

В.И. Архипова<sup>1</sup>, А.М. Лягинская<sup>1</sup>, С.А. Абдуллаев<sup>1,2</sup>, О.В. Паринов<sup>1</sup>, Е.Г. Метляев<sup>1</sup>

## ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МИТОХОНДРИЙ В ЯИЧНИКАХ И ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ МЫШЕЙ ПОСЛЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

<sup>1</sup> Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

<sup>2</sup> Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

Контактное лицо: Валерия Ильинична Архипова, e-mail: arkhvalery@rambler.ru

### РЕФЕРАТ

**Цель исследования:** Экспериментальная оценка повреждений ядерной ДНК (яДНК) и митохондриальной ДНК (мтДНК), количественного содержания копий мтДНК и ее мутантных форм (гетероплазмии), а также уровня оксидативного стресса (малонового диальдегида, МДА) и активности антиоксидантной системы (восстановленный глутатион, ГЛТ) в лимфоцитах и яичниках мышей после воздействия рентгеновского излучения в дозе 2 Гр.

**Материал и методы:** В исследовании использованы самки мышей линии C57B16 2-х месячного возраста и массой 22–25 г. Животных подвергали воздействию рентгеновского излучения в дозе 2 Гр. В качестве оценочных молекулярно-генетических и биохимических параметров использовали повреждение ядерной ДНК (яДНК) и митохондриальной ДНК (мтДНК), общую копию и степень гетероплазмии (мутантных копий мтДНК), а также уровни малонового диальдегида (МДА) и восстановленного глутатиона (ГЛТ). Анализы выполняли через 24 ч и 7 сут после облучения.

**Результаты:** Результаты исследования показали, что облучение мышей в дозе 2 Гр приводило к повышению уровня повреждений яДНК и мтДНК в лимфоцитах крови и яичниках. Показано, что количество копий мтДНК увеличивается относительно яДНК в лимфоцитах и яичниках мышей в течение 7 сут пострадиационного времени. Однако с увеличением общего количества копий мтДНК увеличивается уровень мутантных копий мтДНК. Отмечено существенное накопление мутантных копий мтДНК (до 15 % в лимфоцитах и 18 % в яичниках к 7-м сут). При этом, у мышей после облучения в обеих исследуемых тканях регистрировалось повышение уровня МДА, а также снижение уровня ГЛТ по сравнению с контрольными животными. Изменения всех изучаемых параметров были более выражены в ткани яичников по сравнению с лимфоцитами.

**Заключение:** Проведенное исследование демонстрирует, что радиационное воздействие индуцирует митохондриальную дисфункцию, характеризующуюся повреждениями мтДНК, накоплением мутантных копий, развитием оксидативного стресса. Выраженные изменения в яичниках подчеркивают высокую радиочувствительность репродуктивных органов. Повреждение мтДНК и последующая митохондриальная дисфункция являются одним из ведущих механизмов радиационного повреждения тканей, что имеет важное значение для оценки отдаленных последствий, включая нарушения репродуктивной функции и трансгенерационные эффекты.

**Ключевые слова:** рентгеновское излучение, мыши, лимфоциты, яичники, митохондриальная дисфункция

**Для цитирования:** Архипова В.И., Лягинская А.М., Абдуллаев С.А., Паринов О.В., Метляев Е.Г. Оценка функционального состояния митохондрий в яичниках и лимфоцитах крови мышей после рентгеновского облучения // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2025. Т. 70. № 6. С. 20–27. DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-6-20-27

V.I. Arkhipova<sup>1</sup>, A.M. Lyaginskaya<sup>1</sup>, S.A. Abdullaev<sup>1,2</sup>, O.V. Parinov<sup>1</sup>, E.G. Metlyaev<sup>1</sup>

## Evaluation of Mitochondrial Function in Blood Lymphocytes and Ovaries of Mice After Exposure to X-Ray Radiation

<sup>1</sup>A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Pushchino, Russia

Contact person: V.I. Arkhipova, e-mail: arkhvalery@rambler.ru

### ABSTRACT

**Purpose:** To experimentally assess the damage to nuclear DNA (nDNA) and mitochondrial DNA (mtDNA), the quantitative content of mtDNA copies and their mutant forms (heteroplasmy), as well as the level of oxidative stress (malondialdehyde, MDA) and the activity of the antioxidant system (reduced glutathione, GSH) in lymphocytes and ovaries of mice after exposure to X-ray radiation at a dose of 2 Gy.

**Material and methods:** The study used female C57BL/6 mice aged 2 months with a body weight of 22–25 g. The animals were exposed to X-ray radiation at a dose of 2 Gy. The assessed molecular genetic and biochemical parameters included damage to nuclear DNA (nDNA) and mitochondrial DNA (mtDNA), total copy number and degree of heteroplasmy (mutant mtDNA copies), as well as the levels of malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH). Analyses were performed 24 hours and 7 days after irradiation.

**Results:** The results showed that irradiation of mice with a dose of 2 Gy led to an increased level of damage to both nDNA and mtDNA in blood lymphocytes and ovaries. It was demonstrated that the number of mtDNA copies increases relative to nDNA in lymphocytes and ovaries of mice over the 7-day post-radiation period. However, the increase in the total number of mtDNA copies was accompanied by an elevated level of mutant mtDNA copies. A significant accumulation of mutant mtDNA copies was noted (up to 15 % in lymphocytes and 18 % in ovaries by day 7). Furthermore, in both studied tissues of irradiated mice, an increase in MDA levels and a decrease in GSH levels were registered compared to control animals. The changes in all studied parameters were more pronounced in ovarian tissue compared to lymphocytes.

**Conclusion:** This study demonstrates that radiation exposure induces mitochondrial dysfunction characterized by mtDNA damage, accumulation of mutant copies, and development of oxidative stress. The pronounced changes in the ovaries underscore the high radiosensitivity of reproductive organs. Damage to mtDNA and subsequent mitochondrial dysfunction represent one of the key mechanisms of radiation-induced tissue damage, which is important for assessing long-term consequences, including reproductive disorders and transgenerational effects.

**Keywords:** X-ray radiation, mice, lymphocytes, ovaries, mitochondrial dysfunction

**For citation:** Arkhipova VI, Lyaginskaya AM, Abdullaev SA, Parinov OV, Metlyaev EG. Evaluation of Mitochondrial Function in Blood Lymphocytes and Ovaries of Mice After Exposure to X-Ray Radiation. Medical Radiology and Radiation Safety. 2025;70(6):20–27. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-6-20-27

## Введение

Обнаружение в 60-е годы прошлого столетия в оргanelлах цитоплазмы клетки митохондрий, относительно автономных генетически белоксинтезирующих структур, привело к пониманию о наличии в цитоплазме женской половой клетки мутагенеза внеядерной цитоплазматической ДНК и существовании в женском организме «второй» наследственной структуры, что обуславливает вероятность повышенной генетической чувствительности женского организма [1, 2].

