

ГУАНИНОВЫЕ КВАДРУПЛЕКСЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МИШЕНЬ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ ПРИ ИНКОРПОРАЦИИ ¹³⁷CS

А. Н. Коваль¹⁾, С. М. Сергеенко¹⁾, Л. Н. Алексеико¹⁾

¹⁾ Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Беларусь, akovalj@ya.ru

В работе представлены результаты полярографического исследования митохондриального дыхания печени крыс после однократного внешнего γ -облучения в дозах 0,5 и 1 Гр, выявившие угнетение эндогенного дыхания, разобщение окислительного фосфорилирования и переключение метаболических потоков с NADH-зависимого на сукцинатдегидрогеназный путь, что свидетельствует о функциональном исключении комплекса I из энергетического обмена. С использованием биоинформационного сервера G4Hunter выполнен анализ полной последовательности митохондриальной ДНК (мтДНК) человека (NC_012920.1). Идентифицировано 109 потенциальных G4-образующих последовательностей (PQS) с частотой 6,6 сайта на 1000 п.н., кластеризованных в генах комплекса I (ND1-ND6, ND4L), цитохрома b и D-петле. Выдвинута гипотеза о механизме радиационного поражения: ¹³⁷Cs, как аналог K⁺, накапливается в митохондриальном матриксе через АТФ-чувствительный калиевый канал (mitoK_{АТФ}), создавая высокую локальную плотность источников излучения вблизи мтДНК. Учитывая низкую ЛПЭ бета-излучения, повреждающий эффект носит статистический характер, однако присутствие G4-сайтов в генах дыхательной цепи может повышать вероятность их функционально значимых повреждений. Полученные данные обосновывают поиск природных радиопротекторов – стабилизаторов G4, способных защищать митохондриальный геном.

Ключевые слова: ионизирующее излучение; митохондриальная ДНК; гуаниновые квадруплексы; ¹³⁷Cs; митохондриальное дыхание; комплекс I; калиевые каналы митохондрий.

GUANINE QUADRUPLEXES OF MITOCHONDRIAL DNA AS A POTENTIAL TARGET OF RADIATION DAMAGE UNDER ¹³⁷CS INCORPORATION

A. N. Koval¹⁾, S. M. Sergeenko¹⁾, L. N. Alekseiko¹⁾

¹⁾ Educational Institution “Gomel State Medical University”, Lange str., 5, 246000, Gomel, Belarus, akovalj@ya.ru

The paper presents the results of a polarographic study of rat liver mitochondrial respiration after a single external γ -irradiation at doses of 0.5 and 1 Gy, which revealed inhibition of endogenous respiration, uncoupling of oxidative phosphorylation, and a switch of metabolic flows from the NADH-dependent to the succinate dehydrogenase pathway, indicating the functional exclusion of complex I from energy metabolism. Using the G4Hunter bioinformatics server, an analysis of the complete human mitochondrial DNA (mtDNA) sequence (NC_012920.1) was performed. We identified 109 potential G4-forming sequences (PQS) with a frequency of 6.6 sites per 1000 bp, clustered in complex I genes (ND1-ND6, ND4L), cytochrome b gene, and the D-loop. A hypothesis on the mechanism of radiation damage is proposed: ¹³⁷Cs, as a K⁺ analog, accumulates in the mitochondrial matrix via the ATP-sensitive potassium channel (mitoK_{АТФ}), creating a high local density of radiation sources near mtDNA. Given the low LET of beta radiation, the damaging effect is statistical in nature; however, the presence of G4 sites in respiratory chain genes may increase the probability of their functionally significant damage. The obtained data substantiate the search for natural radioprotectors – G4 stabilizers capable of protecting the mitochondrial genome.

