

УДК 577.352.53:576.311.347.3:616-002-008.953-092:616.24-036.12-02

DOI: 10.36604/1998-5029-2023-89-25-35

СОСТОЯНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

И.Ю.Сугайло, Д.А.Гассан, Д.Е.Наумов, О.О.Котова, Я.Г.Горчакова, Е.Г.Шелудько

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Поддерживая оптимальный трансмембранный электрохимический градиент ($\Delta\psi_m$), не допускающий избыточного образования активных форм кислорода (АФК), митохондрии обеспечивают энергетический гомеостаз клетки. Однако в условиях патологии нормальная работа митохондрий нарушается, что может приводить к дефициту АТФ и/или повышенной продукции АФК. **Цель.** Изучить показатели $\Delta\psi_m$ и их взаимосвязь с экспрессией каналов TRP в лейкоцитах периферической крови у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). **Материалы и методы.** В исследование было включено 23 больных ХОБЛ различной степени тяжести, 8 курящих лиц без признаков бронхиальной обструкции и 9 здоровых, никогда не куривших добровольцев. Всем испытуемым проведена спирометрия для оценки вентиляционной функции легких. Уровень $\Delta\psi_m$ определяли, окрашивая клетки этиловым эфиром тетраметилродамина (TMRE) и измеряя флуоресцентный сигнал с помощью проточной цитометрии, в базальных условиях и на фоне провоспалительной стимуляции с форбол-12-мириостат-13-ацетатом (РМА). **Результаты.** Мы обнаружили, что больные ХОБЛ характеризуются значимым увеличением базального $\Delta\psi_m$ моноцитов (161,8 [153,8; 206,8] против 129,3 [75,5; 161,8], $p=0,03$) и лимфоцитов (209,7 [184,7; 257,8] против 122,5 [67,9; 164,3], $p=0,003$) по сравнению с лицами контрольной группы. Стимуляция клеток РМА приводила к разнонаправленным изменениям $\Delta\psi_m$, при этом его увеличенный уровень при ХОБЛ сохранялся. В моноцитах больных ХОБЛ чаще отмечалось снижение $\Delta\psi_m$ в ответ на стимуляцию РМА (75%), тогда как у большинства (53,9%) лиц контрольной группы $\Delta\psi_m$, напротив, возрастал ($p=0,08$). Кроме того, среди больных ХОБЛ возрастание $\Delta\psi_m$ в моноцитах сопровождалось повышенной экспрессией TRPV4, а в группе контроля у лиц с положительной динамикой $\Delta\psi_m$ экспрессия TRPV4 была, наоборот, снижена. **Заключение.** Повышенный уровень $\Delta\psi_m$ в мононуклеарах больных ХОБЛ согласуется с обнаруженным ранее увеличением продукции АФК, однако не поддерживает предположение о наличии энергетического дефицита в клетках. Выявленные различия во взаимосвязи экспрессии TRPV4 с динамикой $\Delta\psi_m$ могут свидетельствовать о наличии патологических особенностей сигналинга каналов TRP у больных ХОБЛ.

Ключевые слова: дисфункция митохондрий, TRP каналы, ХОБЛ, курение, лейкоциты.

THE STATE OF MITOCHONDRIAL MEMBRANE POTENTIAL IN PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

I.Yu.Sugaylo, D.A.Gassan, D.E.Naumov, O.O.Kotova, Y.G.Gorchakova, E.G.Sheludko

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Introduction. Mitochondria provide energy homeostasis of the cell by maintaining an optimal trans-

Контактная информация

Ивана Юрьевна Сугайло, канд. мед. наук, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: ivanka_888@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Ivana Yu. Sugaylo, PhD (Med.), Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation E-mail: ivanka_888@mail.ru

Для цитирования:

Сугайло И.Ю., Гассан Д.А., Наумов Д.Е., Котова О.О., Горчакова Я.Г., Шелудько Е.Г. Состояние мембранного потенциала митохондрий в лейкоцитах периферической крови больных хронической обструктивной болезнью легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2023. Вып. 89. С.25–35. DOI: 10.36604/1998-5029-2023-89-25-35

