocytes and cultured human malignant lymphoma cells. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **166** (6), 785–787 (2019). DOI: 10.1007/s10517-019-04440-0
 17. Han J., Mei Z., Lu C., Qian J., Liang Y., Sun X., Pan Z., Kong D., Xu S., Liu Z., Gao Y., Qi G., Shou Y., Chen S., Cao Z., Zhao Y. Y., Lin C., Zhao Y. Y., Geng Y., Chen J., Yan X., Ma W., and Yang G. Ultra-high dose rate FLASH irradiation induced radio-resistance of normal fibroblast cells can be enhanced by hypoxia and mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome *c*. *Front. Cell Develop. Biol.*, **9** (4), 672929 (2021). DOI: 10.3389/fcell.2021.672929
 18. Guo Z., Buonanno M., Harken A., Zhou G., and Hei T. K. Mitochondrial damage response and fate of normal cells exposed to FLASH irradiation with protons. *Radiat. Res.*, **197** (6), 569–582 (2022). DOI: 10.1667/RADE-21-00181.1
 19. Buonanno M., Grilj V., and Brenner D. J. Biological effects in normal cells exposed to FLASH dose rate protons. *Radiotherapy and Oncology*, **139** (10), 51–55 (2019). DOI: 10.1016/j.radonc.2019.02.009
 20. Schmid T. E., Dollinger G., Hable V., Greubel C., Zlobinskaya O., Michalski D., Auer S., Friedl A. A., Schmid E., Molls M., and Röper B. The effectiveness of 20 MeV protons at nanosecond pulse lengths in producing chromosome aberrations in human-hamster hybrid cells. *Radiat. Res.*, **175** (6), 719–727 (2011). DOI: 10.1667/RR2465.1
 21. Schmid T. E., Dollinger G., Hable V., Greubel C., Zlobinskaya O., Michalski D., Auer S., Friedl A. A., Schmid E., Molls M., and Röper B. Relative biological effectiveness of pulsed and continuous 20 MeV protons for micronucleus induction in 3D human reconstructed skin tissue. *Radiotherapy and Oncology*, **95** (1), 66–72 (2010). DOI: 10.1016/j.radonc.2010.03.010
 22. Schmid T. E., Dollinger G., Hauptner A., Hable V., Greubel C., Auer S., Friedl A. A., Molls M., and Röper B. No evidence for a different RBE between pulsed and continuous 20 MeV protons. *Radiat. Res.*, **172** (5), 567–574 (2009). DOI: 10.1667/RR1539.1
 23. Adrian G., Konradsson E., Lempart M., Bäck S., Ceberg C., and Petersson K. The FLASH effect depends on oxygen concentration. *Br. J. Radiol.*, **93** (1106), 20190702 (2020). DOI: 10.1259/bjr.20190702
 24. Matsuura T., Egashira Y., Nishio T., Matsumoto Y., Wada M., Koike S., Furusawa Y., Kohno R., Nishiooka S., Kameoka S., Tsuchihara K., Kawashima M., and Ogino T. Apparent absence of a proton beam dose rate effect and possible differences in RBE between Bragg peak and plateau. *Med. Phys.*, **37** (10), 5376–5381 (2010). DOI: 10.1118/1.3490086
 25. Barghouth P. G., Melemenidis S., Montay-Gruel P., Ollivier J., Viswanathan V., Jorge P. G., Soto L. A., Lau B. C., Sadeghi C., Edlabadkar A., Zhang R.,

- Ru N., Baulch J. E., Manjappa R., Wang J., Le Bou-teiller M., Surucu M., Yu A., Bush K., Skinner L., Maxim P. G., Loo B. W., Limoli C. L., Vozenin M. C., and Frock R. L. FLASH-RT does not affect chromo-some translocations and junction structures beyond that of CONV-RT dose-rates. *Radiotherapy and Oncology*, **188** (11), 109906 (2023). DOI: 10.1016/j.radonc.2023.109906
26. Fouillade C., Curras-Alonso S., Giuranno L., Quelenec E., Heinrich S., Bonnet-Boissinot S., Beddo A., Leboucher S., Karakurt H. U., Bohec M., Baulande S., Vooijs M., Verrelle P., Dutreix M., Londoño-Vallejo A., and Favaudon V. FLASH irradiation spares lung progenitor cells and limits the incidence of radio-induced senescence. *Clin. Cancer Res.*, **26** (6), 1497–1506 (2020). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1440
 27. Dai Y., Liang R., Wang J., Zhang J., Wu D., Zhao R., Liu Z., and Chen F. Fractionated FLASH radiation in xenografted lung tumors induced FLASH effect at a split dose of 2 Gy. *Int. J. Radiat. Biol.*, **99** (10), 1542–1549 (2023). DOI: 10.1080/09553002.2023.2194403
 28. Zhang Q., Cascio E., Li C., Yang Q., Gerweck L. E., Huang P., Gottschalk B., Flanz J., and Schuemann J. FLASH investigations using protons: design of delivery system, preclinical setup and confirmation of FLASH effect with protons in animal systems. *Radiat. Res.*, **194** (6), 656–664 (2020). DOI: 10.1667/RADE-20-00068.1
 29. Levy K., Natarajan S., Wang J., Chow S., Eggold J. T., Loo P. E., Manjappa R., Melemenidis S., Lartey F. M., Schüller E., Skinner L., Rafat M., Ko R., Kim A., Al-Rawi D. H., von Eyben R., Dorigo O., Casey K. M., Graves E. E., Bush K., Yu A. S., Koong A. C., Maxim P. G., Loo B. W., and Rankin E. B. Abdominal FLASH irradiation reduces radiation-induced gastro-intestinal toxicity for the treatment of ovarian cancer in mice. *Sci. Rep.*, **10** (1), 21600 (2020). DOI: 10.1038/s41598-020-78017-7
