

М.А. Игнатов^{1,2}, А.К. Чигасова^{1,2,3}, А.А. Осипов², Н.Ю. Воробьева^{1,2}, Ю.А. Федотов^{1,2},
Дн.М. Алексеев¹, Т.И. Гимадова¹, А.Н. Башков¹, Ю.Д. Удалов¹, А.Н. Осипов^{1,2}

ИЗМЕНЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА ФОКУСОВ БЕЛКОВ РЕПАРАЦИИ ДНК В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА, ОБЛУЧЕННЫХ НА КОМПЬЮТЕРНОМ ТОМОГРАФЕ

¹ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

² Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

³ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

Контактное лицо: Андреян Николаевич Осипов, e-mail: andreyan.radbio@gmail.com

РЕФЕРАТ

Цель работы: Сравнительный анализ изменений количества фокусов γ H2AX, 53BP1 и pATM в мезенхимальных стволовых/стромальных клетках (МСК) человека после облучения во время однократной и пятикратной последовательной компьютерной томографии (КТ). Дополнительно, в качестве позитивного контроля, исследовали изменения этих показателей после облучения клеток на рентгеновской установке в дозе 2000 мГр.

Материал и методы: В работе использовали первичную культуру МСК человека, полученную из коллекции ООО «БиолоТ» (Россия). Для облучения клеток использовали компьютерный томограф TOSHIBA AQUILION 64 (Япония). Дозиметрическое сопровождение осуществлялось термолуминесцентным методом с использованием алюмофосфатных дозиметров и дозиметров на основе бората магния. Для сравнительных исследований и получения позитивного контроля использовали рентгеновскую биологическую установку РУСТ-М1 (Россия), оснащенную двумя рентгеновскими излучателями (поглощенная доза 2000 мГр, мощность дозы 0.85 Гр/мин). Для количественной оценки фокусов γ H2AX, 53BP1 и pATM использовали иммуноцитохимическое окрашивание с использованием антител к γ H2AX, 53BP1 и pATM. Статистическую значимость оценивали с использованием дисперсионного анализа (ANOVA).

Результаты: Проведенные исследования показали, что облучение МСК во время КТ (поглощенные дозы в случае однократной КТ приблизительно 88 мГр) вызывает статистически значимое увеличение количества фокусов белков γ H2AX, 53BP1 и pATM, регистрируемых через 0,5 ч после облучения. Однако уже через 24 ч после облучения не было отмечено статистически значимого повышенного количества остаточных фокусов γ H2AX, 53BP1 и pATM по сравнению с контрольными значениями. В целом, комплексную оценку количества фокусов белков γ H2AX, 53BP1 и pATM можно рекомендовать для ранней биодозиметрии облучения во время КТ.

Ключевые слова: компьютерная томография, рентгеновское излучение, малые дозы, мезенхимальные стволовые клетки, репарация ДНК, γ H2AX, 53BP1, pATM

Для цитирования: Игнатов М.А., Чигасова А.К., Осипов А.А., Воробьева Н.Ю., Федотов Ю.А., Алексеев Дн.М., Гимадова Т.И., Башков А.Н., Удалов Ю.Д., Осипов А.Н. Изменения количества фокусов белков репарации ДНК в мезенхимальных стволовых клетках человека, облученных на компьютерном томографе // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2025. Т. 70. № 5. С. 23–27. DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-5-23-27

М.А. Ignatov^{1,2}, А.К. Chigasova^{1,2,3}, А.А. Osipov², N.Yu. Vorobyeva^{1,2}, Yu.A. Fedotov^{1,2},
Dn.M. Alekseev¹, T.I. Gimadova¹, A.N. Bashkov¹, Yu.D. Udalov¹, A.N. Osipov^{1,2}

Changes in the Number of DNA Repair Protein Foci in Tomography-Irradiated Human Mesenchymal Stem Cells

¹ A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

² N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Moscow, Russia

³ Institute of Biochemical Physics, Moscow, Russia

Contact person: A.N. Osipov, e-mail: andreyan.radbio@gmail.com

ABSTRACT

Purpose: Comparative analysis of changes in the number of γ H2AX, 53BP1 and pATM foci in human mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) after irradiation during single and five-time sequential computed tomography (CT). Additionally, as a positive control, changes in these parameters were studied after irradiation of cells using an X-ray machine at a dose of 2000 mGy.

