

С.А. Абдуллаев^{1,2,3}, Д.В. Фомина^{1,3}, В.О. Менухов^{1,2}, М.В. Душенко¹,
А.В. Точиленко⁴, Т.П. Калинин⁵, Э.В. Евдокимовский²

ИЗМЕНЕНИЕ КОПИЙНОСТИ И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ мтДНК В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ МЫШЕЙ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ОБЛУЧЕНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино

³ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

⁴ Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва

⁵ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

Контактное лицо: Серажутдин Абдуллаевич Абдуллаев, e-mail: saabdullaev@gmail.com

РЕФЕРАТ

Цель: Оценить изменение копиюности и экспрессии генов мтДНК в различных тканях мышей, подвергшихся локальному облучению головного мозга.

Материал и методы: В исследовании использовались самцы мышей линии *Balb/c* двухмесячного возраста. Рентгеновскому облучению в дозе 5 Гр (мощность 2,5 Гр/мин) подвергалась только голова мыши. После извлечения ткани гомогенизировались на льду, после чего масса гомогената разделялась на две части для выделения нуклеиновых кислот. Жидкая кровь собиралась отдельно, после чего ядродержащие клетки крови разделялись на фракции гранулоцитов и моноцитов методом дифференциального центрифугирования в градиенте плотности диаколла. Оценка общего числа копий мтДНК и экспрессии генов проводилась методом ПЦР в реальном времени.

Результаты: Показано, что в ядродержащих клетках крови после облучения повышается относительное количество транскриптов митохондриального гена *ATP6*. В гранулоцитах этот эффект выражен намного сильнее, чем в моноцитах. В эти же самые сроки количество митохондриальной ДНК в ядродержащих клетках крови снижается относительно контрольного уровня в 2–3 раза. В головном мозге, подвергшемся облучению, также наблюдается увеличение относительного количества транскриптов мтДНК примерно в 3 раза по сравнению с контролем. В органах, не подвергшихся облучению (сердце, печень, селезенка), наблюдается такой же эффект, что и в головном мозге, а именно, увеличение относительного количества транскриптов мтДНК. Число копий самой мтДНК в клетках головного мозга, после резкого повышения через сутки после облучения, резко снижается и остается таким до самого окончания эксперимента через 30 сут. В клетках печени и сердца происходит противоположный процесс, а именно, значительное увеличение числа копий мтДНК, с максимумом на 14–21 сут с момента облучения.

Заключение: Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о том, что наблюдаемые изменения скорее всего обусловлены возникновением «эффекта свидетеля», возникшего после локального облучения головного мозга рентгеновским излучением в дозе 5 Гр.

Ключевые слова: мтДНК, эффект свидетеля, окислительный стресс, рентгеновское облучение, головной мозг, мышцы

Для цитирования: Абдуллаев С.А., Фомина Д.В., Менухов В.О., Душенко М.В., Точиленко А.В., Калинин Т.П., Евдокимовский Э.В. Изменение копиюности и экспрессии генов мтДНК в различных тканях мышей при локальном облучении головного мозга // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2025. Т. 70. № 2. С. 16–22. DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-2-16-22

S.A. Abdullaev^{1,2,3}, D.V. Fomina^{1,3}, V.O. Menukhov^{1,2}, M.V. Dushenko¹,
A.V. Tochilenko⁴, T.P. Kalinin⁵, E.V. Evdokimovskii²

Changes in the Copy Number and Gene Expression of mtDNA in Various Tissues of Mice Exposed to Local Brain Irradiation

¹ N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Moscow, Russia

² Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Pushchino, Russia

³ A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

⁴ National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia

⁵ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Contact person: S.A. Abdullaev, e-mail: saabdullaev@gmail.com

ABSTRACT

Purpose: To determine changes in the copy number and gene expression of mtDNA in various tissues of mice subjected to local irradiation of the brain.

Material and methods: Male *Balb/c* mice aged 2 months were used. Only the head of the mouse was exposed to X-ray irradiation at a dose of 5 Gy (power 2.5 Gy/min). After removal from the animals, the tissues were homogenized on ice, after which the homogenate mass was divided into two parts to isolate nucleic acids. Liquid blood was collected separately, after which nucleated blood cells were separated into

granulocyte and monocyte fractions by differential centrifugation by Diacoll density gradient. The total number of mtDNA copies and gene expression were assessed using real-time PCR.

Results: It was shown that in nucleated blood cells, after irradiation, the relative number of transcripts of the mitochondrial gene *ATP6* increases. In granulocytes, this effect is much more pronounced than in monocytes. At the same time, the amount of mitochondrial DNA in nucleated blood cells decreases relative to the control level by 2–3 times. In the brain exposed to irradiation, an increase in the relative amount of mtDNA transcripts by about 3 times is also observed, compared to the control. In organs not exposed to irradiation (heart, liver, spleen), the same effect is observed as in the brain, namely, an increase in the relative amount of mtDNA transcripts. The number of copies of mtDNA itself in brain cells, after a sharp increase a day after irradiation, sharply decreases and remains so until the end of the experiment, 30 days later. In liver and heart cells, the opposite process occurs, namely, a significant increase in the number of mtDNA copies, with a maximum at 14–21 days from the moment of irradiation.

Conclusion: Thus, the obtained results allow us to say that the observed changes are due to the occurrence of the “bystander effect” that arose after local irradiation of the brain with X-ray radiation at a dose of 5 Gy.