 30. Velalopoulou A., Karagounis I. V., Cramer G. M., Kim M. M., Skoufos G., Goia D., Hagan S., Verginadis I. I., Shoniyozov K., Chiango J., Cerullo M., Varner K., Yao L., Qin L., Hatzigeorgiou A. G., Minn A. J., Putt M., Lanza M., Assenmacher C.-A. A., Radaelli E., Huck J., Diffenderfer E., Dong L., Metz J., Koumenis C., Cengel K. A., Maity A., and Busch T. M. Flash proton radiotherapy spares normal epithelial and mesenchymal tissues while preserving sarcoma response. *Cancer Res.*, **81** (18), 4808–4821 (2021). DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-21-1500
 31. Chabi S., To Th. H. V., Leavitt R., Poglio S., Jorge P. G., Jaccard M., Petersson K., Petit B., Roméo P.-H. H., Pflumio F., Vozenin M.-C. C., and Uzan B. Ultra-high-dose-rate FLASH and conventional-dose-rate irradiation differentially affect human acute lymphoblastic leukemia and normal hematopoiesis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **109** (3), 819–829 (2021). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2020.10.012
 32. Diffenderfer E. S., Verginadis I. I., Kim M. M., Shoniyozov K., Velalopoulou A., Goia D., Putt M., Hagan S., Avery S., Teo K., Zou W., Lin A., Swisher-McClure S., Koch C., Kennedy A. R., Minn A., Maity A., Busch T. M., Dong L., Koumenis C., Metz J., and Cengel K. A. Design, implementation, and in vivo validation of a novel proton FLASH radiation therapy system. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **106** (2), 440–448 (2020). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2019.10.049
 33. Montay-Gruel P., Acharya M. M., Jorge P. G., Petit B., Petridis I. G., Fuchs P., Leavitt R., Petersson K., Gondre M., Ollivier J., Moeckli R., Bochud F., Bailat C., Bourhis J., Germond J.-F. F., Limoli C. L., and Vozenin M.-C. C. Hypofractionated FLASH-RT as an effective treatment against glioblastoma that reduces neurocognitive side effects in mice. *Clin. Cancer Res.*, **27** (3), 775–784 (2021). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-0894
 34. Tinganelli W., Weber U., Puspitasari A., Simoniello P., Abdollahi A., Oppermann J., Schuy C., Horst F., Helm A., Fournier C., and Durante M. FLASH with carbon ions: tumor control, normal tissue sparing, and distal metastasis in a mouse osteosarcoma model. *Radiotherapy and Oncology*, **175** (10), 185–190 (2022). DOI: 10.1016/j.radonc.2022.05.003
 35. Sørensen B. S., Sitarz M. K., Ankjærgaard C., Johansen J. G., Andersen C. E., Kanouta E., Grau C., and Poulsen P. Pencil beam scanning proton FLASH maintains tumor control while normal tissue damage is reduced in a mouse model. *Radiotherapy and Oncology*, **175** (10), 178–184 (2022). DOI: 10.1016/j.radonc.2022.05.014
 36. Smyth L. M. L., Donoghue J. F., Ventura J. A., Livingstone J., Bailey T., Day L. R. J., Crosbie J. C., and Rogers P. A. W. Comparative toxicity of synchrotron and conventional radiation therapy based on total and partial body irradiation in a murine model. *Sci. Rep.*, **8** (1), 12044 (2018). DOI: 10.1038/s41598-018-30543-1
 37. Almeida A., Godfroid C., Leavitt R. J., Montay-Gruel P., Petit B., Romero J., Ollivier J., Meziani L., Sprengers K., Paisley R., Grilj V., Limoli C. L., Romero P., and Vozenin M.-C. C. Antitumor effect by either FLASH or conventional dose rate irradiation involves equivalent immune responses. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **118** (4), 1110–1122 (2023). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2023.10.031
 38. Eggold J. T., Chow S., Melemenidis S., Wang J., Natarajan S., Loo P. E., Manjappa R., Viswanathan V., Kidd E. A., Engleman E., Dorigo O., Loo B. W., and Rankin E. B. Abdominopelvic FLASH irradiation improves PD-1 immune checkpoint inhibition in preclinical models of ovarian cancer. *Mol. Cancer Therapeut.*, **21** (2), 371–381 (2022). DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-21-0358
 39. Gao F., Yang Y., Zhu H., Wang J., Xiao D., Zhou Z., Dai T., Zhang Y., Feng G., Li J., Lin B., Xie G., Ke Q., Zhou K., Li P., Shen X., Wang H., Yan L., Lao C., Shan L., Li M., Lu Y., Chen M., Feng S., Zhao J., Wu D. and Du X. First demonstration of the FLASH effect with ultrahigh dose rate high-energy X-rays. *Radiotherapy and Oncology*, **166** (1), 44–50 (2022). DOI: 10.1016/j.radonc.2021.11.004
 40. Duval K. E. A., Aulwes E., Zhang R., Rahman M., Ashraf M. R., Sloop A., Sunnerberg J., Williams B. B., Cao X., Bruza P., Kheirollah A., Tavakkoli A., Jarvis L. A., Schaner P. E., Swartz H. M., Gladstone D. J., Pogue B. W., and Hoopes P. J. Comparison of tumor control and skin damage in a mouse model after ultrahigh dose rate irradiation and conventional irradiation.