В современной системе радиационной защиты (МКРЗ) не имеется доказательных данных о влиянии радиации на геном женских половых клеток, и по генетическим эффектам радиочувствительность мужских и женских гонад признается одинаковой. Однако, приняв этот подход Комиссия (МКРЗ) признает существование различий в величинах радиационного риска между мужчинами и женщинами, определяя больший риск для женщин (Публикация № 103), который связывается с наличием в женской половой клетке мутагенеза внеядерной митохондриальной (мтДНК) – второй наследственной структуры [1, 2].

МКРЗ пришел к заключению, что к одним из наиболее серьезных последствий воздействия радиации на человека относятся последствия облучения женских репродуктивных органов, проявляющиеся нарушениями репродуктивной системы, повреждением ядерного хромосомного генетического материала, приводящего к патологии и возможной передаче последующим поколениям. Рассмотрены вопросы радиочувствительности ооцитов и яичников на разных стадиях развития, экспериментальные данные по влиянию облучения на ядерную ДНК и митохондриальную ДНК. В настоящее время установлена связь мтДНК яичника с функциональным состоянием системы женского организма.

Помимо непосредственного участия в развитии эмбрионов изучается роль митохондрий в формировании целого ряда заболеваний, часть из которых является наследственной. Известны заболевания, в основе патогенеза которых лежат изменения митохондриальной ДНК (мтДНК) яйцеклетки. Мутации мтДНК яйцеклетки, приводящие к апоптозу и снижению энергетического потенциала митохондрий, ассоциированы со снижением фертильности, повышенным риском спонтанных выкидышей и аномалий развития, а также рядом заболеваний (рак, энцефалопатия, нейросенсорная глухота и др.), которые наследуются по материнской линии [3]. Также установлен целый ряд заболеваний, патогенез которых обусловлен патологией мтДНК: митохондриальная миопатия [4], наследственная нейропатия зрительного нерва Лебера, нейросенсорная глухота, хроническая прогрессирующая внешняя офтальмоплегия, энцефалопатия [5], лактат-ацидоз [5], синдром Лея, синдром Пирсона и др. [6].

Однако, сведения о действии ионизирующего излучения на митохондриальную генетическую структуру –

мтДНК женской половой клетки ограничены единичными работами.

Опубликованы данные [7] о последствиях острого однократного облучения мтДНК самок мышей (*in vivo* и *in vitro*) в дозе 2 Гр (мощность 1,8 Гр/мин.). Показано, что через 1 сутки после облучения уровни мтДНК в клетках крови самок мышей увеличились, а коэффициенты неповрежденных копий снизились, что указывает на нестабильность митохондриального генома женского организма.

У потомства облученных самок мышей в дозе 2 Гр, спаренных с интактными самцами через 1 сут после облучения, понижены уровни мтДНК в крови, что свидетельствует о трансгенерационном эффекте наследования поврежденных материнской мтДНК [7].

Опубликованные данные о высокой радиочувствительности митохондриальных ооцитов эмбрионов [8–10], которые являются важным эпигенетическим, посредством которого наследуются фенотипы потомства.

В работе [11] приведены данные о воздействии  $\gamma$ -облучения на митохондриальные характеристики в незрелых ооцитах потомства мышей через 9–11 сут после рождения у самок, облученных в дозе 0,1 Гр и спаренных через 3, 6, 24 ч после облучения. Полученные результаты показали, что  $\gamma$ -облучение пубертатных мышей связано с потерей митохондриального мембранного потенциала в значительной части небольших незрелых ооцитов и снижении количества зрелых ооцитов у взрослых мышей. Эти результаты также показали, что незрелые ооциты, которые после облучения развиваются до овуляции, содержат митохондрии с нормальными показателями.

Опубликованы данные о сравнительной радиочувствительности митохондриального и ядерного генома при однократном остром облучении в высоких дозах мышей-самцов, в которых показано, что митохондриальный геном в соматических клетках более чувствителен, чем ядерный в 2–3 раза, и, что радиация может индуцировать двухцепочечные разрывы мтДНК [12, 13]. Кроме того, в работе [12] показано, что мелатонин оказывает стимулирующее пострадиационное восстановление и ядерной, и митохондриальной ДНК, снижает уровень мутагенных копий ДНК, а также восстанавливает митохондриальные функции в тканях селезенки и коры головного мозга облученных крыс [12].

Важно отметить, что митохондрии ооцитов и эмбрионов чувствительны к физиологическим сигналам и весьма восприимчивы к эндогенным и внешним стрессорам, а митохондриальные сигналы становятся важными эпигенетическими механизмами, посредством которых наследуются фенотипы потомства [8–10]. Митохондриальная ДНК (мтДНК), в отличие от ядерного генома, является кольцевой и состоит из более чем 16 кб, которые кодируют 37 генов, включая множественные генные продукты, которые необходимы для окислительного фосфорилирования [9, 14]. Кроме того, каждая

митохондрия может содержать несколько копий мтДНК, при этом общее число копий мтДНК в ооцитах млекопитающих превышает 200 тыс. копий [15].

Приводятся данные о сохранении и даже усилении устойчивости цитоплазматических структур клетки к летальному действию (8 Гр) радиации [16–18]. Показано, что при облучении мышей в этих дозах наблюдается повышенный уровень мутантных копий мтДНК в тканях головного мозга и селезенке, который зависит от дозы и вида ткани (органа): в селезенке уровень мутантных копий выше, чем в тканях головного мозга, а радиочувствительность мтДНК в 2–3 раза выше, чем у ядерной ДНК [12, 19].

Тем не менее, имеющиеся в настоящее время данные о влиянии ионизирующей радиации на цитоплазматические наследственные структуры женской половой клетки и их роль в развитии потомства остаются крайне ограниченными.

Целью настоящей работы является экспериментальное исследование повреждений ядерной ДНК (ядДНК) и митохондриальной ДНК (мтДНК), определение общего количества копий мтДНК и ее мутантных форм (гетероплазмии), а также уровни малонового диальдегида (МДА) и восстановленного глутатиона (ГЛТ) в яичниках и лимфоцитах крови мышей после рентгеновского облучения в дозе 2 Гр.

#### Материал и методы

В исследовании использованы самки мышей линии *C57B16* 2-х месячного возраста и массой 22–25 г, полученных из питомника лабораторных животных «Столбовая», РП Столбовая, р-н Чеховский, Московская область. 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. Животных содержали в поликарбонатных клетках на установке ИВК (индивидуальная вентиляция клеток) с подачей стерильного воздуха (Фармбиотайн, Финляндия). Животные были акклиматизированы в течение 1 недели до начала экспериментов. Мышей кормили стандартным гранулированным кормом для лабораторных животных (ООО «Мест», Москва) для мышей и крыс *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  $22 \pm 2$  °C и при влажности  $45 \pm 5$  %.

Облучение животных проводили в ФГБУ ГНЦ 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. Мышей в пластиковых контейнерах (по 6 особей вместе) подвергали облучению в дозе 2 Гр.

Животных умерщвляли путем обезглавливания через 24 ч и 7 дн после облучения. В качестве контроля использовали группу необлученных мышей. Кровь и ткани яичников изолировали и замораживали при  $-80$  °C до проведения анализов.