Keywords: *mtDNA, bystander effect, oxidative stress, X-ray exposure, brain, mice*

For citation: Abdullaev SA, Fomina DV, Menukhov VO, Dushenko MV, Tochilenko AV, Kalinin TP, Evdokimovskii EV. Changes in the Copy Number and Gene Expression of mtDNA in Various Tissues of Mice Exposed to Local Brain Irradiation. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2025;70(2):16–22. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-2-16-22

Введение

Истоки открытия «эффекта свидетеля» уходят в 50–60 гг. XX века. Именно тогда впервые было показано, что плазма крови облученных людей и животных способна повреждать необлученные клетки. Позднее было показано наличие такого эффекта у людей, переживших ядерную бомбардировку в Хиросиме [1], пациентах после лучевой терапии [2, 3], ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС [4] и детей, пострадавших при этой аварии [5, 6]. Следует заметить, что все эти события были показаны *in vivo*. Что же касается радиационного воздействия на культуры клеток *in vitro* пучками ионизирующей частиц, то впервые такие эксперименты были выполнены гораздо позже, в 1992 г. [7].

Практически с самого начала изучения «эффекта свидетеля» ведутся поиски агента (или агентов), его вызывающего. Считается, что передача сигнала от поврежденных клеток к нормальным ведется двумя путями: через щелевые контакты (*gap junction*) близкорасположенных клеток, а также путем высвобождения в окружающую среду растворимых факторов, которые связываются с рецепторами на других клетках и вызывают в них ответ. В роли этих факторов исследователи рассматривают различные гормоны, белковые молекулы, низкомолекулярные соединения, такие как NO, активные формы кислорода, свободные радикалы, цитокины [8]. К настоящему времени можно точно утверждать, что ни один из рассматриваемых факторов не может на 100 % осуществлять передачу сигнала другим клеткам, и, скорее всего, при облучении проявляется их сочетанное действие [9].

Помимо вышеназванных факторов, в качестве агента, вызывающего «эффект свидетеля», также рассматривалась ДНК. Действительно, фрагменты ДНК из погибших клеток могут выходить в окружающую их среду, а при попадании в кровяное русло могут разноситься по всему организму, вызывая ответ на повреждение за пределами ткани, получившей непосредственное воздействие повреждающего фактора. Например, в работе [10] показано, что концентрация низкомолекулярных фрагментов ДНК в плазме крови крыс находится в прямой зависимости от дозы облучения в очень широком диапазоне доз (от 8 до 100 Гр). Известно, что при гибели клеток, получивших воздействие ионизирующей радиации, ДНК в них получает окислительные повреждения, одно- и двунитевые разрывы, модификацию сахарных остатков, депуринизацию и деаминизацию оснований [11]. Такие поврежденные молекулы ДНК могут являться сигнальными факторами окислительного стресса. В частности, в работе [12] показано, что *in vitro* добав-

ление к интактным клеткам эндотелия внеклеточных фрагментов ДНК, вышедших из облученных в дозе 10 сГр клеток, приводит к увеличению уровня одно- и двунитевых разрывов ДНК, полимеризации актина, изменению формы ядра в необлученных клетках. Авторы статьи предполагают, что передача ответа в необлученных клетках происходит через активацию TLR9 рецептора. Этот рецептор сравнительно мало изучен, предполагается, что он распознает CpG островки, которых в ДНК млекопитающих сравнительно мало по сравнению с ДНК бактерий и вирусов, и, таким образом, отвечает за функционирование врожденного иммунитета к бактериальным и вирусным инфекциям [13].

Однако в научной литературе сравнительно мало рассматривается мтДНК как возможный агент передачи «эффекта свидетеля» в организме при облучении. А ведь известно, что мтДНК, в силу своего бактериального происхождения отличается от ДНК, находящейся в ядре. В частности, мтДНК несет повышенное количество CpG островков, которые сравнительно слабо метилированы, по сравнению с яДНК. Кроме того, сами митохондрии имеют в составе своих белков формилмететинин, что делает их очень похожими в этом отношении на бактерии [14]. Недавними исследованиями показано, что митохондрии, выходящие из механически разрушенных клеток при травмах, вызывают в организме воспалительный процесс, схожий с тем, что протекает при бактериальной инфекции [15, 16].

Таким образом, можно сделать вывод, что изучение внеклеточной мтДНК вкупе с митохондриальными белками, ассоциированными с ней, очень перспективно для изучения механизмов передачи «эффекта свидетеля» на уровне целого организма. Поэтому в данной работе оценивались изменение копийности и экспрессии генов мтДНК в различных тканях мышей, подвергшихся локальному облучению головного мозга.

Материал и методы

В исследовании использовались лабораторные мыши линии *BALB/c* из питомника Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН г. Пущино. Все эксперименты с животными проводили в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, Директивой 2010/63/EU. В ходе эксперимента животные находились в стандартных условиях вивария ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России. Аклиматизация животных проходила в течение 1 недели до начала экспериментов. Мышей кормили

стандартным гранулированным кормом для лабораторных животных (ООО «Мест», Москва) для мышей *ad libitum*, со свободным доступом к чистой питьевой воде и были размещены по пять мышей в клетках при стандартном 12-часовом цикле свет/темнота при температуре 22 ± 2 °C и при влажности 45 ± 5 %.