Material and methods: A primary culture of human MSCs was obtained from the collection of BioloT LLC (Russia). A TOSHIBA AQUILION 64 computed tomograph (Japan) was used for cell irradiation. Dosimetric monitoring was carried out using the thermoluminescent method with aluminophosphate dosimeters and magnesium borate-based dosimeters. For comparative studies and obtaining a positive control, a RUST-M1 X-ray biological unit (Russia) equipped with two X-ray emitters (dose 2000 mGy, dose rate 0.85 Gy/min) was used. Immunocytochemical staining using antibodies to γ H2AX, 53BP1 and pATM was used for quantitative assessment of γ H2AX, 53BP1 and pATM foci. Statistical significance was assessed using analysis of variance (ANOVA).

Results: The studies showed that irradiation of MSCs during CT (absorbed doses during single CT approximately 88 mGy) causes a statistically significant increase in the number of foci of the proteins γ H2AX, 53BP1 and pATM, recorded 0.5 h after irradiation. However, no

statistically significant increase in the number of residual γ H2AX, 53BP1 and pATM foci was observed 24 h after irradiation compared to the control values. In general, a comprehensive assessment of the number of γ H2AX, 53BP1 and pATM protein foci can be recommended for early biodosimetry of irradiation during CT.

Keywords: *computed tomography, x-ray radiation, low doses, mesenchymal stem cells, DNA repair, γ H2AX, 53BP1, pATM*

For citation: Ignatov MA, Chigasova AK, Osipov AA, Vorobyeva NYu, Fedotov YuA, Alekseev DnM, Gimadova TI, Bashkov AN, Udalov YuD, Osipov AN. Changes in the Number of DNA Repair Protein Foci in Tomography-Irradiated Human Mesenchymal Stem Cells. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2025;70(5):23–27. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-5-23-27

В настоящее время стремительно развивается регенеративная медицина, в которой часто применяется клеточная терапия с использованием стволовых клеток человека, в частности мультипотентных мезенхимальных стволовых/стромальных клеток (МСК). Несмотря на положительные стороны использования МСК, существует ряд малоизученных аспектов, требующих проведения серьезных фундаментальных исследований. Одними из наиболее важных вопросов являются возможные негативные эффекты воздействия ионизирующего излучения в малых дозах при проведении, часто сопутствующих клеточной терапии, диагностических радиологических процедур, в частности, компьютерной томографии (КТ). Существует большое количество эпидемиологических работ, свидетельствующих об увеличении рисков возникновения злокачественных новообразований у детей и подростков после проведения КТ [1, 2]. С другой стороны, опубликовано много данных, напротив, свидетельствующих о положительных эффектах КТ, таких как уменьшение смертности от рака легкого у людей [3, 4]. Таким образом, изучение особенностей формирования радиобиологических эффектов в МСК после проведения КТ представляет актуальную научную проблему.