- Radiat. Res.*, **200** (3), 223–231 (2023). DOI: 10.1667/RADE-23-00057
41. Ruan J. L., Lee C., Wouters S., Tullis I. D. C., Verslegers M., Mysara M., Then C. K., Smart S. C., Hill M. A., Muschel R. J., Giaccia A. J., Vojnovic B., Kiltie A. E., and Petersson K. Irradiation at ultra-high (FLASH) dose rates reduces acute normal tissue toxicity in the mouse gastrointestinal system. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **111** (5), 1250–1261 (2021). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2021.08.004
 42. Zhang Q., Gerweck L.E., Cascio E., Yang Q., Huang P., Niemierko A., Bertolet A., Nesteruk K. P., McNamara A., and Schuemann J. Proton FLASH effects on mouse skin at different oxygen tensions. *Phys. Med. Biol.*, **68** (5), 055010 (2023). DOI: 10.1088/1361-6560/acb888
 43. Zhang Q., Gerweck L. E., Cascio E., Gu L., Yang Q., Dong X., Huang P., Bertolet A., Nesteruk K. P., Sung W., McNamara A. L., and Schuemann J. Absence of tissue-sparing effects in partial proton FLASH irradiation in murine intestine. *Cancers*, **15** (8), 2269 (2023). DOI: 10.3390/cancers15082269
 44. Evans T., Cooley J., Wagner M., Yu T., and Zwart T. Demonstration of the FLASH effect within the spread-out bragg peak after abdominal irradiation of mice. *Int. J. Particle Therapy*, **8** (4), 68–75 (2022). DOI: 10.14338/IJPT-20-00095
 45. Allen B. D., Alagband Y., Kramár E. A., Ru N., Petit B., Grilj V., Petronek M. S., Pulliam C. F., Kim R. Y., Doan N. L., Baulch J. E., Wood M. A., Bailat C., Spitz D. R., Vozenin M. C., and Limoli C. L. Elucidating the neurological mechanism of the FLASH effect in juvenile mice exposed to hypofractionated radiotherapy. *Neuro-Oncology*, **25** (5), 927–939 (2023). DOI: 10.1093/neuonc/noac248
 46. Zhu H., Xie D., Wang Y., Huang R., Chen X., Yang Y., Wang B., Peng Y., Wang J., Xiao D., Wu D., Qian C. N., and Deng X. Comparison of intratumor and local immune response between MVX-ray FLASH and conventional radiotherapies. *Clin. Translat. Rad. Oncol.*, **38** (11), 138–146 (2023). DOI: 10.1016/j.ctro.2022.11.005
 47. Almeida A., Togno M., Ballesteros-Zebadua P., Franco-Perez J., Geyer R., Schaefer R., Petit B., Grilj V., Meer D., Safai S., Lomax T., Weber D. C., Bailat C., Psoroulas S., and Vozenin M.C. Dosimetric and biologic intercomparison between electron and proton FLASH beams. *Radiotherapy and Oncology*, **190** (1), 109953 (2024). DOI: 10.1016/j.radonc.2023.109953
 48. Cuitiño M. C., Fleming J. L., Jain S., Cetnar A., Ayan A. S., Woollard J., Manring H., Meng W., McElroy J. P., Blakaj D. M., Gupta N., and Chakravarti A. Comparison of gonadal toxicity of single-fraction ultra-high dose rate and conventional radiation in mice. *Adv. Radiat. Oncol.*, **8** (4), 101201 (2023). DOI: 10.1016/j.adro.2023.101201
 49. Mascia A., McCauley S., Speth J., Nunez S. A., Boivin G., Vilalta M., Sharma R. A., Perentesis J. P., and Sertorio M. Impact of multiple beams on the FLASH effect in soft tissue and skin in mice. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **118** (1), 253–261 (2024). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2023.07.024
 50. Konradsson E., Liljedahl E., Gustafsson E., Adrian G., Beyer S., Ilaahi S. E., Petersson K., Ceberg C., and Nittby Redebrandt H. Comparable long-term tumor control for hypofractionated FLASH versus conventional radiation therapy in an immunocompetent rat glioma model. *Adv. Radiat. Oncol.*, **7** (6), 101011 (2022). DOI: 10.1016/j.adro.2022.101011
 51. Iturri L., Bertho A., Lamirault C., Brisebard E., Juchaux M., Gilbert C., Espenon J., Sébrié C., Jourdain L., de Marzi L., Pouzoulet F., Muret J., Verrelle P., and Prezado Y. Oxygen supplementation in anesthesia can block FLASH effect and anti-tumor immunity in conventional proton therapy. *Commun. Medicine*, **3** (1), 183 (2023). DOI: 10.1038/s43856-023-00411-9