Рентгеновскому облучению в дозе 5 Гр (мощность 2,5 Гр/мин) подвергалась только голова мыши. Туловище экранировалось от воздействия рентгеновского излучения с помощью свинцового экрана толщиной 5 см. Облучение животных проводили в ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России на рентгеновской биологической установке РУСТ-М1 при напряжении 200 кВ, токе на трубке 2,5 мА, фильтре алюминиевом 1,5 мм. Мощность дозы рентгеновского облучения 1 Гр/мин. Для того чтобы животное во время облучения не перемещалось, мышам вводили внутримышечно препарат домитора в дозировке 0,06 мг/кг массы тела. Действующее вещество домитора – медетомидин. Медетомидин – α_2 -агонист, основной эффект которого заключается в торможении передачи нервных импульсов в адренергических синапсах за счет конкуренции с норадреналином. Действие препарата заключается в том, что животное теряет способность к перемещению за счет расслабления мускулатуры. После облучения животным внутримышечно вводился препарат антиседан в дозировке 0,06 мг/кг, который нейтрализует действие медетомидина. Контрольные животные не подвергались облучению, но при этом им вводились оба вышеперечисленных препарата в той же последовательности и в той же дозировке, что и опытным животным.

После извлечения ткани гомогенизировались на льду, после чего масса гомогената разделялась на две части, для выделения ДНК и РНК соответственно. Жидкая кровь собиралась отдельно, после чего ядродержащие клетки крови разделялись на фракции гранулоцитов и моноцитов методом дифференциального центрифугирования в градиенте плотности диаколл-1077. Выделение ДНК проводилось с помощью реагента для выделения ДНК DNAzol (Invitrogen, USA). РНК из гомогената тканей, а также из ядродержащих клеток крови выделялась с использованием реагента для выделения тотальной РНК из клеток и тканей RNAzol (Invitrogen, USA).

Оценку концентрации ДНК и РНК в образцах проводили на флуориметре Qubit (Invitrogen, США). Синтез первой цепи кДНК осуществлялся на основе коммерческих наборов фирмы (Евроген, Россия). Оценка числа копий мтДНК и экспрессии митохондриального гена *ATP6* проводилась методом ПЦР в реальном времени с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов на приборе Applied Biosystems 7500 Real-Time System. Эффективность реакции ПЦР для амплификации яДНК и мтДНК измеряли с использованием стандартных кривых, используя серии разведений.

В качестве основы для количественного анализа числа копий яДНК и мтДНК использовали пороговое значение цикла (*Ct*). Результаты рассчитывались с помощью программного обеспечения фирмы Applied Biosystems относительно ядерной ДНК, с использованием в качестве внутреннего контроля однокопийного ядерного гена *GAPDH*. Анализы ПЦР проводили в трех повторностях для каждого образца ДНК. Праймеры и зонды для *ATP6* и *GAPDH* были выбраны с использованием базы данных BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), по последовательностям, не допускающим ко-амплификации NUMT-псевдогенов в яДНК. Циклы ПЦР были следующими: 5 мин при 95 °C с последующими 40 циклами (95 °C в течение 30 с, отжиг и удлинение при 60 °C в течение 1 мин).

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета статистических программ Statistica 8.0 (StatSoft). Для оценки значимости различий выборок использовали *t*-критерий Стьюдента. Результаты исследований представлены как среднее арифметическое результатов трех независимых экспериментов \pm стандартная погрешность среднего ($M \pm SEM$).

Результаты

Получены данные о изменении копийности мтДНК в гранулоцитах и моноцитах крови, а также в клетках головного мозга, сердца, печени и селезенки мышей, подвергшихся облучению головного мозга в дозе 5 Гр.

На рис. 1 представлено изменение экспрессии гена *ATP6* мтДНК в моноцитах крови мышей, подвергшихся облучению головного мозга в дозе 5 Гр. Количество транскриптов гена *ATP6* относительно числа транскриптов ядерного гена «домашнего хозяйства» *GAPDH* в моноцитах контрольных мышей принято за 1. Как видно из рисунка, на протяжении момента времени от 3 до 14 сут с момента облучения количество транскриптов митохондриального гена *ATP6* в 2–3 раза превышает контрольный уровень. Максимальное относительное количество транскриптов гена *ATP6* наблюдается на 3 сут с момента облучения. Через 21 и 30 сут, относительное количество транскриптов гена *ATP6* снижается ниже контрольного.

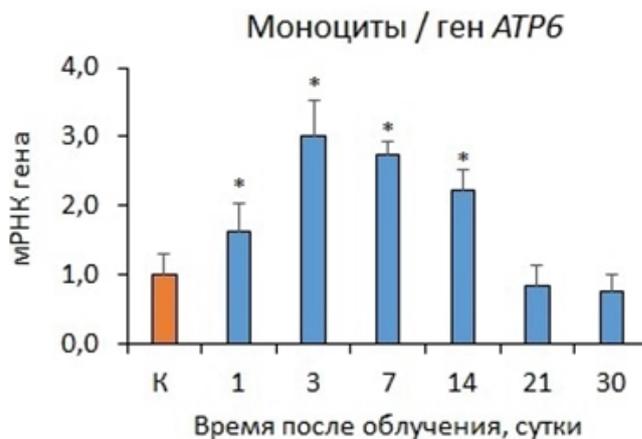


Рис. 1. Изменение экспрессии гена *ATP6* мтДНК в моноцитах крови мышей при локальном облучении головного мозга в дозе 5 Гр. Данные представлены в виде средней величины (для 8 животных) и стандартной погрешности среднего значения ($\pm SEM$). Значение $p < 0,05$ (*) считалось статистически значимым

Fig. 1. Changes in the expression of the *ATP6* mtDNA gene in blood monocytes of mice exposed to local irradiation of the brain at a dose of 5 grams. The data is presented as an average value (for 8 animals) and the standard error of the average value ($\pm SEM$). The value of $p < 0.05$ (*) was considered statistically significant

В другой фракции ядродержащих клеток крови – гранулоцитов – также наблюдается увеличение относительного количества транскриптов гена *ATP6*, однако гораздо более выраженное (рис. 2). Уже через 24 ч с момента облучения, относительное число копий митохондриального гена *ATP6* выше контрольного в 12 раз. Максимальное значение этого параметра наблюдается на 14-е сут с момента облучения и, в этот момент, превышает контрольный уровень в 25 раз. Через 21 сут относительное количество транскриптов гена *ATP6* снижается до контрольного уровня, а через 30 сут опускается ниже контрольного.