Иммуноцитохимический анализ фокусов (динамических микроскоплений, состоящих из сотен и тысяч копий белка) белков репарации ДНК позволяет проводить исследование отклика на облучение каждой клетки в асинхронных/гетерогенных клеточных популяциях. Метод обладает крайне высокой чувствительностью, позволяющей детектировать эффекты облучения в малых дозах. Наиболее часто исследуются фокусы корового гистона H2AX (вариант гистона H2A) фосфорилированного по серину-139 (γ H2AX) [5–7], белка 53BP1 [8, 9] и активной (фосфорилированной) киназы ATM (pATM) [10–12]. Гистон γ H2AX играет крайне важную функцию в клеточном отклике на повреждение ДНК, локальном ремоделировании структуры хроматина и привлечении белков репарации ДНК [13–15]. Белок-супрессор опухолей 53BP1 является ключевым регулятором репарации ДНК от двунитевых разрывов (ДР) и активации контрольных точек клеточного цикла [16–18]. Киназа ATM является одной из ключевых киназ-трансдукторов, координирующих отклик клетки на повреждение ДНК путём активации репарации ДНК и различных сигнальных путей [19–21]. Такие критические повреждения ДНК как ДР являются основным триггером активации ATM путём диссоциации от димерной формы посредством аутофосфорилирования по серину 1981 [19]. Ранее нами было показано, что количество остаточных фокусов γ H2AX, 53BP1 и pATM, наблюдаемых через 24–72 ч после облучения, отражает количество потенциально летальных повреждений ДНК и может служить предиктивным маркером репродуктивной клеточной гибели [22].

Цель работы: сравнительный анализ изменений количества фокусов γ H2AX, 53BP1 и pATM в МСК после облучения во время однократной и пятикратной последовательной КТ. Дополнительно, в качестве позитивного контроля, исследовали изменения этих показателей

после облучения клеток на рентгеновской установке в дозе 2000 мГр.

Материал и методы

Культура клеток и условия культивирования

В работе использовали первичную культуру МСК из жировой ткани человека 5–6 пассажа, полученную из коллекции ООО «БиолоТ» (Россия). Для экспериментов клетки культивировали в среде DMEM (1 г/л глюкозы) (Thermo Fisher Scientific, США), содержащей 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (Thermo Fisher Scientific, США) в стандартных условиях CO₂-инкубатора (37 °C, 5 % CO₂) в течение 3 пассажей, со сменой среды один раз в три дня.

Облучение

Клетки облучали в фазе экспоненциального роста (плотность клеточной популяции ~ 60–70 %).

Для облучения клеток использовали компьютерный томограф TOSHIBA AQUILION 64 (Япония). Были использованы параметры сканирования, которые моделируют условия проведения КТ головы человека (анодное напряжение 120 кВ, анодный ток 350 мА, ширина детекторного элемента 0,5 мм, питч 0,641). Проводили одно- и пятикратное последовательное облучение. Дозиметрическое сопровождение осуществлялось термомонометрическим методом с использованием дозиметров на основе аломофосфатных стёкол (измерение производили на дозиметрическом комплексе ИКС-А (ИБФ, СССР, зав. № 425)) [23] и дозиметров на основе бората магния (измерение производили на дозиметрическом комплексе Доза-ТЛД (НПП «Доза», Россия)) [24].

Для сравнительных исследований и получения позитивного контроля использовали рентгеновскую биологическую установку РУСТ-М1 (Россия), оснащённую двумя рентгеновскими излучателями. Характеристики и условия облучения: поглощенная доза – 2000 мГр, мощность поглощенной дозы – 0,85 Гр/мин, анодное напряжение 200 кВ, анодный ток на каждой трубке 5 мА, фильтр 1,5 мм Al). Дозиметрический контроль поглощенной дозы осуществлялся клиническим дозиметром рентгеновского излучения ДРК-1М (НПП «Доза», Россия). Суммарная погрешность отпускаемой поглощенной дозы не превышала 15 %.

После облучения клетки инкубировали в стандартных условиях CO₂ инкубатора (37 °C, 5 % CO₂) в течение 0,5–24 ч.