Keywords: ionizing radiation; mitochondrial DNA; guanine quadruplexes; ¹³⁷Cs; mitochondrial respiration; complex I; mitochondrial potassium channels.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2026-1-271-274>

Необходимость поиска эффективных средств минимизации радиационных поражений остается актуальной задачей спустя 40 лет после аварии на Чернобыльской АЭС. Большинство исследований в этой области фокусировались на антиоксидантных свойствах радиопротекторов [1]. Однако наблюдаемые биологические эффекты не могут быть полностью объяснены только антиоксидантной активностью: их механизм действия может включать взаимодействие с нуклеиновыми кислотами, модулируя их структуру и функцию, в частности через гуаниновые квадруплексы (G4) – неканонические вторичные структуры, формируемые в богатых гуанином участках ДНК и РНК [2]. G4 рассматриваются как эволюционно древняя система сигналинга, способная оперативно реагировать на окислительный стресс и повреждение генома [3; 4].

Уязвимость митохондриальной ДНК (мтДНК) к радиационному воздействию обусловлена рядом ее особенностей: отсутствием гистонов, близостью к митохондриальной дыхательной цепи – основному источнику активных форм кислорода (АФК), и ограниченными возможностями репарации [5]. Ранее нами были описаны изменения митохондриального дыхания после внешнего облучения в печени [6] и высказано предположение о сродстве ^{137}Cs к G4: являясь аналогом ионов калия (K^+), стабилизирующих G4-структуры, ^{137}Cs может накапливаться в митохондриях, создавая микроочаги ионизации и повреждений в G4-участках мтДНК [3; 4]. Цель настоящей работы – на основании экспериментальных данных и биоинформационного анализа обосновать концепцию радиопротекторного действия вторичных метаболитов растений через стабилизацию G4-структур митохондриальной ДНК.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на белых крысах-самцах линии Wistar массой 180–220 г., разделенных на контрольную ($n=4$) и опытные группы: облучение в дозе 0,5 Гр ($n=5$) и 1,0 Гр ($n=6$). Животных подвергали однократному внешнему γ -облучению (мощность дозы 0,92 Гр/мин, установка ИГУР). На 3-и сутки в гомогенатах печени полярографически (электрод Кларка, среда Хэнкса, 30 °С) определяли скорость эндогенного дыхания ($V_{\text{энд}}$), дыхание при добавлении сукцината ($V_{\text{як}}$), глутамата ($V_{\text{глу}}$), разобщителя 2,4-динитрофенола ($V_{\text{днф}}$), ингибитора комплекса I амитала ($V_{\text{ам}}$), ингибитора комплекса II малоната ($V_{\text{мал}}$). Рассчитывали коэффициенты: $\text{СД}_{\text{глу}} = V_{\text{глу}} / V_{\text{энд}}$, $\text{СД}_{\text{днф}} = V_{\text{днф}} / V_{\text{глу}}$, $\text{АРД} = V_{\text{ам}} / V_{\text{энд}}$. Биоинформационный анализ полной последовательности мтДНК человека (NC_012920.1, 16569 п.н.) выполнен с использованием веб-сервера G4Hunter [7] с размером окна 25 нуклеотидов и порогом 1,2. Статистическую обработку проводили в среде R с использованием t-теста Уэлча. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Через 3 суток после облучения выявлено резкое (в 4–5 раз, $p < 0,05$) снижение $V_{\text{энд}}$ при сохранении способности окислять экзогенные субстраты. Коэффициенты стимуляции возросли: $\text{СД}_{\text{як}}$ с 0,93 до 6,38 (0,5 Гр) и 3,49 (1 Гр), $\text{СД}_{\text{глу}}$ с 0,75 до 1,84 и 1,66 соответственно ($p < 0,05$ – $0,001$). Ингибиторный анализ выявил при 0,5 Гр рост АРД ($p < 0,01$), свидетельствующий о переключении потока электронов на сукцинатдегидрогеназный путь (комплекс II) и/или повреждении комплекса I. Отсутствие строгой дозозависимости, вероятно, связано с гибелью радиочувствительных клеток или компенсаторными механизмами.

Биоинформационный анализ мтДНК человека выявил 109 потенциальных G4-образующих последовательностей (PQS) с частотой 6,6 сайта на 1000 п.н., что значительно выше средней предсказанной частоты для ядерного генома и подчеркивает высокий потенциал мтДНК к формированию этих структур. Обогащение мтДНК G4-мотивами связано с ее высокой плотностью генов и асимметричным нуклеотидным составом (GC-состав 44,4%). Анализ распределения PQS по функциональным областям выявил их кластеризацию в критически важных регионах (таблица). Значительное число высокобалльных PQS локализовано в генах, кодирующих субъединицы дыхательного комплекса I (ND1–ND6, ND4L), а также в гене *CYTB* и в области D-петли – главном регуляторном районе репликации и транскрипции мтДНК.