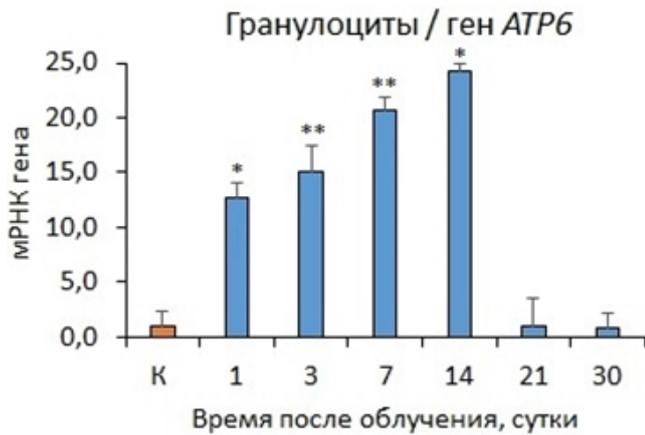


Рис. 2. Изменение экспрессии гена *ATP6* мтДНК в гранулоцитах крови мышей при локальном облучении головного мозга в дозе 5 Гр. Данные представлены в виде средней величины (для 8 животных) и стандартной погрешности среднего значения ($\pm SEM$). Статистическая значимость была установлена на уровне $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,05$ считалось статистически значимым различием

Fig. 2. Changes in the expression of the *ATP6* mtDNA gene in blood granulocytes of mice exposed to local brain radiation at a dose of 5 grams. The data is presented as an average value (for 8 animals) and the standard error of the average value ($\pm SEM$). Statistical significance was established at the level of $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.05$ was considered a statistically significant difference

Относительное изменение количества копий мтДНК в гранулоцитах и моноцитах крови мышей, подвергшихся облучению головного мозга, представлено на рис. 3.

Как следует из представленного рисунка, количества копий мтДНК как в моноцитах, так и в гранулоцитах через 24 ч с момента облучения снижается примерно в 2–3 раза ниже контрольного уровня. Сниженное количество копий мтДНК сохраняется в ядросодержащих клетках крови на протяжении 14 сут с момента облучения, на 21 и 30-е сут начинается восстанавливаться до контрольного уровня.

На рис. 4 представлено относительное изменение копийности транскриптов митохондриального гена *ATP6* в клетках головного мозга мышей после его облучения в дозе 5 Гр. Как видно из рисунка, через 72 ч после облучения, относительное число транскриптов гена *ATP6* превышает контрольное значение в 2,5 раза. Далее от-

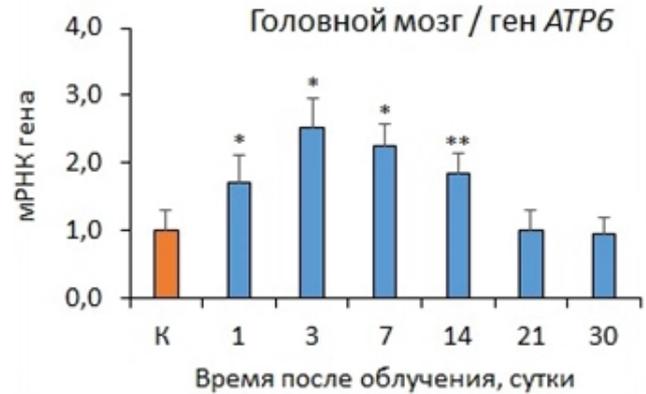


Рис. 4. Изменение экспрессии митохондриального гена *ATP6* в клетках головного мозга мышей после его облучения в дозе 5 Гр. Данные представлены в виде средней величины (для 8 животных) и стандартной погрешности среднего значения ($\pm SEM$). Статистическая значимость была установлена на уровне $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,05$ считалось статистически значимым различием

Fig. 4. Changes in the expression of the mitochondrial *ATP6* gene in mouse brain cells after irradiation at a dose of 5 grams. The data is presented as an average value (for 8 animals) and the standard error of the average value ($\pm SEM$). Statistical significance was established at the level of $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.05$ was considered a statistically significant difference

носительное число митохондриальных транскриптов снижается, возвращаясь к контрольному уровню через 20 дней с момента облучения.

На рис. 5 представлено относительное изменение копийности транскриптов митохондриального гена *ATP6* в клетках сердца, печени и селезенки у мышей, подвергшихся дифференцированному облучению головного мозга в дозе 5 Гр.

Как можно видеть из рисунков, несмотря на то, что эти органы не подвергались непосредственному воздействию рентгеновского облучения, транскрипция митохондриальной ДНК в них увеличивается так же, как и в подвергнутом облучению головном мозге. Существуют небольшие различия между различными тканями. Например, в сердце максимальное относительное число транскриптов гена *ATP6* приходится на 7-е сут, тогда как в головном мозге, печени и селезенке максимум приходится на 72 ч с момента облучения, однако общая направленность наблюдаемого процесса не вызывает со-