Иммуноцитохимический анализ

Для фиксации клеток использовали 4 % раствор параформальдегида в фосфатно-солевом буфере (PBS) (pH 7,4). Фиксацию проводили в течение 15 мин при комнатной температуре. Затем препараты дважды промывали PBS с последующей инкубацией в течение 40 мин в 0,3 % растворе TritonX100 в PBS с добавлением 5 % сыворотки козы для пермеабиллизации и блокирования неспецифического связывания антител. Далее препара-

ты инкубировали в течение 1 ч с первичными антителами к тем или иным белкам, разведенным в PBS с 1 % бычьим сывороточным альбумином (BSA). Использовали следующие первичные антитела: моноклональные антитела кролика к γ H2AX (phospho S139) (разведение 1:800, клон EP854(2)Y, Abcam, Великобритания); моноклональные антитела мыши к 53BP1 (разведение 1:400, клон BP13, Merck-Millipore, США); моноклональные антитела мыши к pATM (phospho S1981) (разведение 1:200, клон 10H11.E12, Abcam, Великобритания). Затем препараты трижды промывали PBS и инкубировали в течение 1 ч в темноте со вторичными антителами IgG (H + L) козы к белкам мыши (Alexa Fluor 488 конъюгированный, 1:1600; Abcam, Великобритания) и IgG H&L козы к белкам кролика (Alexa Fluor® 555, 1:1600; Abcam, Великобритания), разведенными в PBS, содержащим 1 % BSA. Для предотвращения фотоблещения и окрашивания ДНК клеток использовали монтирующую среду ProLong Gold Medium, содержащую флуоресцентный краситель ДНК – DAPI (Life Technologies, США) в концентрации 1 мкг/мл. Визуализацию иммуноцитохимически-окрашенных клеток проводили на люминесцентном исследовательском микроскопе Nikon Eclipse Ni-U (Nikon, Токио, Япония) с использованием наборов светофильтров UV-2E/C (340–380 нм возбуждение и 435–485 нм эмиссия) B-2E/C (465–495 нм возбуждение и 515–555 нм эмиссия) и Y-2E/C (540–580 нм возбуждение и 600–660 нм эмиссия). Для документирования микроизображений использовали камеру высокого разрешения для люминесцентной микроскопии ProgRes MFcool (Jenoptik AG, Йена, Германия). Случайным образом анализировали не менее 200 клеток на точку. Для подсчета количества фокусов использовали программное обеспечение DARFI (<http://github.com/varnivey/darfi>; доступ получен 19 сентября 2016 г.).

Статистический анализ

Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9.0.2.161 (GraphPad Software). Результаты представлены как среднее арифметическое результатов \pm стандартная погрешность среднего (SEM). Статистическую значимость проверяли с использованием дисперсионного анализа (ANOVA).

Результаты и обсуждение

При выбранных параметрах сканирования на компьютерном томографе CTDI (компьютерно-томографический индекс дозы, определяемый как поглощенная доза за один оборот рентгеновской трубки, нормализованная к ширине рентгеновского пучка) составил 86 мГр, а DLP (произведение поглощенной дозы на длину сканирования в см) – 3673 мГр \times см. При пересчете на фантом диаметром 16 см эффективная доза на голову человека составила 5,1 мЗв. В случае облучения на компьютерном томографе нестандартных объектов, необходимо принимать во внимание характеристики облучаемого объекта (размер, масса, плотность). Облучение МСК проводилось в чашках Петри ($d=35$ мм) с объемом культуральной среды 2 мл. При таком размере и массе облучаемого объекта поглощенная доза должна быть близка к CTDI, что было подтверждено сопровождающими дозиметрическими исследованиями с использованием термолюминесцентных дозиметров. Поглощенная доза на чашку Петри за время одного сеанса КТ составила 88 ± 15 мГр с учетом пространственной неоднородности поля излучения и расширенной неопределенности измерения детекторов.

На рис. 1 представлены результаты анализа изменений количества фокусов белков γ H2AX, 53BP1 и pATM в МСК через 0,5, 4 и 24 ч после проведения 1 сеанса КТ, 5 последовательных сеансов КТ и облучения рентгеновским излучением в поглощенной дозе 2000 мГр в качестве позитивного контроля. Выбор временных точек для анализа количества фокусов был обусловлен тем, что, согласно ранее проведенным исследованиям для фокусов белков γ H2AX и pATM в МСК, 0,5 ч после облучения является точкой максимума [25]. К 4–6 ч заканчивается быстрая фаза репарации ДНК от двунитевых разрывов (ДР), а \sim к 24 ч и медленная фаза [26].