**Примеры наиболее значимых потенциальных G4-сайтов
в мтДНК человека (G4Hunter, window 25, threshold > 1.3)**

ID	Позиция	Длина	Балл (Score)	Последовательность (5'→3')	Локализация в гене
74	12361	54	-1,43	ACCCTAACCCCTGACTTCCCTAATCCCCCATCC TTACCACCCCTCGTTAACCCCT	ND5
14	3549	57	-1,37	CGCTCTTCTACTATGAACCCCTCCCCATACCC AACCCCTGGTCAACCTCAACCT	ND1
105	15513	51	-1,35	ATACCCTAGCCAACCCCTTAAACACCCCTCCCCA CATCAAGCCCGAATGAT	СҮТВ
5	518	66	-1,29	CACACACCGCTGCTAACCCCATACCCCGAACCA ACCAAACCCCAAAGACACCCCCACAGTTTATG	D-петля / тРНК-Phe
62	10912	60	-1,35	CTGTTCCCAACCTTTTCCTCCGACCCCTAACA ACCCCTCCTAATACTAACTACCTG	ND4

Обнаружение многочисленных G4-мотивов с высокой стабильностью в генах, ответственных за сборку комплекса I, представляет особый интерес в контексте полученных полярографических данных. Ранее нами было показано, что инкорпорация ^{137}Cs [8] приводит к дисфункции комплекса I, проявляющейся в росте АД и переключении на сукцинатный путь. Накопление радионуклида в митохондриях физиологически обосновано: ^{137}Cs , как аналог K^+ , способен поступать в матрикс через АТФ-чувствительный калиевый канал ($\text{mitoK}_{\text{АТФ}}$), движимый высоким трансмембранным потенциалом ($\Delta\psi$) [9; 10]. Следует уточнить, что бета-излучение ^{137}Cs обладает низкой линейной передачей энергии (ЛПЭ), поэтому его повреждающее действие не ограничивается исключительно G4-сайтами. Однако высокая локальная концентрация радионуклида вблизи мтДНК [3; 4] статистически повышает вероятность попадания низкоэнергетических вторичных электронов именно в эти уязвимые структуры. Повреждение генов *ND*, кодирующих субъединицы комплекса I, может вносить существенный вклад в наблюдаемую функциональную недостаточность, но не исключает и сочетанного поражения других участков мтДНК, кодирующих иные компоненты дыхательной цепи. G4 выполняют функцию сенсоров окислительного стресса: окисление гуанина изменяет стабильность этих структур и влияет на их регуляторную активность.

Полученные данные открывают перспективу поиска радиопротекторов среди природных соединений – стабилизаторов G4, способных защищать митохондриальный геном. В частности, с помощью онлайн-платформы G4-QuadScreen нами ранее показана способность катехинов зеленого чая стабилизировать G4-структуры [11], что согласуется с концепцией защиты мтДНК растительными метаболитами [12; 13].

Заключение. Внешнее γ -облучение вызывает в печени угнетение эндогенного дыхания, разобщение окислительного фосфорилирования и переключение метаболических потоков с комплекса I на комплекс II, что свидетельствует о функциональном исключении NADH-дегидрогеназного пути из энергетического обмена. Методами биоинформатики подтверждена высокая плотность и специфическое расположение G4-мотивов в митохондриальном геноме человека, включая гены, кодирующие субъединицы комплекса I (ND1-ND6, ND4L), что свидетельствует о возможной уязвимости этих участков. Гипотеза о действии инкорпорированного ^{137}Cs на митохондриальный геном основана на работах по изучению митохондриального транспорта калия [9; 10], согласно которым накопление ^{137}Cs в матриксе митохондрий приводит к концентрации источников излучения рядом с мтДНК. С учетом низкой ЛПЭ бета-излучения от ^{137}Cs , повреждение мтДНК может не связан с непосредственно его локальным облучением, а объясняться статистическим характером распределения радионуклидов. Тем не менее, присутствие G4-сайтов в ряде генов дыхательной цепи может

объяснять их повышенную вероятность повреждений. Полученные данные указывают на перспективность поиска природных радиопротекторов, стабилизирующих G4-структуры [11–13] или модулирующих транспорт калия в митохондриях, с целью разработки новых методов коррекции радиационных повреждений.