Общую геномную ДНК из лимфоцитов крови выделяли с помощью набора ДНК-ЭКСТРАН-1 (ЗАО «Синтол», Москва), из ткани яичников с использованием набора ДНК-ЭКСТРАН-2 (ЗАО «Синтол», Москва) в соответствии с инструкциями производителя. Количество ДНК во всех случаях определяли по ее реакции с реагентом PicoGreen, согласно протоколу производителя

(“Molecular Probes”, США) с регистрацией флуоресценции на приборе Infinite 200 NanoQuant (“Tecan Group” Ltd., Австрия).

Анализ повреждения и репарации яДНК и мтДНК был проведен с использованием метода количественной ПЦР на протяженных фрагментах (ПЦР-ПФ) [20] с учетом нашего предыдущего опыта [21, 22]. Для амплификации протяженных ампликонов использовали набор (2U/мкл) KAPA Long Range Hot Start Kit (“KAPA Biosystems”, США). Реакцию ПЦР проводили на амплификаторе Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems, США). Для амплификации длинного фрагмента мтДНК (10,9 т.п.н.) стандартная программа термоциклера включала начальную денатурацию при 94 °C в течение 5 мин, с 18 циклами при 94 °C в течение 30 сек и 68 °C в течение 12,5 минут и с конечной элонгацией при 72 °C в течение 10 мин. Для амплификации длинного фрагмента яДНК (8,7 т.п.о.) программа включала начальную денатурацию при 94 °C в течение 5 мин и 28 циклов при 94 °C в течение 30 сек и 68 °C в течение 12 мин с конечной элонгацией при 72 °C в течение 10 мин. Предварительные анализы были проведены для обеспечения линейности амплификации ПЦР по отношению к числу циклов и концентрации ДНК. Поскольку амплификация небольшой области была бы относительно независимой от окислительного повреждения ДНК (низкая вероятность), небольшие фрагменты мтДНК (117 п.н.) и яДНК (110 п.н.) также амплифицировали для нормализации данных, полученных с большими фрагментами. Праймеры для ПЦР, использованные в этих анализах, приведены в табл. 1.

ПЦР-анализы проводили в трех экземплярах для каждого образца ДНК. Все амплифицированные продукты были разделены и визуализированы с помощью электрофореза в агарозном геле и количественно оценены с помощью системы Image Quant (Molecular Dynamics) или Varsadoc (Bio-Rad).

Количественный анализ мтДНК относительно яДНК проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием системы TaqMan на термоциклере Prism 7500 (Applied Biosystems, Foster City, USA). Для анализа использовали метод  $2^{-\Delta\Delta CT}$ . ПЦР-тесты проводили в трех экземплярах для каждого образца ДНК. Программа ПЦР включала: 5 минут при 95 °C, затем 40 циклов (95 °C в течение 30 секунд, отжиг и элонгация при 60 °C в течение 1 минуты). Результаты представлены в виде процента данных по сравнению с необлученными мышами (принимается за 100 %). Праймеры для ПЦР, использованные в этом анализе, приведены в табл. 1.

Для определения количества мутантных копий мтДНК, использовали набор Surveyor Mutation Detection Kit (Integrated DNA Technologies, Coralville, USA), как описано [23, 24]. Для оценки мутаций в мтДНК, амплифицировали фрагмент, включающий ген *D-loop 1* (1092 п.н.). Праймеры для ПЦР, использованные в этих анализах, приведены в табл. 1. ПЦР проводилась на программируемом амплификаторе Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems, Foster City, USA). Реакционная смесь ПЦР (общий объем 25 мкл) содержала: 75 мМ Трис-НСl, pH 8.8, 20 мМ  $(NH_4)_2SO_4$ , 2.5 мМ  $MgCl_2$ , 200 мкМ каждого dNTP, 250 нМ каждого праймера, 0,01 % твин-20. В реакционную смесь вводили 1 нг ДНК и 1 суммарную единицу смеси Taq-и Pfu-полимераз (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), которую вносили методом “горячего старта” после первичной денатурации ДНК-матриц при 94 °C в течение 4 мин. ПЦР проводили в режиме 40 циклов: денатурация 30 сек при 94 °C, отжиг 30 сек при 62 °C и элонгация 1 мин при 72 °C, после которых – за-

Таблица 1

**Праймеры и зонды, использованные в работе**  
**Primers and probes used in the work**

Локус	Праймеры, зонды	5→3' последовательность	Размер, п.о.
мтДНК	for rev	<i>Праймеры для ПЦР (ПФ)</i> GCCAGCCTGACCCATAGCCATAATAT GAGAGATTTTATGGGTGTAATGCGG	10,9 kb
мтДНК	for rev	CCCAGCTACTACCATCATCAAGT GATGGTTTGGGAGATTGGTTGATGT	117
ядНК	for rev	TTGAGACTGTGATTGGCAATGCCT CCTTTAATGCCCATCCCGGACT	8,7 kb
ядНК	for rev	CTGCCTGACGGCCAGG GGAAAAGAGCCTCAGGGCAT	110
<i>ND4</i>	for rev probe	<i>Праймеры для определения количества копий мтДНК/ядНК</i> ATTATATTACCCGATGAGGGAACC ATTAAGATGAGGGCAATTAGCAGT FAM-ACGCCTAAACGCAGGGATTATTTCTTA-BHQ1	115
<i>GAPDH</i>	for rev probe	GTGAGGGGAGATGCTCAGTGT CTGGCATTGCTCTCAATGAC ROX-TAAGAAACCCTGGACCACCCACCCC-BHQ2	214
<i>D-loop 1</i>	for rev	<i>Праймеры для определения мутантных копий мтДНК</i> TAAACATTACTCTGGTCTTGAAACC ATTAATAAGGCCAGGACCAAACCT	1092

вершающая инкубация 4 мин при 72 °С. После завершения реакции, все продукты ПЦР образцов ДНК были доведены до одинаковой концентрации путем добавления ТЕ буфера. Для получения гетеродуплексов смешивали равные объемы (по 7 мкл) ПЦР-ампликонов мтДНК исследуемых тканей облученных и контрольных мышей. Смеси нагревали при 95 °С в течение 10 мин и медленно охлаждали до 40 °С в течение 70 мин при скорости снижения температуры 0,3 °С/мин. Затем образцы выдерживали 45 мин при комнатной температуре. К смеси гетеродуплексов добавляли 1/10 объема 0,15 М раствора MgCl<sub>2</sub>, 1 мкл Surveyor Enhancer S и 1 мкл Surveyor Nuclease S. Смесь инкубировали при 42 °С в течение 60 мин. Затем реакцию останавливали добавлением 1/10 объема Stop-раствора в соответствии с протоколом производителя (Integrated DNA Technologies, Coralville, USA). Продукты расщепления эндонуклеазой анализировали с помощью электрофореза в 2,0 % агарозном геле, окрашенном бромидом этидия. ПЦР-тестирование гетеродуплексов проводили в трех экземплярах для каждого образца ДНК. Интенсивность флуоресценции полос ДНК в гелях регистрировали с помощью AlphaImager Mini System ("Alpha Innotech", Foster City, USA). Отношение флуоресценции продуктов расщепления к общей интенсивности флуоресценции полос ДНК в геле (% ДНК, расщепленной Surveyor Nuclease) рассчитывали с использованием пакета программ ImageJ (Wayne Rasband, Bethesda, USA).