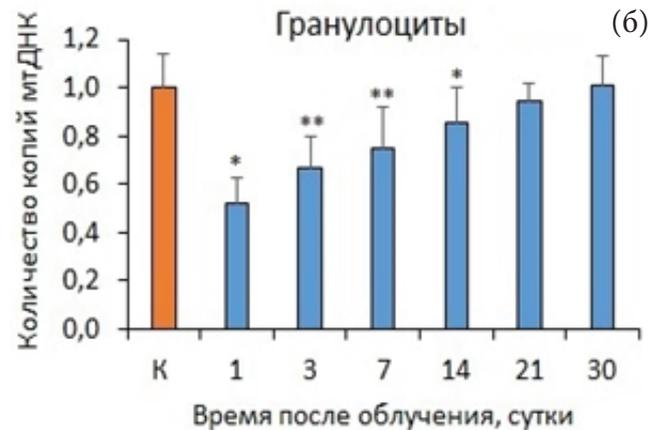
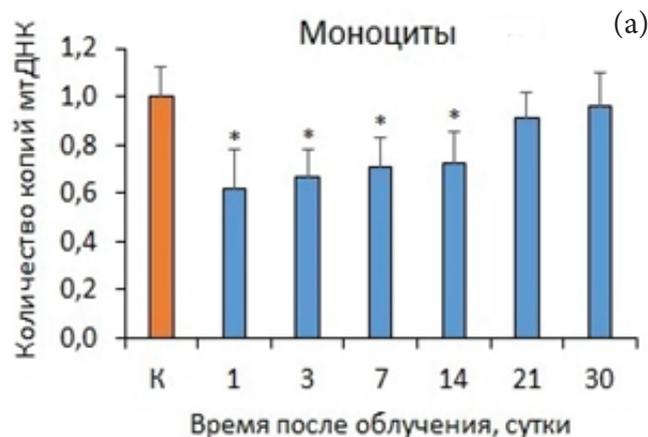


Рис. 3. Изменение количества копий мтДНК в гранулоцитах и моноцитах крови мышей при локальном облучении головного мозга в дозе 5 Гр. Данные представлены в виде средней величины (для 8 животных) и стандартной погрешности среднего значения ($\pm SEM$). Статистическая значимость была установлена на уровне $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,05$ считалось статистически значимым различием

Fig. 3. Changes in the number of mtDNA copies in granulocytes and monocytes of the blood of mice exposed to local irradiation of the brain at a dose of 5 grams. The data is presented as an average value (for 8 animals) and the standard error of the average value ($\pm SEM$). Statistical significance was established at the level of $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.05$ was considered a statistically significant difference

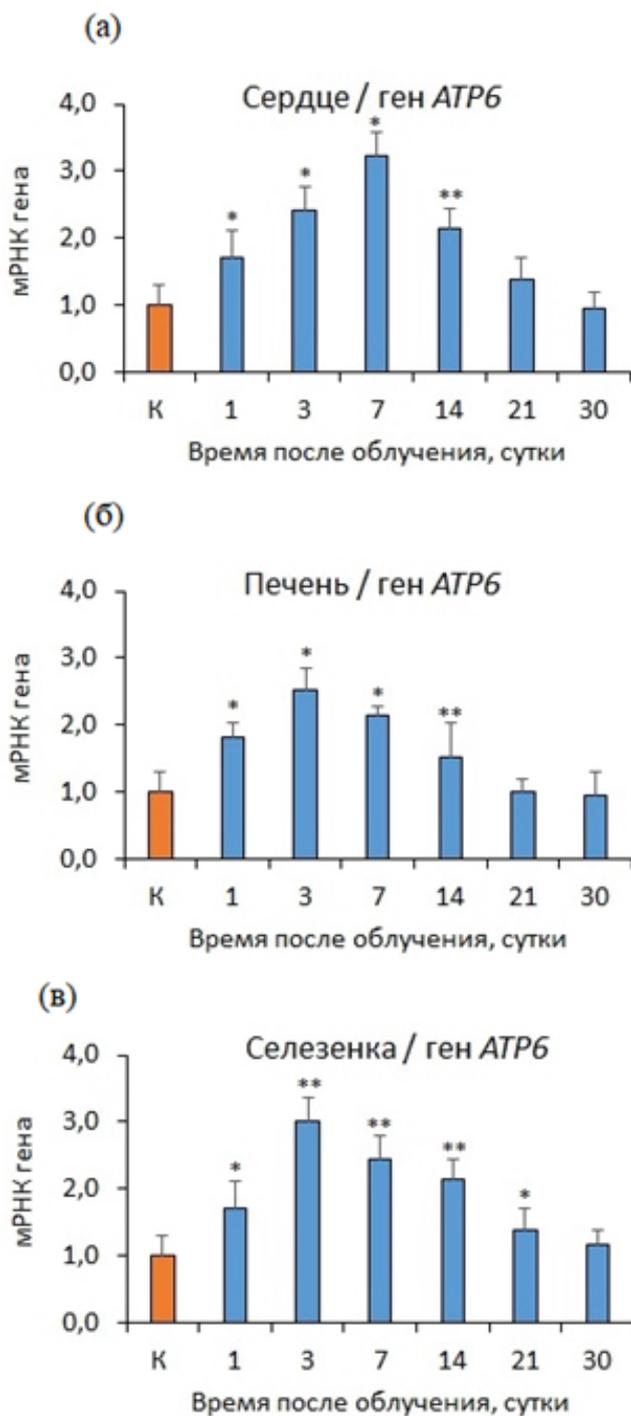


Рис. 5. Изменение экспрессии митохондриального гена *АТР6* в тканях сердца, печени и селезенки мышей при локальном облучении головного мозга в дозе 5 Гр. Данные представлены в виде средней величины (для 8 животных) и стандартной погрешности среднего значения ($\pm SEM$). Статистическая значимость была установлена на уровне $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,05$ считалось статистически значимым различием

Fig. 5. Changes in the expression of the mitochondrial *АТР6* gene in the tissues of the heart, liver, and spleen of mice exposed to local brain radiation at a dose of 5 grams. The data is presented as an average value (for 8 animals) and the standard error of the average value ($\pm SEM$). Statistical significance was established at the level of $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.05$ was considered a statistically significant difference

мнений. Также общим для всех исследованных тканей является то, что к 30-ым сут с момента облучения относительное число транскриптов митохондриального гена *АТР6* возвращается к контрольному значению.