 52. Iturri L., Bertho A., Lamirault C., Juchaux M., Gilbert C., Espenon J., Sebrié C., Jourdain L., Pouzoulet F., Verrelle P., De Marzi L., and Prezado Y. Proton FLASH radiation therapy and immune infiltration: evaluation in an orthotopic glioma rat model. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **116** (3), 655–665 (2023). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2022.12.018
 53. Karsch L., Pawelke J., Brand M., Hans S., Hideghéty K., Jansen J., Lessmann E., Löck S., Schürer M., Schurig R., Seco J., Szabó E. R., and Beyreuther E. Beam pulse structure and dose rate as determinants for the flash effect observed in zebrafish embryo. *Radiotherapy and Oncology*, **173** (8), 49–54 (2022). DOI: 10.1016/j.radonc.2022.05.025
 54. Beyreuther E., Brand M., Hans S., Hideghéty K., Karsch L., Leßmann E., Schürer M., Szabó E. R., and Pawelke J. Feasibility of proton FLASH effect tested by zebrafish embryo irradiation. *Radiotherapy and Oncology*, **139** (10), 46–50 (2019). DOI: 10.1016/j.radonc.2019.06.024
 55. Pawelke J., Brand M., Hans S., Hideghéty K., Karsch L., Lessmann E., Löck S., Schürer M., Szabó E. R., and Beyreuther E. Electron dose rate and oxygen depletion protect zebrafish embryos from radiation damage. *Radiotherapy and Oncology*, **158** (5), 7–12 (2021). DOI: 10.1016/j.radonc.2021.02.003
 56. Saade G., Bogaerts E., Chiavassa S., Blain G., Delpon G., Evin M., Ghannam Y., Haddad F., Haustermans K., Koumeir C., Macaeva E., Maigne L., Mouchard Q., Servagent N., Sterpin E., Supiot S., and Potiron V. Ultrahigh-dose-rate proton irradiation elicits reduced toxicity in zebrafish embryos. *Adv. Radiat. Oncol.*, **8** (2), 101124 (2023). DOI: 10.1016/j.adro.2022.101124
 57. Ghannam Y., Chiavassa S., Saade G., Koumeir C., Blain G., Delpon G., Evin M., Haddad F., Maigne L., Mouchard Q., Servagent N., Potiron V., and Supiot S. First evidence of in vivo effect of FLASH radiotherapy with helium ions in zebrafish embryos. *Radiotherapy and Oncology*, **187** (8), 109820 (2023). DOI: 10.1016/j.radonc.2023.109820
 58. Bley C. R., Wolf F., Jorge P. G., Grilj V., Petridis I., Petit B., Bohlen T. T., Moeckli R., Limoli C., Bourhis J., Meier V., and Vozenin M.-C. C. Dose- and volume-limiting late toxicity of FLASH radiotherapy in cats with squamous cell carcinoma of the nasal planum and in mini pigs. *Clin. Cancer Res.*, **28** (17), 3814–3823 (2022). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-22-0262
 59. Børresen B., Arendt M. L., Konradsson E., Bastholm Jensen K., Bäck S. J., Munck af Rosenschöld P., Ceberg C., and Petersson K. Evaluation of single-fraction

- high dose FLASH radiotherapy in a cohort of canine oral cancer patients. *Front. Oncol.*, **13** (9), 1256760 (2023). DOI: 10.3389/fonc.2023.1256760
60. Schoenauen L., Stubbe F.-X. X., Van Gestel D., Penning S., and Heuskin A.-C. C. *C. elegans*: A potent model for high-throughput screening experiments investigating the FLASH effect. *Clin. Translat. Radiat. Oncol.*, **45** (12), 100712 (2024). DOI: 10.1016/j.ctro.2023.100712
 61. Bourhis J., Sozzi W. J., Jorge P. G., Gaide O., Bailat C., Duclos F., Patin D., Ozsahin M., Bochud F., Germond J.-F., Moeckli R., and Vozenin M.-C. Treatment of a first patient with FLASH-radiotherapy. *Radiotherapy and Oncology*, **139** (10), 18–22 (2019). DOI: 10.1016/j.radonc.2019.06.019
 62. Daugherty E. C., Mascia A. E., Sertorio M. G. B., Zhang Y., Lee E., Xiao Z., Speth J., Woo J., McCann C., Russell K., Levine L., Sharma R., Khuntia D., Perentesis J. P., and Breneman J. C. FAST-01: Results of the first-in-human study of proton FLASH radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **114** (3), S4 (2022). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2022.07.2325
 63. Daugherty E. C., Mascia A., Zhang Y., Lee E., Xiao Z., Sertorio M., Woo J., McCann C., Russell K., Levine L., Sharma R., Khuntia D., Bradley J., Simone II C. B., Perentesis J., and Breneman J. FLASH Radiotherapy for the treatment of symptomatic bone metastases (FAST-01): protocol for the first prospective feasibility study. *JMIR Res. Protocols*, **12**, e41812 (2023). DOI: 10.2196/41812