Содержание МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), согласно методу Бюге и Ауэста [25]. Для этого ткани гомогенизировали в лизисном буфере (50 ммоль/л Трис-Cl, 1 % NP-40, 0,2 % дезокси-холата натрия, 0,1 % SDS, 150 ммоль/л NaCl и 1 ммоль/л ЭДТА). Далее один объем лизата тканей смешивали с двумя объемами реагента ТБК (15 % ТХУК, 0,375 % ТБК и 0,25 н HCl) с последующей инкубацией при 90 °С в течение 30 мин. После охлаждения реакцию смесь центрифугировали при 10000 об/мин в течение 15 мин. Поглощение супернатанта измеряли при 533 нм. Уровень перекисного окисления липидов рассчитывали по содержанию МДА в наномолях на миллиграмм белка.

Содержание ГЛТ оценивали по методу Элмана [26]. Ткани гомогенизировали в лизисном буфере, как указано при определении МДА. К 0,2 мл гомогената тка-

ни добавляли 1,8 мл 0,05 М ЭДТА и 3 мл осаждающего реагента (содержащего 1,67 г HPO<sub>3</sub>, 0,2 г двуназиевой соли ЭДТА и 30 г NaCl на 1 л воды). После тщательного перемешивания смесь выдерживали в течение 5–7 мин, затем центрифугировали. Этот шаг способствует отделению ГЛТ (в супернатанте) от остальной части белков и других клеточных элементов (в осадке). Затем к одному объему супернатанта добавляли два объема 0,3 моль/л раствора Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и 0,5 объема DTNB (5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислоты). Поглощение определяли при 412 нм против смеси растворов без добавок биоматериала. ГЛТ оценивали в нмоль/мг белка, с использованием стандартной кривой.

Полученные результаты обрабатывали в программе Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.). Достоверность различий выборок оценивали с помощью *t* критерия Стьюдента при *p* < 0,05. Данные представляли в виде среднего арифметического результатов трёх независимых экспериментов ± стандартная ошибка среднего (*M* ± *SEM*).

### Результаты и обсуждение

На рис. 1 (в гистограммах) представлены результаты ПЦР-ПФ анализов по оценке наличия повреждений и их репарации в яДНК (8,7 тыс. п.н.) и мтДНК (10,9 тыс. п.н.) в лимфоцитах и яичниках мышей, подвергнутых воздействию рентгеновского излучения в дозе 2 Гр. Над гистограммами представлены образцы электрофореграмм ПЦР-ПФ ампликонов яДНК и мтДНК, а также электрофореграммы продуктов амплификации контрольных коротких фрагментов яДНК (110 п.н.) и мтДНК (117 п.н.). Продукты амплификации длинных участков яДНК и мтДНК из тканей необлученных мышей приняты как контроль за 100 %. Можно видеть, что уровень синтезируемых продуктов ПЦР-ПФ яДНК и мтДНК, выделенных из лимфоцитов и яичников мышей через 24 часа после их облучения, существенно ниже по сравнению с таковым у контрольных (необлученных) мышей. Этот результат указывает на наличие в образцах яДНК и мтДНК облученных мышей повреждений, способных блокировать ПЦР-ПФ. Результаты анализов показывают также, что количество амплифицируемых продуктов ПЦР-ПФ становится больше в лимфоцитах и яичниках через 7 сут после их облучения. Очевидно, что возрастание количества синтезированного продукта

в реакциях с этими образцами ДНК обусловлено снижением повреждений, способных снижать активность ДНК-полимеразы. Если полагать, что увеличение синтеза продукта ПЦР-ПФ яДНК в пострadiационный период обусловлено репарацией части ее повреждений, то вряд ли это будет верно относительно резкого увеличения синтеза продуктов мтДНК из этих же тканей. Поскольку известно, что в митохондриях млекопитающих эффективно функционирует только эксцизионная репарация оснований ДНК [27]. Другие пути репарации поврежденных ДНК не функционируют в митохондриях млекопитающих. Более того, двунитевые разрывы (ДНР) мтДНК в клетках млекопитающих не репарируются [28, 29], и мтДНК с возникновением ДНР может подвергаться деградации [30]. Поэтому в данном случае, мы можем полагать, что наблюдаемое увеличение продукта ПЦР-ПФ мтДНК у мышей после облучения обусловлено, скорее всего, пострadiационной активацией биогенеза митохондрий с синтезом новых копий мтДНК.

Предполагаемая пострadiационная активация биогенеза митохондрий согласуется с результатами анализов, полученных методом ПЦР в реальном времени, которые показывают, что количества копий мтДНК увеличиваются относительно яДНК в лимфоцитах и яичниках мышей в течение 7 сут пострadiационного времени (рис. 2).

При инициации репликативного синтеза с вовлечением поврежденных мтДНК, посредством ДНК-полимеразы  $\gamma$ , можно ожидать появление новых копий мтДНК с мутациями и делециями в тканях мышей, после их облучения [31, 32].

Результаты наших анализов показывают, что в лимфоцитах и яичниках мышей после облучения возникает резкое увеличение количества мутантных копий мтДНК в течение 7 сут (рис. 3).

Так, в лимфоцитах крови мышей через 24 ч и 7 сут после воздействия рентгеновского излучения в дозе 2 Гр количество мутантных копий мтДНК достигает около 11 % и 15 %, соответственно от общего количества копий мтДНК. В яичниках мышей в эти же сроки после их облучения количество мутантных копий мтДНК составляло около 15 и 18 %, соответственно.

В качестве параметров, характеризующих уровень оксидативного стресса и активность антиоксидантных систем организма нами были использованы малоновый диальдегид (МДА) и восстановленный глутатион (ГЛТ).

На рис. 4 представлены результаты анализа изменения продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) в лимфоцитах и яичниках мышей, подвергнутых воздействию рентгеновского излучения. Эти результаты показывают, что, как в лимфоцитах, так и в яичниках через 24 ч после облучения в дозе 2 Гр наблюдается резкое повышение МДА. При этом более выраженное увеличение уровня МДА через 24 ч после облучения наблюдалось в яичниках, по сравнению с лимфоцитами. Однако через 7 сут после облучения регистрировалось значительное снижение уровня МДА.

Результаты полученных данных показывают, что в лимфоцитах и яичниках мышей в течение 24 ч после облучения в дозе 2 Гр сохраняется пониженное содержание глутатиона (рис. 5). Эти данные также показывают, что содержание глутатиона в обеих тканях восстанавливалось на 7-е сут пострadiационного периода. Восстановленный глутатион (ГЛТ) является важнейшим ферментативным антиоксидантом, который играет значительный роль в определении радиочувствительности клеток.