На рис. 6 представлены результаты количественного измерения относительного числа копий мтДНК в клетках головного мозга, подвергшихся непосредственному воздействию рентгеновского излучения.

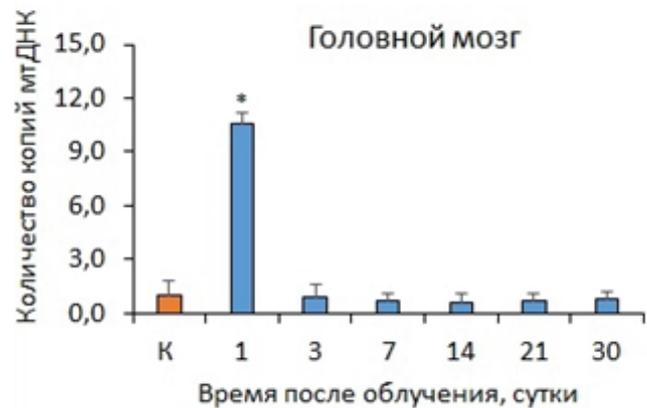


Рис. 6. Изменения относительного числа копий мтДНК в клетках головного мозга мышей после его облучения в дозе 5 Гр. Данные представлены в виде средней величины (для 8 животных) и стандартной погрешности среднего значения ($\pm SEM$). Статистическая значимость была установлена на уровне $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,05$ считалось статистически значимым различием

Как видно из рисунка, количество копий мтДНК через 24 ч после облучения увеличивается в 10 раз по сравнению с контролем. Однако в остальные сроки количество копий мтДНК резко снижается, примерно в 3–4 раза ниже контрольного значения, вплоть до окончания наблюдений через 30-е сут.

В клетках сердца, печени и селезенки такого эффекта не наблюдается, число копий мтДНК в этих клетках возрастает (рис. 7).

В ткани сердца максимальное количество мтДНК наблюдается через 14 сут с момента облучения, количество копий мтДНК превышает контрольный уровень в 14 раз (рис. 7а). Максимальное количество копий мтДНК в клетках печени и селезенки наблюдается через 21-е сут с момента облучения, при этом оно превышает контрольный уровень в 10 раз (рис. 7б, в). Через 30 сут после облучения количество копий мтДНК в сердце и печени мышей возвращается к контрольному уровню.

Обсуждение

Исследования, посвящённые изучению механизмов передачи клеткам-свидетелям информации о повреждающем воздействии, активно продолжаются, однако природа всех факторов сигнального пути остается не до конца известна. Основное внимание исследователей было сосредоточено на факторах белковой природы, прежде всего, на различных цитокинах [17–19]. Предполагалось также участие в передаче сигналов «эффекта свидетеля» активных форм кислорода и азота [20–23]. В 2007 г. сотрудниками лаборатории молекулярной биологии МГНЦ РАМН было впервые высказано предположение о возможной роли внеклеточной ДНК в реализации «эффекта свидетеля» [24, 25]. Показано, что в реализации сигнальной функции внеклеточной ДНК в облучённых лимфоцитах принимают участие рецепторы TLR9.