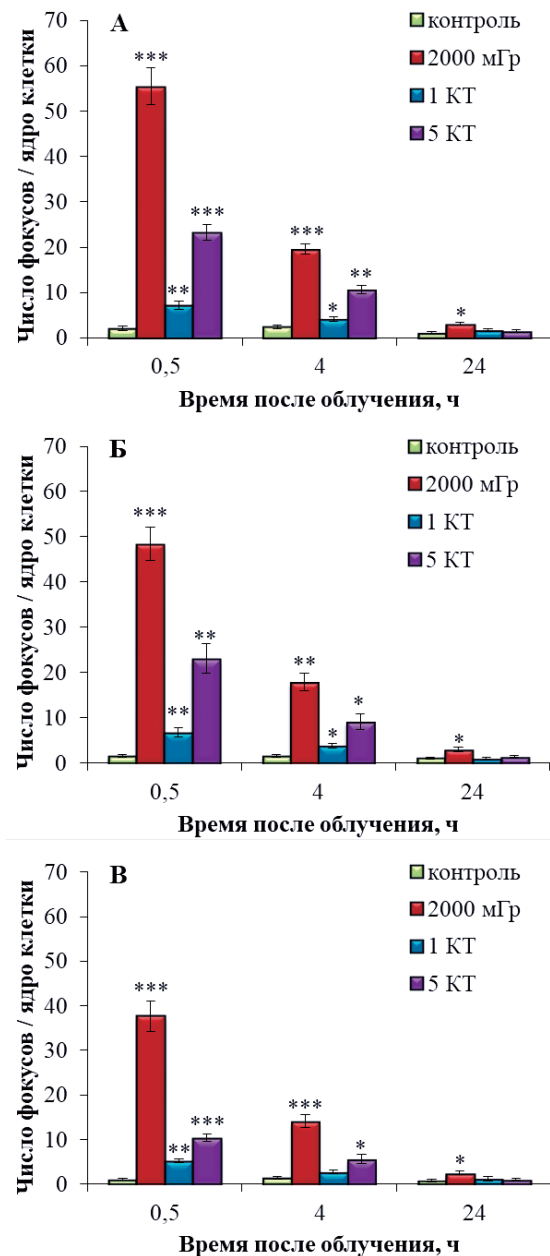


Рис. 1. Изменения количества фокусов белков γ H2AX (панель А), 53BP1 (панель Б) и pATM (панель В) в МСК после проведения 1 сеанса КТ (1 КТ), 5 последовательных сеансов КТ (5 КТ) и облучения рентгеновским излучением в поглощенной дозе 2000 мГр. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – значимость различий от контрольных значений

Fig. 1. Changes in the number of γ H2AX (panel A), 53BP1 (panel B) and pATM (panel B) protein foci in MSCs after 1 CT session (1 CT), 5 consecutive CT sessions (5 CT) and X-ray irradiation at an absorbed dose of 2000 mGy. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – significance of differences from control values

Изменения количества фокусов исследуемых белков после облучения МСК в дозе 2000 мГр в целом были сходны с изменениями количества фокусов этих белков в фибробластах человека, облученных рентгеновским излучением в той же дозе [10]. Через 0,5 ч после облучения количество радиационно-индуцированных фокусов за вычетом контрольных значений составляло $53,3 \pm 4,0$, $46,8 \pm 3,7$ и $36,6 \pm 3,5$ фокуса/клеточное ядро для белков γ H2AX, 53BP1 и pATM соответственно. Через 4 ч после облучения количество фокусов γ H2AX снижалось до $\sim 32\%$, а количество фокусов 53BP1 и pATM до $\sim 35\%$ от значений через 0,5 ч. Через 24 ч после облучения оставалось 4–5 % фокусов от значений 0,5 ч. Необходимо отметить, что через 24 ч после облучения в дозе 2000 мГр количество остаточных фокусов белков γ H2AX, 53BP1 и pATM в МСК было статистически значимо ($p < 0,05$) выше контрольных значений (рис. 1).