Таким образом, результаты свидетельствуют о том, что у самок мышей после их облучения в дозе 2 Гр в

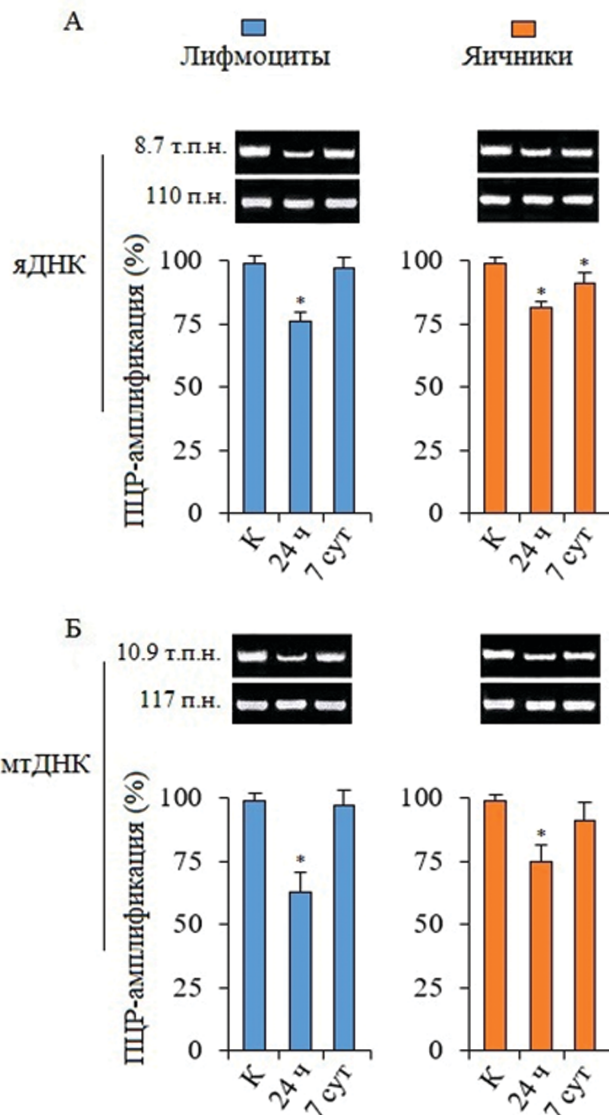


Рис. 1. Анализ повреждений и репарации яДНК (А) и мтДНК (Б) в лимфоцитах крови и яичниках мышей через 24 ч и 7 дн после воздействия рентгеновского излучения в дозе 2 Гр. Амплифицировали длинные фрагменты яДНК (8.7 т.п.н.) и мтДНК (10.9 т.п.н.). Эти данные были нормализованы к коротким фрагментам яДНК (110 п.н.) и мтДНК (117 п.н.), полученным с использованием того же образца ДНК. К – контроль (необлученные мыши). \* –  $p < 0,05$  значимость различий от контрольных значений

Fig. 1. Analysis of damage and repair of nuclear DNA (A) and mitochondrial DNA (B) in blood lymphocytes and mouse ovaries 24 h and 7 days after exposure to 2 Gy of X-ray radiation. Long fragments of nuclear DNA (8.7 kb) and mitochondrial DNA (10.9 kb) were amplified. These data were normalized to short fragments of nuclear DNA (110 bp) and mitochondrial DNA (117 bp) obtained using the same DNA sample. K – control (non-irradiated mice). \* –  $p < 0.05$  significance of differences from the control values

лимфоцитах и яичниках возникает митохондриальная дисфункция с повышенным окислительным стрессом.

Полученные результаты в целом демонстрируют, что воздействие рентгеновского излучения в дозе 2 Гр приводит к значительным повреждениям как яДНК, так и мтДНК в лимфоцитах и яичниках мышей, которые через 24 ч после облучения проявляются существенным снижением эффективности амплификации протяженных фрагментов ДНК, что свидетельствует о наличии повреждений, блокирующих процесс ПЦР. Через 7 сут после облучения отмечается частичное восстановление

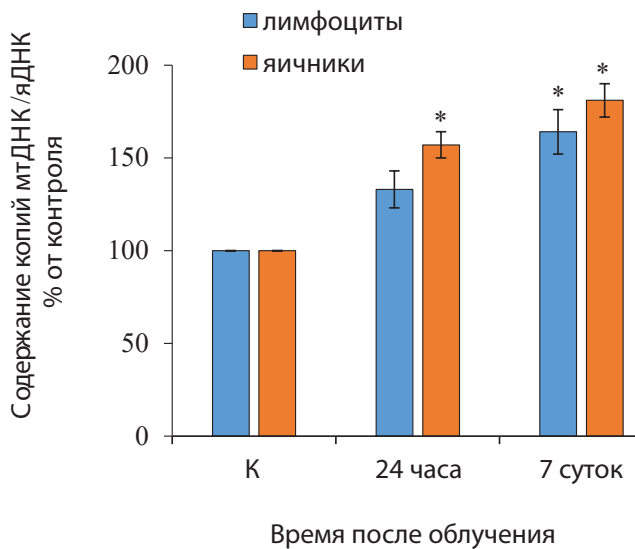


Рис. 2. Изменение общего количества копий мтДНК в лимфоцитах крови и яичниках мышей после воздействия рентгеновского излучения в дозе 2 Гр. \* –  $p < 0,05$  значимость различий от контрольных значений

Fig. 2. Changes in the total number of mitochondrial DNA copies in blood lymphocytes and mouse ovaries after exposure to 2 Gy of X-ray radiation. \* –  $p < 0.05$  significance of differences from control values

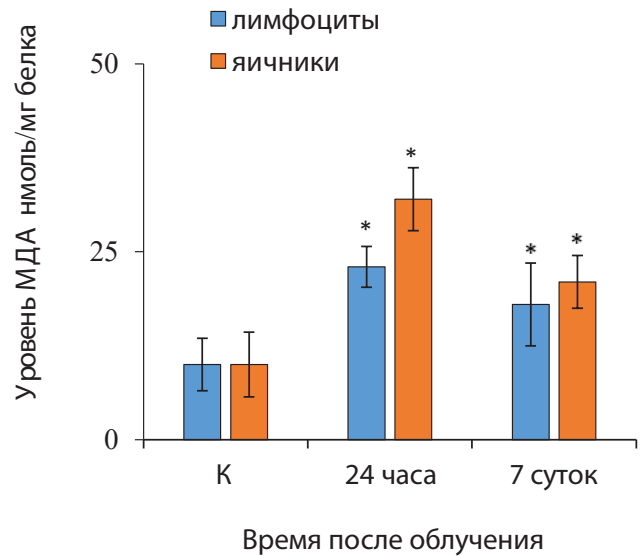


Рис. 4. Изменение содержания малонового диальдегида (МДА) в лимфоцитах крови и яичниках после воздействия рентгеновского излучения в дозе 2 Гр. К – контроль (необлученные мыши). \* –  $p < 0,05$  значимость различий от контрольных значений