 64. Spruijt K., Mossahebi S., Lin H., Lee E., Kraus J., Dhabaan A., Poulsen P., Lowe M., Ayan A., Spiessens S., Godart J., and Hoogeman M. Multi-institutional consensus on machine QA for isochronous cyclotron-based systems delivering ultra-high dose rate (FLASH) pencil beam scanning proton therapy in transmission mode. *Med. Phys.*, **51** (2), 786–798 (2023). DOI: 10.1002/mp.16854
 65. Gregucci F., Spada S., Barcellos-Hoff M. H., Bhardwaj N., Chan Wah Hak C., Fiorentino A., Guha C., Guzman M. L., Harrington K., Herrera F. G., Honeychurch J., Hong T., Iturri L., Jaffee E., Karam S. D., Knott S. R. V., Koumenis C., Lyden D., Marciscano A. E., Melcher A., Mondini M., Mondino A., Morris Z. S., Pitroda S., Quezada S. A., Santambrogio L., Shiao S., Stagg J., Telarovic I., Timmerman R., Vozenin M.-C., Weichselbaum R., Welsh J., Wilkins A., Xu C., Zappasodi R., Zou W., Bobard A., Demaria S., Galluzzi L., Deutsch E., and Formenti S. C. Updates on radiotherapy-immunotherapy combinations (Proc. 6th Annu. ImmunoRad Conf.) *Oncoimmunology*, **12** (1), 2222560 (2023). DOI: 10.1080/2162402X.2023.2222560
 66. Gupta S., Inman J. L., De Chant J., Obst-Huebl L., Nakamura K., Costello S. M., Marqusee S., Mao J. H., Kunz L., Paisley R., Vozenin M. C., Snijders A. M., and Ralston C. Y. A novel platform for evaluating dose rate effects on oxidative damage to peptides: toward a high-throughput method to characterize the mechanisms underlying the FLASH effect. *Radiat. Res.*, **200** (6), 523–530 (2023). DOI: 10.1667/RADE-23-00131.1
 67. Beyreuther E., Karsch L., Laschinsky L., Leßmann E., Naumburger D., Oppelt M., Richter C., Schürer M., Woithe J. and Pawelke J. Radiobiological response to ultra-short pulsed megavoltage electron beams of ultra-high pulse dose rate. *Int. J. Radiat. Biol.*, **91** (8), 643–652 (2015). DOI: 10.3109/09553002.2015.1043755
 68. Cooper C. R., Jones D., Jones G. D., and Petersson K. FLASH irradiation induces lower levels of DNA damage ex vivo, an effect modulated by oxygen tension, dose, and dose rate. *Br. J. Radiol.*, **95** (1133), 20211150 (2022). DOI: 10.1259/bjr.20211150
 69. Cooper C. R., Jones D. J. L., Jones G. D. D., and Petersson K. Comet assay profiling of FLASH-induced damage: mechanistic insights into the effects of FLASH irradiation. *Int. J. Mol. Sci.*, **24** (8), 7195 (2023). DOI: 10.3390/ijms24087195
 70. Tavakkoli A. D., Clark M. A., Kheirollah A., Sloop A. M., Soderholm H. E., Daniel N. J., Petusseau A. F., Huang Y. H., Thomas C. R. Jr., Jarvis L. A., Zhang R., Pogue B. W., Gladstone D. J., and Hoopes P. J. Anesthetic Oxygen Use and Sex Are Critical Factors in the FLASH Sparing Effect. *Adv. Rad. Oncol.*, **9** (6), 101492 (2024). DOI: 10.1016/j.adro.2024.101492
 71. Gaide O., Herrera F., Jeanneret Sozzi W., Gonçalves Jorge P., Kinj R., Bailat C., Duclos F., Bochud F., Germond J. F., Gondré M., Boelhen T., Schiappacasse L., Ozsahin M., Moeckli R., and Bourhis J. Comparison of ultra-high versus conventional dose rate radiotherapy in a patient with cutaneous lymphoma. *Radiotherapy and Oncology*, **174** (9), 87–91 (2022). DOI: 10.1016/j.radonc.2021.12.045
 72. Montay-Gruel P., Acharya M. M., Petersson K., Alikhani L., Yakkala C., Allen B. D., Ollivier J., Petit B., Jorge P. G., Syage A. R., Nguyen T. A., Baddour A. A. D., Lu C., Singh P., Moeckli R., Bochud F., Germond J.-F. F., Froidevaux P., Bailat C., Bourhis J., Vozenin M.-C. C., and Limoli C. L. Long-term neurocognitive benefits of FLASH radiotherapy driven by reduced reactive oxygen species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116** (22), 10943–10951 (2019). DOI: 10.1073/pnas.1901777116
 73. Dokic I., Meister S., Bojceviski J., Tessonier T., Walsh D., Knoll M., Mein S., Tang Z., Vogelbacher L., Rittmueller C., Moustafa M., Kronic D., Brons S., Haberter T., Debus J., Mairani A., and Abdollahi A. Neuroprotective effects of ultra-high dose rate FLASH Bragg peak proton irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **113** (3), 614–623 (2022). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2022.02.020