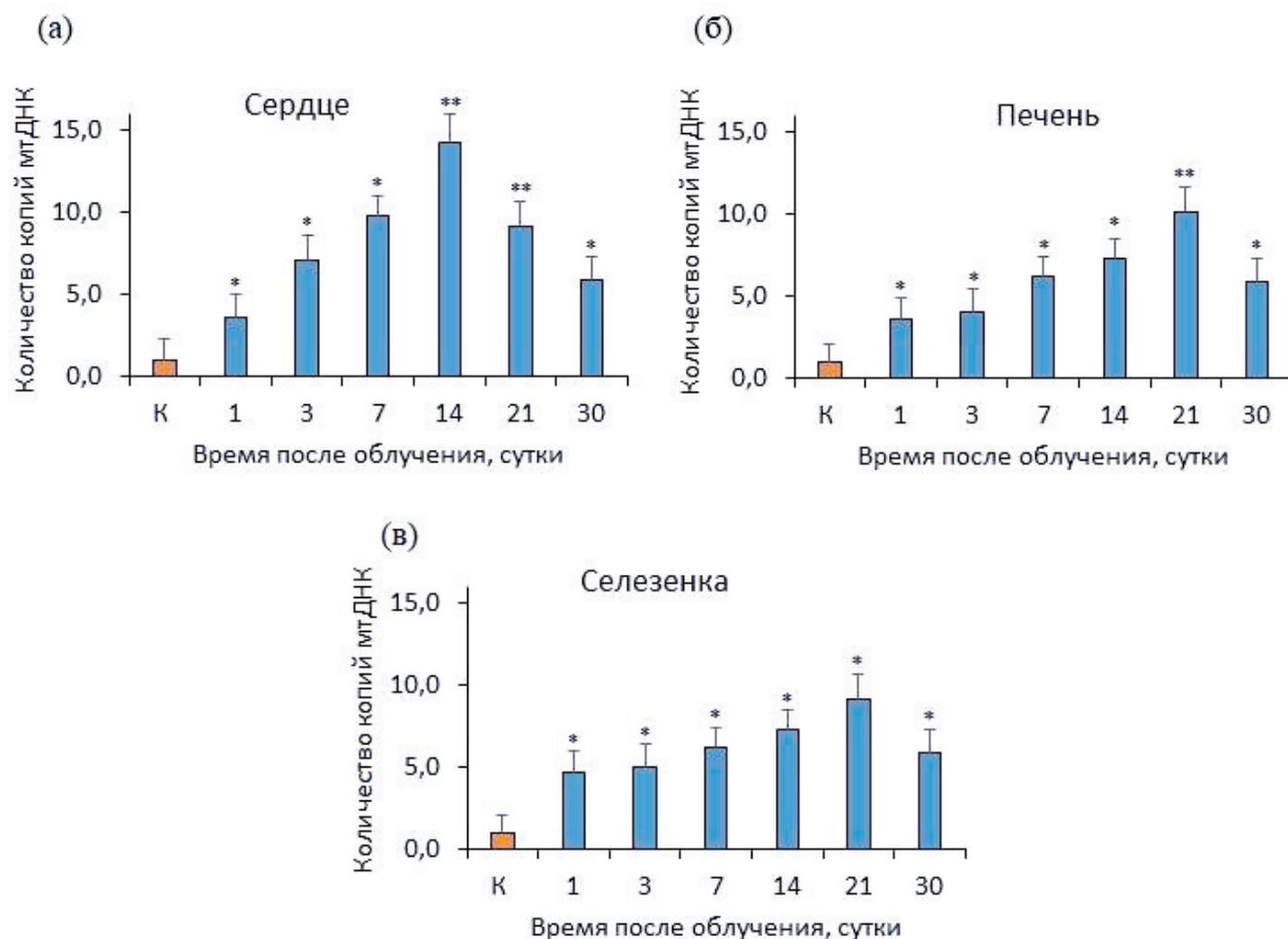


Рис. 7. Изменение относительного числа копий мтДНК в тканях сердца, печени и селезенки мышей при локальном облучении головного мозга в дозе 5 Гр. Данные представлены в виде средней величины (для 8 животных) и стандартной погрешности среднего значения ($\pm SEM$). Статистическая значимость была установлена на уровне $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,05$ считалось статистически значимым различием

Fig. 7. Changes in the relative number of mtDNA copies in the tissues of the heart, liver, and spleen of mice exposed to local brain radiation at a dose of 5 grams. The data is presented as an average value (for 8 animals) and the standard error of the average value ($\pm SEM$). Statistical significance was established at the level of $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), $p < 0.05$ was considered a statistically significant difference

В научной литературе сравнительно мало рассматривается мтДНК как возможный агент передачи «эффекта свидетеля» в организме при облучении. Однако известно, что мтДНК, в силу своего бактериального происхождения отличается от ДНК, находящейся в ядре. В частности, мтДНК несет повышенное количество CpG островков, которые сравнительно слабо метилированы, по сравнению с яДНК. Кроме того, сами митохондрии имеют в составе своих белков формилметионин, что делает их очень похожими в этом отношении на бактерии [14]. Как известно, митохондриальные компоненты запускают врожденные иммунные реакции и воспалительные реакции в клетках [26]. Поэтому рассматривать мтДНК в качестве потенциального агента, участвующего в механизмах передачи сигналов радиационно-индуцированного «эффекта свидетеля», представляется вполне возмож-

ным. Однако для выяснения детальных механизмов в этом контексте требуется проведение дополнительных исследований.

Заключение

Таким образом, полученные результаты говорят о том, что в клетках органов мышей, не подвергавшихся непосредственному воздействию рентгеновского излучения, наблюдаются значительные изменения копийности как самой мтДНК, так и относительного числа транскриптов ее гена *ATP6*. Эти изменения сохраняются на протяжении значительного срока после облучения, вплоть до трех недель, что позволяет предполагать, что наблюдаемые изменения возможно обусловлены возникновением «эффекта свидетеля» после локального облучения головного мозга рентгеновским излучением в дозе 5 Гр.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Pant G.S., Kamada N. Chromosome Aberrations in Normal Leukocytes Induced by the Plasma of Exposed Individuals. *J Med Sci.* 1977;26;2-3:149-154.
2. Hollowell J.G., Littlefield L.G. Chromosome Damage Induced by Plasma of X-Rayed Patients: an Indirect Effect of X-Ray. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1968;129;1:240-244. doi: 10.3181/00379727-129-33295.
3. Littlefield L.G., Hollowell Jr J.G., Pool Jr W.H. Chromosomal Aberrations Induced by Plasma from Irradiated Patients: an Indirect Effect of X Radiation. Further Observations and