Fig. 4. Changes in the content of malondialdehyde (MDA) in blood lymphocytes and ovaries after exposure to 2 Gy of X-ray radiation. K – control (unirradiated mice). \* –  $p < 0.05$  significance of differences from control values

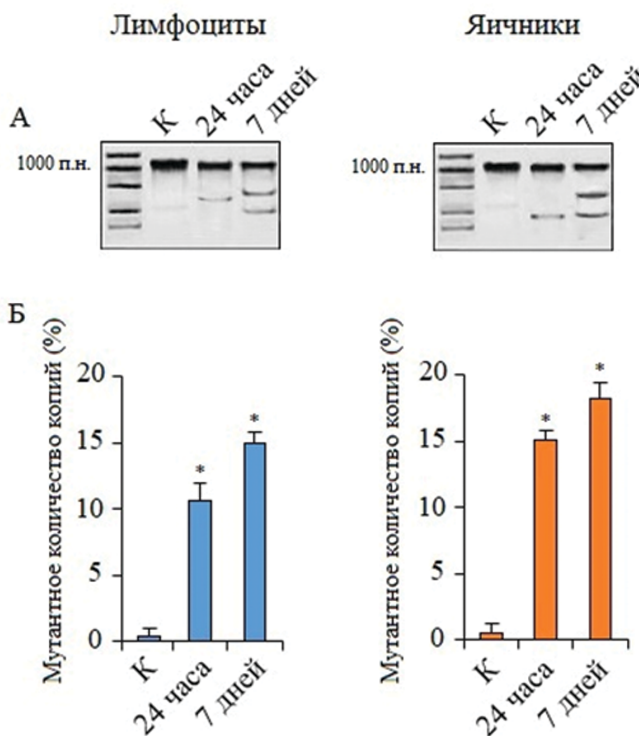


Рис. 3. Выявление мутантных копий мтДНК в лимфоцитах крови и яичниках после воздействия рентгеновского излучения в дозе 2 Гр. (А) – Электрофорез продуктов расщепления Surveyor нуклеазой гетеродуплексов ПЦР-ампликонов мтДНК. (Б) – Процент расщепленных Surveyor нуклеазой гетеродуплексов ПЦР-ампликонов, включающий ген *D-loop 1* (1092 п.н.). К – контроль (необлученные мыши). \* –  $p < 0,05$  значимость различий от контрольных значений

Fig. 3. Detection of mutant mtDNA copies in blood lymphocytes and ovaries after exposure to 2 Gy of X-ray radiation. (A) Electrophoresis of Surveyor nuclease-digested heteroduplex PCR amplicons of mtDNA. (B) Percentage of Surveyor nuclease-digested heteroduplex PCR amplicons containing the *D-loop 1* gene (1092 bp). K is the control (unirradiated mice). \* –  $p < 0.05$  significance of differences from control values

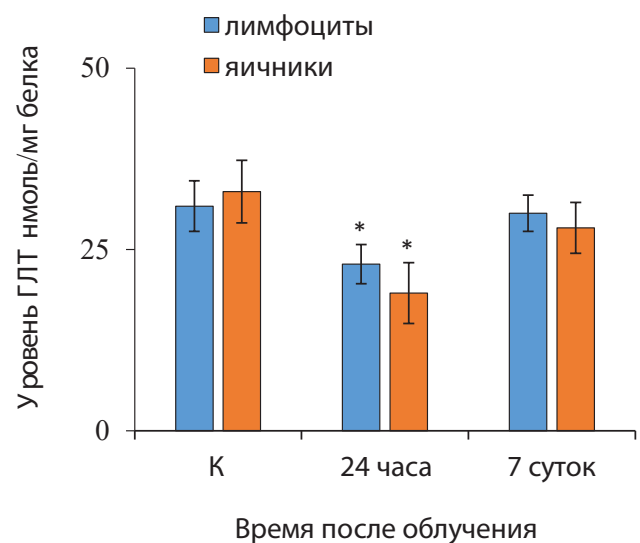


Рис. 5. Изменение содержания восстановленного глутатиона (ГЛТ) в лимфоцитах крови и яичниках после воздействия рентгеновского излучения в дозе 2 Гр. К – контроль (необлученные мыши). \* –  $p < 0,05$  значимость различий от контрольных значений

Fig. 5. Changes in the content of reduced glutathione (GSH) in blood lymphocytes and ovaries after exposure to 2 Gy of X-ray radiation. K – control (unirradiated mice). \* –  $p < 0.05$  significance of differences from control values

амплификации яДНК, что может быть связано с активацией репарационных систем. Однако в случае мтДНК наблюдаемое увеличение количества амплифицируемых продуктов, вероятно, обусловлено не репарацией, а компенсаторной активацией биогенеза митохондрий, включением синтеза новых копий мтДНК [21, 22].

Важным фактом является повышенный уровень мутантных копий мтДНК в лимфоцитах и яичниках в период после облучения. Через 7 сут после облучения доля мутантных копий достигает 15–18 %, что может быть следствием репликации поврежденных молекул мтДНК

с участием ДНК-полимеразы. Учитывая отсутствие эффективных механизмов репарации двуниевых разрывов в мтДНК у млекопитающих, накопление мутаций может приводить к нарушению функций митохондрий, включая окислительное фосфорилирование и генерацию активных форм кислорода (АФК) [21].

Показатели окислительного стресса (МДА) и антиоксидантной защиты (ГЛТ) подтверждают развитие митохондриальной дисфункции после облучения. Резкое повышение уровня МДА через 24 ч свидетельствует об интенсификации перекисного окисления липидов, что согласуется с данными о радиационно-индуцированном окислительном стрессе. Более выраженное увеличение МДА в яйцниках по сравнению с лимфоцитами может отражать повышенную радиочувствительность репродуктивных тканей. Снижение уровня ГЛТ в первые сутки после облучения указывает на истощение антиоксидантной системы, тогда как его восстановление к 7-м сут свидетельствует об активации компенсаторных механизмов.

Полученные данные согласуются с современными представлениями о радиационно-индуцированном повреждении ДНК и митохондриальной дисфункции. Известно, что мтДНК более чувствительна к радиационному воздействию, чем яДНК, из-за отсутствия гистоновой защиты и менее эффективных систем репарации [33]. Накопление мутаций мтДНК ассоциировано с развитием митохондриальных патологий, а также процессов естественного старения как всего организма в целом, так и яйчников [34–36].

Результаты также соответствуют данным о пострациональном окислительном стрессе и роли глутатиона в защите клеток от радиационного повреждения. Повышенный уровень МДА отражает интенсивность перекисного окисления липидов, что характерно для радиационного воздействия. Восстановление уровня ГЛТ к 7-м сут согласуется с активацией антиоксидантных систем в ответ на окислительный стресс.

Таким образом, проведенное исследование вносит ряд уточнений и дополнений к существующим представлениям о влиянии ионизирующего излучения на митохондриальную ДНК и определяет повреждение мтДНК, как развитие митохондриальной дисфункции в ответ на

облучение репродуктивных органов. Эти данные важны для понимания отдаленных последствий радиационного воздействия, особенно для репродуктивного здоровья и трансгенерационных эффектов.