 74. Shukla S., Saha T., Rama N., Acharya A., Le T., Bian F., Donovan J., Tan L.A., Vatner R., Kalinichenko V., Mascia A., Perentesis J. P., and Kalin T. V. Ultra-high dose-rate proton FLASH improves tumor control. *Radiotherapy and Oncology*, **186** (9), 109741 (2023). DOI: 10.1016/j.radonc.2023.109741
 75. Rudigkeit S., Schmid T. E., Dombrowsky A. C., Stolz J., Bartzsch S., Chen C. B., Matejka N., Sammer M., Bergmaier A., Dollinger G., and Reindl J. Proton-FLASH: effects of ultra-high dose rate irradiation on an in-vivo mouse ear model. *Sci. Rep.*, **14** (1), 1418 (2024). DOI: 10.1038/s41598-024-51951-6
 76. Yin L., Masumi U., Ota K., Sforza D. M., Miles D., Rezaee M., Wong J. W., Jia X., and Li H. Feasibility of synchrotron-based ultra-high dose rate (UHDR) proton irradiation with pencil beam scanning for FLASH research. *Cancers*, **16** (1), 221 (2024). DOI: 10.3390/cancers16010221

77. Yang G., Lu C., Mei Z., Sun X., Han J., Qian J., Liang Y., Pan Z., Kong D., Xu S., Liu Z., Gao Y., Qi G., Shou Y., Chen S., Cao Z., Zhao Y. Y., Lin C., Zhao Y. Y., Geng Y., Ma W., and Yan X. Association of cancer stem cell radio-resistance under ultra-high dose rate FLASH irradiation with lysosome-mediated autophagy. *Front. Cell Develop. Biol.*, **9** (4), 672693 (2021). DOI: 10.3389/fcell.2021.672693
78. Liu G., Zhao L., Li X., Zhang S., Dai S., Lu X., and Ding X. A novel ultrahigh-dose-rate proton therapy technology: spot-scanning proton arc therapy + FLASH (SPLASH). *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **117** (3), 730–737 (2023). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2023.05.012
79. Blain G., Vandenborre J., Villoing D., Fiegel V., Fois G. R., Haddad F., Koumeir C., Maigne L., Métivier V., Poirier F., Potiron V., Supiot S., Servagent N., Delpon G., and Chiavassa S. Proton irradiations at ultra-high dose rate vs. conventional dose rate: strong impact on hydrogen peroxide yield. *Radiat. Res.*, **198** (3), 318–324 (2022). DOI: 10.1667/RADE-22-00021.1
80. Metzkes-Ng J., Brack F. E., Kroll F., Bernert C., Bock S., Bodenstern E., Brand M., Cowan T. E., Gebhardt R., Hans S., Helbig U., Horst F., Jansen J., Kraft S. D., Krause M., Leßmann E., Löck S., Pawelke J., Püschel T., Reimold M., Rehwald M., Richter C., Schlenvoigt H. P., Schramm U., Schürer M., Seco J., Szabó E. R., Umlandt M. E. P., Zeil K., Ziegler T., and Beyreuther E. The Dresden platform is a research hub for ultra-high dose rate radiobiology. *Sci. Rep.*, **13** (1), 20611 (2023). DOI: 10.1038/s41598-023-46873-8
81. Labarbe R., Hotoiu L., Barbier J., and Favaudon V. A physicochemical model of reaction kinetics supports peroxy radical recombination as the main determinant of the FLASH effect. *Radiotherapy and Oncology*, **153** (12), 303–310 (2020). DOI: 10.1016/j.radonc.2020.06.001
82. Spitz D. R., Buettner G. R., Petronek M. S., St-Aubin J. J., Flynn R. T., Waldron T. J., and Limoli C. L. An integrated physico-chemical approach for explaining the differential impact of FLASH versus conventional dose rate irradiation on cancer and normal tissue responses. *Radiotherapy and Oncology*, **139** (10), 23–27 (2019). DOI: 10.1016/j.radonc.2019.03.028
83. Bertho A., Iturri L., and Prezado Y. Radiation-induced immune response in novel radiotherapy approaches FLASH and spatially fractionated radiotherapies. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, **376**, 37–68 (2023). DOI: 10.1016/bs.ircmb.2022.11.005
84. Daniels M. and Wigg E. Oxygen as a primary species in radiolysis of water. *Science (New York)*, **153** (3743), 1533–1534 (1966). DOI: 10.1126/science.153.3743.1533
85. Buxton G. V., Greenstock C. L., Helman W. P., and Ross A. B. Critical-review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen-atoms and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}^-$) in aqueous-solution. *J. Phys. Chem. Refer. Data*, **17** (2), 513–886 (1988). DOI: 10.1063/1.555805