- Studies of a Control Population. *Radiology*. 1969;93;4:879-886. doi: 10.1148/93.4.879.
4. Marozik P., Mothersill C., Seymour C.B., Mosse I., Melnov S. Bystander Effects Induced by Serum from Survivors of the Chernobyl Accident. *Exp Hematol*. 2007;35;4-1:55-63. doi: 10.1016/j.exphem.2007.01.029.
 5. Emerit I., Quastel M., Goldsmith J., Merkin L., Levy A., Cernjavski L., et al. Clastogenic Factors in the Plasma of Children Exposed at Chernobyl. *Mutat Res*. 1997;373;1:47-54. doi: 10.1016/s0027-5107(96)00187-x.
 6. Gemignani F., Ballardini M., Maggiani F., Rossi A.M., Antonelli A., Barale R. Chromosome Aberrations in Lymphocytes and Clastogenic Factors in Plasma Detected in Belarus Children 10 Years after Chernobyl Accident. *Mutat Res*. 1999;446;2:245-253. doi: 10.1016/s1383-5718(99)00194-1.
 7. Nagasawa H., Little J.B. Induction of Sister Chromatid Exchanges by Extremely Low Doses of Alpha-Particles. *Cancer Res*. 1992;52;22:6394-6.
 8. Ghosh G. Radiation-Induced Bystander Effect and Its Possible Countermeasures. *J Cell Signal*. 2023;4;1:13-20. doi: 10.33696/Signaling.4.086.
 9. Gilbert A., Payet V., Bernay B., Chartier-Garcia E., Testard I., Candéias S.M., Chevalier F. Label-Free Direct Mass Spectrometry Analysis of the Bystander Effects Induced in Chondrocytes by Chondrosarcoma Cells Irradiated with X-rays and Carbon Ions. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2022;27;9:277. doi: 10.31083/j.fbl2709277.
 10. Vasilyeva I.N. Low-Molecular-Weight DNA in Blood Plasma as an Index of the Influence of Ionizing Radiation. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;945:221-8. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb03889.x.
 11. Cooke M.S., Evans M.D., Dizdaroglu M., Lunec J. Oxidative DNA Damage: Mechanisms, Mutation, and Disease. *FASEB J*. 2003;17;10:1195-1214. doi: 10.1096/fj.02-0752rev.
 12. Ermakov A.V., Konkova M.S., Kostyuk S.V., Smirnova T.D., Malinovskaya E.M., Efremova L.V., Veiko N.N. An Extracellular DNA Mediated Bystander Effect Produced from Low Dose Irradiated Endothelial Cells. *Mutat Res*. 2011;712;1-2:1-10. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.002.
 13. Randhawa A.K., Hawn T.R. Toll-Like Receptors: their Roles in Bacterial Recognition and Respiratory Infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2008;6;4:479-495. doi: 10.1586/14787210.6.4.479.
 14. Taanman J.W. The Mitochondrial Genome: Structure, Transcription, Translation and Replication. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1410;2:103-123. doi: 10.1016/s0005-2728(98)00161-3.
 15. Zhang Q., Raouf M., Chen Y., Sumi Y., Sursal T., Junger W., et al. Circulating Mitochondrial DAMPs Cause Inflammatory Responses to Injury. *Nature*. 2010;464;7285:104-107. doi: 10.1038/nature08780.
 16. Liu Q., Wu J., Zhang X., Li X., Wu X., Zhao Y., Ren J. Circulating Mitochondrial DNA-Triggered Autophagy Dysfunction Via STING Underlies Sepsis-Related Acute Lung Injury. *Cell Death Dis*. 2021;12;7:673. doi: 10.1038/s41419-021-03961-9.
 17. Mothersill C., Seymour C. Radiation-Induced Bystander Effects: Past History and Future Directions. *Radiat Res*. 2001;155;6:759-67. doi: 10.1667/0033-7587(2001)155[0759:ri beph]2.0.co;2.
 18. Nikjoo H., Khvostunov I.K. Biophysical Model of the Radiation-Induced Bystander Effect. *Int J Radiat Biol*. 2003;79;1:43-52.
 19. Nikjoo H., Khvostunov I.K. A Theoretical Approach to the Role and Critical Issues Associated with Bystander Effect in Risk Estimation. *Hum Exp Toxicol*. 2004;23;2:81-6. doi: 10.1191/0960327104ht4220a.
 20. Azzam E.I., De Toledo S.M., Spitz D.R., Little J.B. Oxidative Metabolism Modulates Signal Transduction and Micronucleus Formation in Bystander Cells from Alpha-Particle-Irradiated Normal Human Fibroblast Cultures. *Cancer Res*. 2002;62;19:5436-42.
 21. Matsumoto H., Hamada N., Takahashi A., Kobayashi Y., Ohnishi T. Vanguard of Paradigm Shift in Radiation Biology: Radiation-Induced Adaptive and Bystander Responses. *J Radiat Res*. 2007;48;2:97-106. doi: 10.1269/jrr.06090.
 22. Matsumoto H., Tomita M., Otsuka K., Hatashita M., Hamada N. Nitric Oxide is a Key Molecule Serving as a Bridge between Radiation-Induced Bystander and Adaptive Responses. *Curr Mol Pharmacol*. 2011;4;2:126-34. doi: 10.2174/1874467211104020126.
 23. Morgan W.F. Communicating Non-Targeted Effects of Ionizing Radiation to Achieve Adaptive Homeostasis in Tissues. *Curr Mol Pharmacol*. 2011;4;2:135-40.
 24. Ermakov A.V., Konkova M.S., Kostyuk S.V., Ershova E.S., Egolina N.A., Veiko N.N. Extracellular DNA Fragments from Culture Medium of Low-Dose Irradiated Human Lymphocyte Trigger Instigating of the Oxidative Stress and the Adaptive Response in Non-Irradiated Bystander Lymphocytes. *Radiats Biol Radioecol*. 2008;48;5:553-64.
 25. Kostyuk S.V., Ermakov A.V., Alekseeva A.Yu., Smirnova T.D., Glebova K.V., Efremova L.V., Baranova A., Veiko N.N. Role of Extracellular DNA Oxidative Modification in Radiation Induced Bystander Effects in Human Endothelial Cells. *Mutat Res*. 2012;729;1-2:52-60. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.09.005.
 26. Wu Z., Oeck S., West A.P., Mangalharra K.C., Sainz A.G., Newman L.E., et al. Mitochondrial DNA Stress Signalling Protects the Nuclear Genome. *Nat Metab*. 2019;1;12:1209-1218. doi: 10.1038/s42255-019-0150-8.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-24-00446).

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.

Поступила: 20.12.2024. Принята к публикации: 25.01.2025.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-24-00446).

Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.

Article received: 20.12.2024. Accepted for publication: 25.01.2025.