### Выводы

- 1) Радиационное воздействие в дозе 2 Гр приводит к повреждению яДНК и мтДНК в лимфоцитах и яйцниках мышей, что проявляется снижением амплификации протяженных фрагментов ДНК в первые 24 ч после облучения. Восстановление уровня амплификации яДНК к 7-м сут может быть связано с репарационными процессами, тогда как увеличение количества копий мтДНК обусловлено, скорее всего, компенсаторным биогенезом митохондрий.
- 2) Накопление мутантных копий мтДНК (до 15–18 % через 7 сут) свидетельствует о репликации поврежденных молекул, что может приводить к долгосрочным нарушениям митохондриальных функций.
- 3) Окислительный стресс (повышение МДА) и снижение уровня ГЛТ в первые сутки после облучения подтверждают развитие митохондриальной дисфункции, которая частично компенсируется к 7-м сут.
- 4) Яичники демонстрируют более выраженные изменения по сравнению с лимфоцитами, что подчеркивает их высокую радиочувствительность и потенциальный риск нарушений репродуктивной функции.
- 5) Митохондриальная дисфункция, обусловленная радиационно-индуцированным повреждением мтДНК и последующим накоплением мутантных копий, является одним из механизмов патогенеза радиационного поражения тканей, включая репродуктивные органы (яичники). Данный процесс опосредован усилением окислительного стресса, нарушением энергетического метаболизма, что может объяснить отдаленные последствия облучения, такие как снижение фертильности либо преждевременное старение репродуктивной системы.

Таким образом, проведенное исследование дополняет существующие знания о влиянии ионизирующего излучения на митохондриальный геном и подчеркивает важность дальнейшего изучения механизмов радиационно-индуцированных нарушений в репродуктивных тканях.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Публикация 103 Международной Комиссии по радиационной защите (МКРЗ): Пер. с англ. / Под общ. ред. М.Ф.Киселёва и Н.К.Шандалы. М.: Алана, 2009. 312 с. [*Publikatsiya 103 Mezhdunarodnoy Komissii po Radiatsionnoy Zashchite (MKR3)* = Publication 103 of the International Commission on Radiological Protection (ICRP-3). Ed. M.F.Kiselov, N.K.Shandala. Moscow, Alana Publ., 2009. 312 p. (In Russ.)].
2. Нормы радиационной безопасности НРБ-99/2009: Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. 100 с. [*Normy Radiatsionnoy Bezopasnosti NRB-99/2009* = Radiation Safety Standards NRB-99/2009. Sanitary and Epidemiological Rules and Regulations. Moscow, Federal'nyy Tsentr Gigiyeny i Epidemiologii Rospotrebnadzora Publ., 2009. 100 p. (In Russ.)].
3. Suomalainen A. Mitochondrial DNA and Disease. *Annals of Medicine*. 1997;29;3:235-246. Doi: 10.3109/07853899708999341.
4. Chinnery P.F., Johnson M.A., Wardell T.M., Singh-Kler R., Hayes C., Brown D.T., Taylor R.W., Bindoff L.A., Turnbull D.M. The Epidemiology of Pathogenic Mitochondrial DNA Mutations. *Ann Neurol*. 2000;48;2:188-93.
5. Majamaa K., Moilanen J.S., Uimonen S., Remes A.M., Salmela P.I., Karppa M., Majamaa-Voltti K.A., Rusanen H., Sorri M., Peuhkurinen K.J., Hassinen I.E. Epidemiology of A3243G, the Mutation for Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Episodes: Prevalence of the Mutation in an Adult Population. *Am J Hum Genet*. 1998;63;2:447-454. Doi: 10.1086/301959.
6. Schapira A.H. Mitochondrial Disease. *Lancet*. 2006;368;9529:70-82. Doi: 10.1016/S0140-6736(06)68970-8.
7. Seino R., Kubo H., Nishikubo K., Fukunaga H. Radiation-Induced Impacts on Mitochondrial DNA and the Transgenerational Genomic Instability. *Environment International*. 2025;196: 109315. Doi:10.1016/j.envint.2025.109315
8. Elias-Lopez A.I., Vázquez-Mena O., Sferruzzi-Perri A.N. Mitochondrial Dysfunction in the Offspring of Obese Mothers and its Transmission through Damaged Oocyte Mitochondria: Integration of Mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis*. 2023;1869:166802.
9. Turner N., Robker R.L. Developmental Programming of Obesity and Insulin Resistance: does Mitochondrial Dysfunction in Oocytes Play a Role? *Mol. Hum. Reprod*. 2015;21:23-30.
10. Gyllenhammer L.E., Entringer S., Buss C., Wadhwa P.D. Developmental Programming of Mitochondrial Biology: a Conceptual Framework and Review. *Proc. Biol. Sci*. 2020;287: 20192713.
11. Wang Q., Stringer J.M., Liu J., et al. Evaluation of Mitochondria in Oocytes Following  $\gamma$ -Irradiation. *Sci. Rep*. 2019;9:19941. Doi:10.1038/s41598-019-56423-w.