Облучение МСК в дозе 88 ± 15 мГр во время 1 сеанса КТ вызывало статистически значимое ($p < 0,01$) увеличение количества фокусов белков γ H2AX, 53BP1 и pATM, регистрируемых через 0,5 ч после облучения (рис. 1). Количество фокусов за вычетом контрольных значений $5,0 \pm 0,9$, $5,2 \pm 1,1$ и $4,2 \pm 0,4$ фокуса/клеточное ядро для белков γ H2AX, 53BP1 и pATM соответственно. Обращает на себя внимание, что количество γ H2AX и pATM близко к количеству фокусов этих белков через 0,5 ч после облучения МСК рентгеновским излучением в дозе 80 мГр [25, 27]. Облучение МСК во время 5 последо-

вательных сеансов КТ (~ 440 мГр) вызывало увеличение количества фокусов белков γ H2AX, 53BP1 и pATM, регистрируемых через 0,5 ч после облучения до $21,1 \pm 1,8$, $21,5 \pm 3,3$ и $9,3 \pm 0,9$ фокуса/клеточное ядро (рис. 1). Учитывая тот факт, что такой режим облучения занимал много времени, в течение которого часть поврежденных ДНК могла быть элиминирована, а также увеличивалась неопределенность оценки дозовых нагрузок, результаты оценки количества фокусов исследуемых белков показали хорошие результаты. Важно, что через 24 ч после облучения как во время 1 сеанса КТ, так и во время 5 последовательных сеансов КТ не было отмечено статистически значимого повышенного количества остаточных фокусов γ H2AX, 53BP1 и pATM по сравнению с контрольными значениями (см. рис. 1).

Заключение

Проведенные исследования показали, что облучение МСК во время КТ вызывает статистически значимое увеличение количества фокусов белков γ H2AX, 53BP1 и pATM, регистрируемых через 0,5 ч после облучения. Однако уже через 24 ч после облучения не было отмечено статистически значимого повышенного количества остаточных фокусов γ H2AX, 53BP1 и pATM по сравнению с контрольными значениями. В целом, комплексную оценку количества фокусов белков γ H2AX, 53BP1 и pATM можно рекомендовать для ранней биодозиметрии облучения во время КТ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