Библиографические ссылки

1. Sensitivity to low-dose/low-LET ionizing radiation in mammalian cells harboring mutations in succinate dehydrogenase subunit C is governed by mitochondria-derived reactive oxygen species / N. Aykin-Burns [et al.] // *Radiation Research*. 2011. Vol. 175, № 2. P. 150–158.

2. Идентификация и роль гуаниновых квадруплексов в регуляции биоэнергетики, апоптоза и фероптоза в митохондриальной ДНК *Kluyveromyces lactis* / А. Н. Коваль [и др.] // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии–2025 : материалы респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 100-летию со дня рожд. акад. Ю. М. Островского, г. Гродно, 27 июня 2025 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. В. Лелевич [и др.]. Гродно : ГрГМУ, 2025. С. 223–226.

3. *Грицук А. И., Коваль А. Н.* Роль гуаниновых квадруплексов как возможной мишени воздействия на митохондриальную ДНК при инкорпорации ^{137}Cs // *Радиобиология: актуальные проблемы* : материалы Междунар. науч. конф. Гомель : Ин-т радиобиологии НАН Беларуси, 2018. С. 50–53.

4. *Koval A. N., Gritsuk A. I.* The eventual role of mitochondrial DNA guanine quadruplexes in sensitivity to ionizing radiation // *Mitoest 2018 : Book of Abstracts*. – Tallinn : National Institute of Chemical Physics and Biophysics, 2018. P. 14.

5. *Сидорик Е. П., Бурлака А. П.* Молекулярные механизмы нарушений в клетках при хроническом действии ионизирующего излучения низкой мощности дозы в связи с аварией на ЧАЭС // *Экспериментальная онкология*. 2000. Т. 22, № 4. С. 179–185.

6. Тканевое дыхание миокарда, печени и тимуса белых крыс после внешнего облучения в дозе 1 Гр / С. М. Сергеенко [и др.] // Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии : тез. докл. Рос. науч. конф. с междунар. участием. СПб. : Фолиант, 2011. С. 141.

7. G4Hunter web application: a web server for G-quadruplex prediction / V. Brázda [et al.] // *Bioinformatics*. 2019. Vol. 35, № 18. P. 3493–3495.

8. Митохондриальное дыхание печени при остром и хроническом пероральном поступлении ^{137}Cs / С. М. Сергеенко, [и др.] // *Биохимия и молекулярная биология*. 2025. Т. 4, № 2(7). С. 28–32.

9. *Garlid K. D., Paucek P.* Mitochondrial potassium transport: the K^+ -cycle / K. D. Garlid, // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 2003. Vol. 1606, № 1-3. P. 23–41.

10. Reconstitution and partial purification of the glibenclamide-sensitive, ATP-dependent K^+ channel from rat liver and beef heart mitochondria / P. Paucek [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. 1992. Vol. 267, № 36. P. 26062–26069.

11. *Коваль А. Н., Литвин А. А., Логвинович О. С.* Анализ катехинов зелёного чая как стабилизаторов G-квадруплексов ДНК с помощью онлайн-платформы G4-QuadScreen // *Чай в историческом, культурном и медицинском аспектах* : материалы IV науч.-теорет. конф. с междунар. участием. Курск, 2025. С. 127–130.

12. Перспективы применения растительных экстрактов для минимизации побочных эффектов после облучения / Е. М. Белоус [и др.] // Актуальные проблемы химии и биохимии : сб. материалов респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2024. С. 160–162.

13. Вторичные метаболиты растений и митохондриальные G-квадруплексы: терапевтический потенциал в лечении рака / А. Н. Коваль [и др.] // *Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине* : сб. науч. тр. 5-й Междунар. конф. СПб., 2024. С. 175–180.