86. Pastina B. and LaVerne J. A. Effect of molecular hydrogen on hydrogen peroxide in water radiolysis. *J. Phys. Chem. A*, **105** (40), 9316–9322 (2001). DOI: 10.1021/jp012245j
87. Lennicke C. and Cochemé H. M. Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function. *Mol. Cell*, **81** (18), 3691–3707 (2021). DOI: 10.1016/j.molcel.2021.08.018
88. Hu S. and Shao C. Research progress of radiation induced bystander and abscopal effects in normal tissue. *Rad. Med. Protection*, **1** (2), 69–74 (2020). DOI: 10.1016/j.radmp.2020.04.001
89. Lai Y., Jia X., and Chi Y. Modeling the effect of oxygen on the chemical stage of water radiolysis using GPU-based microscopic Monte Carlo simulations, with an application in FLASH radiotherapy. *Phys. Med. Biol.*, **66** (2), 25004 (2021). DOI: 10.1088/1361-6560/abc93b
90. Domnanich K. A. and Severin G. W. A model for radiolysis in a flowing-water target during high-intensity proton irradiation. *ACS Omega*, **7** (29), 25860–25873 (2022). DOI: 10.1021/acsomega.2c03540
91. Pimblott S. M. and LaVerne J. A. Stochastic simulation of the electron radiolysis of water and aqueous solutions. *J. Phys. Chem. A*, **101** (33), 5828–5838 (1997). DOI: 10.1021/jp970637d
92. Jansen J., Knoll J., Beyreuther E., Pawelke J., Skuza R., Hanley R., Brons S., Pagliari F., and Seco J. Does FLASH deplete oxygen? Experimental evaluation for photons, protons, and carbon ions. *Med. Phys.*, **48** (7), 3982–3990 (2021). DOI: 10.1002/mp.14917
93. Meesungnoen J. and Jay-Gerin J.-P. High-LET ion radiolysis of water: oxygen production in tracks. *Radiat. Res.*, **171** (3), 379–386 (2009). DOI: 10.1667/RR1468.1
94. Jay-Gerin J.-P. P. Ultra-high dose-rate (FLASH) radiotherapy: Generation of early, transient, strongly acidic spikes in the irradiated tumor environment. *Cancer/Radiothérapie*, **24** (4), 332–334 (2020). DOI: 10.1016/j.canrad.2019.11.004
95. Mladenova V., Mladenov E., Stuschke M., and Iliakis G. DNA damage clustering after ionizing radiation and consequences in the processing of chromatin breaks. *Molecules*, **27** (5), (2022). DOI: 10.3390/molecules27051540
96. Hada M. and Sutherland B. M. Spectrum of complex DNA damages depends on the incident radiation. *Radiat. Res.*, **165** (2), 223–230 (2006). DOI: 10.1667/RR3498.1
97. Hada M. and Georgakilas A. G. Formation of clustered DNA damage after high-LET irradiation: a review. *J. Radiat. Res.*, **49** (3), 203–210 (2008). DOI: 10.1269/jrr.07123
98. Goodarzi A. A. and Jeggo P. A. Irradiation induced foci (IRIF) as a biomarker for radiosensitivity. *Mutation Res.*, **736** (1–2), 39–47 (2012). DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2011.05.017
99. Auer S., Hable V., Greubel C., Drexler G. A., Schmid T. E., Belka C., Dollinger G., and Friedl A. A. Survival of tumor cells after proton irradiation with ultra-high dose rates. *Radiat. Oncol.*, **6** (1), 139 (2011). DOI: 10.1186/1748-717X-6-139
100. Beddok A., Fouillade C., Queleñec E., and Favaudon V. OC-0030: *In vitro* study of FLASH vs. conventional dose-rate irradiation: Cell viability and DNA damage repair. *Radiotherapy and Oncology*, **123** (S1), S9–S10 (2017). DOI: 10.1016/S0167-8140(17)30474-7

101. Adrian G., Konradsson E., Beyer S., Wittrup A., Butterworth K. T., McMahon S. J., Ghita M., Petersson K., and Ceberg C. Cancer cells can exhibit a sparing FLASH effect at low doses under normoxic *in vitro*-conditions. *Front. Oncol.*, **11** (7), 686142 (2021). DOI: 10.3389/fonc.2021.686142
102. Kim Y.-E., Gwak S.-H., Hong B.-J., Oh J.-M., Choi H.-S., Kim M. S., Oh D., Lartey F. M., Rafat M., Schöler E., Kim H.-S., von Eyben R., Weissman I. L., Koch C. J., Maxim P. G., Loo Jr. B. W., and Ahn G.-O. Effects of Ultra-high dose-rate FLASH irradiation on the tumor microenvironment in lewis lung carcinoma: role of myosin light chain. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **109** (5), 1440–1453 (2021). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2020.11.012