- Han M.A., Kim J.H. Diagnostic X-Ray Exposure and Thyroid Cancer Risk: Systematic Review and Meta-Analysis. *Thyroid*. 2018;28;2:220-8. doi: 10.1089/thy.2017.0159.
- Krille L., Dreger S., Schindel R., Albrecht T., Asmussen M., Barkhausen J., et al. Risk of Cancer Incidence before the Age of 15 Years after Exposure to Ionising Radiation from Computed Tomography: Results from a German Cohort Study. *Radiat Environ Biophys*. 2015;54;1:1-12. doi: 10.1007/s00411-014-0580-3.
- Kim E.E., Cenzer I., Graham F.J., Kang J., Lee S.J., Rustagi A.S. Time to Benefit for Lung Cancer Screening: a Systematic Review and Survival Meta-Analysis. *Am J Prev Med*. 2025;107736. doi: 10.1016/j.amepre.2025.107736.
- Ostrowski M., Marjanski T., Rzyman W. Low-Dose Computed Tomography Screening Reduces Lung Cancer Mortality. *Adv Med Sci*. 2018;63;2:230-6. doi: 10.1016/j.advms.2017.12.002.
- Bushmanov A., Vorobyeva N., Molodtsova D., Osipov A.N. Utilization of DNA Double-Strand Breaks for Biodosimetry of Ionizing Radiation Exposure. *Environmental Advances*. 2022;8. doi: 10.1016/j.envadv.2022.100207.
- Mah L.J., El-Osta A., Karagiannis T.C. Gamma H2ax: a Sensitive Molecular Marker of DNA Damage and Repair. *Leukemia*. 2010;24;4:679-86. doi: 10.1038/leu.2010.6.
- Pustovalova M.V., Nekrasov V.D., Andreev E.V., Fadeikina I.N., Leonov S.V., Nechaev A.N., et al. Synthesized Using β -Cyclodextrin Silver and Gold Nanoparticles as Radiosensitizers in Breast Cancer Radiotherapy. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2025;70;2:35-9. doi: 10.33266/1024-6177-2025-70-2-35-39.
- Jakl L., Markova E., Kolarikova L., Belyaev I. Biodosimetry of Low Dose Ionizing Radiation Using DNA Repair Foci in Human Lymphocytes. *Genes (Basel)*. 2020;11:1. doi: 10.3390/genes11010058.
- Plódowska M., Krakowiak W., Węgierek-Ciuk A., Lankoff A., Szary K., Lis K., et al. Hypothermia Differentially Modulates the Formation and Decay of NBS1, γ H2AX and 53BP1 Foci in U2OS Cells Exposed to Gamma Radiation. *Scientific Reports*. 2022;12:1. doi: 10.1038/s41598-022-09829-y.
- Osipov A., Chigasova A., Yashkina E., Ignatov M., Vorobyeva N., Zyuzikov N., et al. Early and Late Effects of Low-Dose X-ray Exposure in Human Fibroblasts: DNA Repair Foci, Proliferation, Autophagy, and Senescence. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25:15. doi: 10.3390/ijms25158253.
- Chigasova A.K., Pustovalova M.V., Osipov A.A., Korneva S.A., Eremin P.S., Yashkina E.I., et al. Post-Radiation Changes in The Number of Phosphorylated H2ax and Atm Protein Foci in Low Dose X-Ray Irradiated Human Mesenchymal Stem Cells. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2024;69;1:15-9. doi: 10.33266/1024-6177-2024-69-1-15-19.
- Korneva S.A., Chigasova A.K., Osipov A.A., Ignatov M.A., Vorobyeva N.Y., Saburov V.O., et al. Post-Irradiation Changes in the Number of γ H2ax and Patm Protein Foci in Human Mesenchymal Stem Cells Irradiated with 14.1 MeV Neutrons. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2025;70;3:11-5. doi: 10.33266/1024-6177-2025-70-3-11-15.
- Osipov A.A., Chigasova A.K., Yashkina E.I., Ignatov M.A., Vorobyeva N.Y., Osipov A.N. Link between Cellular Senescence and Changes in The Number and Size of Phosphorylated Histone H2ax Foci in Irradiated Human Fibroblasts. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2024;69;3:13-8. doi: 10.33266/1024-6177-2024-69-3-13-18.
- Noubissi F.K., McBride A.A., Leppert H.G., Millet L.J., Wang X., Davern S.M. Detection and Quantification of Gamma-H2AX Using a Dissociation Enhanced Lanthanide Fluorescence Immunoassay. *Sci Rep*. 2021;11:1:8945. doi: 10.1038/s41598-021-88296-3.
- Prabhu K.S., Kuttikrishnan S., Ahmad N., Habeeba U., Mariyam Z., Suleman M., et al. H2AX: A Key Player in DNA Damage Response and a Promising Target for Cancer Therapy. *Biomed Pharmacother*. 2024;175:116663. doi: 10.1016/j.biopha.2024.116663.
- Rass E., Willaume S., Bertrand P. 53BP1: Keeping it Under Control, Even at a Distance from DNA Damage. *Genes (Basel)*. 2022;13:12. doi: 10.3390/genes13122390.
- Lei T., Du S., Peng Z., Chen L. Multifaceted Regulation and Functions of 53BP1 in NHEJ-Mediated DSB Repair (Review). *Int J Mol Med*. 2022;50:1. doi: 10.3892/ijmm.2022.5145.
- Bartova E., Legartova S., Dunder M., Suchankova J. A Role of the 53BP1 Protein in Genome Protection: Structural and Functional Characteristics of 53BP1-Dependent DNA Repair. *Aging (Albany NY)*. 2019;11;8:2488-511. doi: 10.18632/aging.101917.