12. Абдуллаев С.А. Пострадиационные механизмы функционирования и стабилизации митохондриального генома: Автореф. Дис... докт. мед. наук. М., 2023. 45 с. [Abdullayev S.A. *Postradiatsionnyye Mekhanizmy Funktsionirovaniya i Stabilizatsii Mitokhondrial'nogo Genoma* = Post-Radiation Mechanisms of Functioning and Stabilization of the Mitochondrial Genome. Extended Abstract of Doctor's Thesis (Med.). Moscow Publ., 2023. 45 p. (In Russ.)].
13. Wen Zhanga, Shi Chena, Hua Guan, Ping-Kun Zhou. Radiation-Induced Non-Targeted Effect of Immunity Provoked by Mitochondrial DNA Damage Triggered cGAS/ AIM2 Pathways. *Radiation Medicine and Protection*. 2022;3:47–55. Doi: 10.1016/j.radmp.2022.05.002.
14. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B., de Bruijn M.H., Coulson A.R., Drouin J., Eperon I.C., Nierlich D.P., Roe B.A., Sanger F., et al. Sequence and Organization of the Human Mitochondrial Genome. *Nature*. 1981;290:457-465. Doi: 10.1038/290457a0.
15. St John J.C., Okada T., Andreas E., Penn A. The Role of mtDNA in Oocyte Quality and Embryo Development. *Mol. Reprod. Dev*. 2023;90:621-633. Doi: 10.1002/mrd.23640.
16. Лягинская А.М., Петроян И.М., Ермалицкий А.П., Купцов В.В., Карелина Н.М. Радиационно-гигиенические аспекты состояния репродуктивного здоровья мужчин персонала АЭС // Гигиена и санитария. 2017. Т.96. №96. С. 883-887 [Lyaginskaya A.M., Petyan I.M., Yermalitskiy A.P., Kuptsov V.V., Karelina N.M. Radiation-Hygienic Aspects of the Reproductive Health of Male NPP Personnel. *Gigiyena i Sanitariya* = Hygiene and Sanitation, Russian Journal. 2017;96;9:883-887 (In Russ.)] Doi: 10.47470/0016-9900-2017-96-9-883-887.
17. Иванов И.И. Биоэнергетика в тканях и клетках при остром и лучевом поражении // Проблемы энергетике в облученном организме. Т. VI. М.: Атомиздат, 1977. С.196-201. [Ivanov I.I. Bioenergetics in Tissues and Cells during Acute and Radiation Injury. *Problemy Energetiki v Obluchennom Organizme* = Problems of Energetics in the Irradiated Organism. T. VI. Moscow, Atomizdat Publ., 1977. P.196-201. (In Russ.)].
18. Манойлов С.Е. Корреляция между радиочувствительностью и состоянием биоэнергетики // Проблемы энергетике в облученном организме. Т. VI. М.: Атомиздат, 1977. С.128-153 [Manoylov S.Ye. Correlation between Radiosensitivity and the State of Bioenergetics. *Problemy Energetiki v Obluchennom Organizme* = Problems of Energetics in the Irradiated Organism. T. VI. Moscow, Atomizdat Publ., 1977. P. 128-153 (In Russ.)].
19. Абдуллаев С.А., Анищенко Е.С., Газиев А.И. Мутантные копии митохондриальной ДНК в тканях и в плазме мышей, подвергнутых воздействию рентгеновским излучением. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2010. Т.50. №3. С. 318-328 [Abdullayev S.A., Anishchenko Ye.S., Gaziyeu A.I. Mutant Copies of Mitochondrial DNA in Tissues and Plasma of Mice Exposed to X-ray Radiation. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya* = Radiation Biology. Radioecology. 2010;50;3:318-328 (In Russ.)].
20. Furda A., Santos J.H., Meyer J., Van Houten B. Quantitative PCR-Based Measurement of Nuclear and Mitochondrial DNA Damage and Repair in Mammalian cells. *Methods Mol Biol*. 2014;1105:419-437. Doi: 10.1007/978-1-62703-739-6\_31.
21. Abdullaev S., Gubina N., Bulanova T., Gaziev A. Assessment of Nuclear and Mitochondrial DNA, Expression of Mitochondria-Related Genes in Different Brain Regions in Rats after Whole-Body X-Ray Irradiation. *Int J Mol Sci*. 2020;21:1196. Doi: 10.3390/ijms21041196.
22. Абдуллаев С.А., Глухов С.И., Газиев А.И. Мелатонин снижает радиационные повреждения селезенки и увеличивает выживаемость при его введении до и после воздействия на мышью рентгеновского излучения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2022. Т.62. №5. С. 523-531. Doi:10.31857/S0869803122050034 [Abdullayev S.A., Glukhov S.I., Gaziyeu A.I. Melatonin Reduces Radiation Damage to the Spleen and Increases Survival when Administered before and after Exposure of Mice to X-Rays. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya* = Radiation Biology. Radioecology. 2022;62;5:523-531 (In Russ.)]. Doi: 10.31857/S0869803122050034.
23. Bannwarth S., Procaccio V., Paquis-Flucklinger V. Rapid Identification of Unknown Heteroplasmic Mitochondrial DNA Mutations with Mismatch-Specific Surveyor Nuclease. *Methods Mol. Biol*. 2009;554:301-313. Doi: 10.1007/978-1-59745-521-3\_19.
24. Abdullaev S.A., Glukhov S.I., Gaziyeu A.I. Radioprotective and Radiomitigative Effects of Melatonin in Tissues with Different Proliferative Activity. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10;12:1885. Doi: 10.3390/antiox10121885.
25. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal Lipid Peroxidation. *Meth. Enzymol*. 1978;52:302-310. Doi: 10.1016/s0076-6879(78)52032-6.
26. Ellman G.L. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arch. Biochem. Biophys*. 1959;8:70-77. Doi: 10.1016/0003-9861(59)90090-6.
27. Van Houten B., Hunter S.E., Meyer J.N. Mitochondrial DNA Damage Induced Autophagy, Cell Death, and Disease. *Front. Biosci*. 2016;21:42-54. Doi: 10.2741/4375.
28. Peeva V., Blei D., Trombly G., et al. Linear Mitochondrial DNA is Rapidly Degraded by Components of the Replication Machinery. *Nat. Commun*. 2018;9;1:1727. Doi: 10.1038/s41467-018-04131-w.
29. Zhao L. Mitochondrial DNA Degradation: A Quality Control Measure for Mitochondrial Genome Maintenance and Stress Response. *Enzymes*. 2019;45:311-341. Doi: 10.1016/bs.enz.2019.08.004.
30. Golpich M., Amini E., Mohamed Z., et al. Mitochondrial Dysfunction and Biogenesis in Neurodegenerative Diseases: Pathogenesis and Treatment. *CNS Neurosci. Ther*. 2017;23;1:5-22. Doi: 10.1111/cns.12655.
31. Wisnovsky S., Sack T., Pagliarini D.J., et al. DNA Polymerase  $\theta$  Increases Mutational Rates in Mitochondrial DNA. *ACS Chem Biol*. 2018;13:900-908. Doi: 10.1021/acscchembio.8b00072.
32. Collins Y., Chouchani E., James A., et al. Mitochondrial Redox Signaling at a Glance. *J Cell Sci*. 2012;125:801-806. Doi: 10.1242/jcs.098475.
33. Газиев А.И., Подлутский А.Я. Низкая эффективность репарации ДНК в митохондриях // Цитология. 2003. Т.45. С. 403-417 [Gaziyeu A.I., Podlutskiy A.Ya. Low Efficiency of DNA Repair in Mitochondria. *Tsitologiya* = Cytology. 2003;45:403-417 (In Russ.)].
34. Gaziev A.I., Abdullaev S., Podlutskiy A. Mitochondrial Function and Mitochondrial DNA Maintenance with Advancing age. *Biogerontology*. 2014;15:417-438. Doi: 10.1007/s10522-014-9515-2.
35. Wang K., Gan M., Lei Y., Liao T., Li J., Niu L., Zhao Y., Chen L., Wang Y., Zhu L., Shen L. Perspectives on Mitochondrial Dysfunction in the Regeneration of Aging Skeletal Muscle. *Cell Mol Biol Lett*. 2025;30;1:94. Doi: 10.1186/s11658-025-00771-1.
36. Soni N., Kaur P., Gurjar V., Bhargava A., Tiwari R., Chouksey A., Srivastava R.K., Mishra P.K. Unveiling the Interconnected Dynamics of Mitochondrial Dysfunction Associated with Age-Related Cardiovascular Risk: a Cross-Sectional Pilot Study. *Cureus*. 2025;17;4:e82961. Doi: 10.7759/cureus.82961.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Участие авторов.** Статья подготовлена с равным участием авторов.

**Поступила:** 20.07.2025. **Принята к публикации:** 25.08.2025.

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

**Financing.** The study had no sponsorship.

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

**Article received:** 20.07.2025. **Accepted for publication:** 25.08.2025.