103. Akulinichev S. V., Glukhov S. I., Gavrilov Y. K., Kokontsev D. A., Kuznetsova E. A., Martynova V. V., and Yakovlev I. A. The Flash Mode of Proton Irradiation in the Bragg Peak Partly Spares the Embryogenesis of the Quail. *BioRxiv*, 2024.01.27.577528 (2024). DOI: 10.1101/2024.01.27.577528
104. Jiao Y., Cao F., and Liu H. Radiation-induced Cell Death and Its Mechanisms. *Health Phys.*, **123** (5), 376–386 (2022). DOI: 10.1097/HP.0000000000001601
105. Park W., Wei S., Kim B.-S., Kim B., Bae S.-J., Chae Y. C., Ryu D., and Ha K.-T. Diversity and complexity of cell death: a historical review. *Exp. Mol. Med.*, **55** (8), 1573–1594 (2023). DOI: 10.1038/s12276-023-01078-x
106. Akulinichev S. V., Gavrilov Y. K., Glukhov S. I., Ivanov A. V., Kokontsev D. A., Kulinich T. M., Kuznetsova E. A., Martynova V. V., and Yakovlev I. A. Analysis of Cell Response to Ultrahigh Dose-Rate Proton Irradiation. *Bull. Russ. Acad. Sci.: Physics*, **87** (8), 1221–1225 (2023). DOI: 10.3103/S1062873823702830
107. Paganetti H. A review on lymphocyte radiosensitivity and its impact on radiotherapy. *Front. Oncol.*, **13** (8), 1201500 (2023). DOI: 10.3389/fonc.2023.1201500
108. Kanike V., Meesungnoen J., and Jay-Gerin J.-P. P. Acid spike effect in spurs/tracks of the low/high linear energy transfer radiolysis of water: potential implications for radiobiology. *RSC Advances*, **5** (54), 43361–43370 (2015). DOI: 10.1039/c5ra07173a
109. Bock F. J. and Tait S. W. G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **21** (2), 85–100 (2020). DOI: 10.1038/s41580-019-0173-8
110. Tuomela K., Mukherjee D., Ambrose A. R., Harikrishnan A., Mole H., Hurlstone A., Onfelt B., Honeychurch J., and Davis D. M. Radiotherapy transiently reduces the sensitivity of cancer cells to lymphocyte cytotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119** (3), e2111900119 (2022). DOI: 10.1073/pnas.2111900119
111. Кулинич Т. М., Крастелев Е. Г., Быков Ю. А., Смирнов В. П., Шишкин А. М., Иванов А. В. и Боженко В. К. Исследование уровня дунитевых разрывов ДНК и механизмов клеточной гибели при воздействии на клетки рака легкого и меланомы фотонного излучения сверхвысокой мощности. *Вестн. РГМУ*, № 5, 76–82 (2018). DOI: 10.24075/vrgmu.2018.066
112. Akulinichev S. V., Vasiliev V. N., Gavrilov Y. K., Kokontsev D. A., Kravchuk L. V., Martynova V. V., and Yakovlev I. A. Possibilities of Proton FLASH Therapy on the Accelerator at the Russian Academy of Sciences' Institute for Nuclear Research. *Bull. Russ. Acad. Sci.: Physics*, **84** (11), 1325–1329 (2020). DOI: 10.3103/S1062873820110039
113. Рзянина А. В., Мицын Г. В., Агапов А. В., Грицкова Е. А., Углова С. С., Гаевский В. Н., Шипулин К. Н. и Хасенова И. Исследование выживаемости опухолевых клеток линии A549 при облучении протонным пучком во флэш- и стандартном режимах (Препринт ОИЯИ, Дубна, 2023). [http://www1.jinr.ru/Preprints/2023/31\(P19-2023-31\).pdf](http://www1.jinr.ru/Preprints/2023/31(P19-2023-31).pdf).

Molecular Mechanisms of FLASH Effect in Radiobiology

S.I. Glukhov* and E.A. Kuznetsova*

*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

The use of ultra-high dose-rate ionizing radiation, termed FLASH irradiation (≥ 40 Gy/s), contributes to healthy tissue sparing while maintaining tumor control compared to conventional dose rate irradiation. This review summarizes current knowledge dedicated to studies of tumor and normal cell lines, animals including tumor-bearing ones irradiated in conventional and FLASH dose rate irradiation modes. As a comparison, data on FLASH irradiation with photons, electrons, protons, helium and carbon ions are also presented. The biophysical, molecular biological and immunological aspects of FLASH effect which are essential for understanding the radiation-induced processes in cells and tissues in order to improve radiotherapy of tumors are discussed.

Keywords: FLASH radiation therapy, ultra-high dose rate, proton and photon therapy, DNA damage, apoptosis, biological mechanisms