19. Shibata A., Jeggo P.A. ATM's Role in the Repair of DNA Double-Strand Breaks. *Genes (Basel)*. 2021;12:9. doi: 10.3390/genes12091370.
20. Marechal A., Zou L. DNA Damage Sensing by the ATM and ATR Kinases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5:9. doi: 10.1101/cshperspect.a012716.
21. Phan L.M., Rezaeian A.H. ATM: Main Features, Signaling Pathways, and Its Diverse Roles in DNA Damage Response, Tumor Suppression, and Cancer Development. *Genes (Basel)*. 2021;12:6. doi: 10.3390/genes12060845.
22. Osipov A., Chigasova A., Belov O., Yashkina E., Ignatov M., Fedotov Y., et al. Dose Threshold for Residual γ H2AX, 53BP1, pATM and p-p53 (Ser-15) Foci in X-ray Irradiated Human Fibroblasts. *International Journal of Radiation Biology*. 2025;101;3:254-63. doi: 10.1080/09553002.2024.2445581.
23. Gimadova T.I., Keirim-Markus I.B. Experience in Individual Skin Dosimetry at Workplaces and Associated Problems. *Radiation Protection Dosimetry*. 1991;39;1-3:161-4. doi: 10.1093/oxfordjournals.rpd.a081137.
24. Смирнов В.П., Боженко В.К., Гимадова Т.И., Грабовский Е.В., Грицук А.Н., Иванов А.В. и др. Летальная доза для мышей при облучении импульсным тормозным излучением сверхвысокой мощности дозы на установке Ангара-5-1 // *Физика плазмы*. 2018. Т.44. №12. С. 1030-5 [Smirnov V.P., Bozhenko V.K., Gimadova T.I., Grabovsky E.V., Gritsuk A.N., Ivanov A.V., et al. Lethal Dose for Mice Irradiated with Pulsed Bremsstrahlung Radiation of Ultra-High Dose Rate at the Angara-5-1 Facility. *Fizika Plazmy = Plasma Physics*. 2018;44;12:1030-5 (In Russ.)]. doi: 10.1134/s0367292118120132.
25. Osipov A.N., Pustovalova M., Grekhova A., Eremin P., Vorobyeva N., Pulin A., et al. Low Doses of X-Rays Induce Prolonged and ATM-independent Persistence of Gamma H2AX foci in Human Gingival Mesenchymal Stem Cells. *Oncotarget*. 2015;6;29:27275-87. doi: 10.18632/oncotarget.4739.
26. Ingram S.P., Warmenhoven J.W., Henthorn N.T., Chadiwck A.L., Santina E.E., McMahon S.J., et al. A computational Approach to Quantifying Miscounting of Radiation-Induced Double-Strand Break Immunofluorescent Foci. *Commun Biol*. 2022;5;1:700. doi: 10.1038/s42003-022-03585-5.
27. Pustovalova M., Astrelina T.A., Grekhova A., Vorobyeva N., Tsvetkova A., Blokhina T., et al. Residual Gamma H2AX foci Induced by Low Dose X-Ray Radiation in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells do not Cause Accelerated Senescence in the Progeny of Irradiated Cells. *Aging (Albany NY)*. 2017;9;11:2397-410. doi: 10.18632/aging.101327.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследования выполнены при поддержке РФФ (проект № 23-14-00078).

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.

Поступила: 20.05.2025. Принята к публикации: 25.06.2025.

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

Financing. The research was supported by the Russian Science Foundation (project No. 23-14-00078).

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

Article received: 20.05.2025. Accepted for publication: 25.06.2025.