For citation:

Sugaylo I.Yu., Gassan D.A., Naumov D.E., Kotova O.O., Gorchakova Y.G., Sheludko E.G. The state of mitochondrial membrane potential in peripheral blood leukocytes of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2023; (89):25–35 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2023-89-25-35

membrane electrochemical gradient ($\Delta\Psi_m$), which does not allow excessive formation of reactive oxygen species (ROS). However, under conditions of pathology, the normal functioning of mitochondria is disrupted, which can lead to ATP deficiency and/or increased production of ROS. **Aim.** The aim of this study was to investigate the $\Delta\Psi_m$ parameters and their relationship with the expression of TRP channels in peripheral blood leukocytes of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Materials and methods.** The study included 23 patients with COPD of varying severity, 8 smokers without signs of bronchial obstruction and 9 healthy volunteers who had never smoked. All subjects underwent spirometry to assess the lung function. $\Delta\Psi_m$ was determined by staining the cells with tetramethylrhodamine ethyl ester (TMRE) and measuring the fluorescent signal by flow cytometry, under basal conditions and pro-inflammatory stimulation with phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA). **Results.** We found that COPD patients were characterized by a significant increase in basal $\Delta\Psi_m$ of monocytes (161.8 [153.8; 206.8] vs. 129.3 [75.5; 161.8], $p=0.03$) and lymphocytes (209.7 [184.7; 257.8] vs. 122.5 [67.9; 164.3], $p=0.003$) as compared with the control group. Stimulation of cells with PMA led to multidirectional changes in $\Delta\Psi_m$, while its increased level was still preserved in COPD. In monocytes of COPD patients, a decrease in $\Delta\Psi_m$ in response to PMA stimulation was prevalent (75%), while in the majority (53.9%) of individuals in the control group $\Delta\Psi_m$, on the contrary, increased ($p=0.08$). In addition, among COPD patients, an increase in $\Delta\Psi_m$ in monocytes was accompanied by an enhanced expression of TRPV4, while in the control group, among individuals with positive dynamics of $\Delta\Psi_m$, TRPV4 expression was, on the contrary, reduced. **Conclusion.** The increased level of $\Delta\Psi_m$ in the mononuclears of COPD patients is consistent with previously detected enhanced ROS production, but does not support the assumption about energy deficit in the cells. The revealed differences in the relationship between TRPV4 expression and $\Delta\Psi_m$ dynamics may indicate the presence of pathological features in TRP signaling in COPD patients.

Keywords: mitochondrial dysfunction, TRP channels, COPD, smoking, leukocytes.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – распространенное заболевание, занимающее лидирующие позиции среди причин смертности и экономических потерь. Так, пятилетний уровень смертности от ХОБЛ среди мужчин и женщин составляет в среднем 29,9 и 19,1%, соответственно [1]. Ожидается, что к 2050 году распространенность ХОБЛ возрастет на 36% и достигнет 645,6 млн человек [2]. При этом суммарные мировые экономические потери от заболевания за аналогичный период обойдутся в 4,326 (3,327-5,516) трлн долларов США [3].

Известно, что в патогенезе ХОБЛ, как и при других хронических заболеваниях респираторного тракта, большое значение играет окислительный стресс, что проявляется повышенным образованием активных форм кислорода (АФК). Действительно, ранее мы обнаружили более высокие внутриклеточные уровни АФК в лейкоцитах периферической крови больных ХОБЛ по сравнению с лицами, не имевшими признаков бронхиальной обструкции. Курение как таковое также способствовало развитию окислительного стресса, что отражалось в повышенном уровне АФК у курильщиков по сравнению с некурящими участниками исследования [4]. Учитывая, что основным источником АФК в клетке являются митохондрии, интерес исследователей вызывает изучение функционального состояния данных органелл в условиях патологии.

Установлено, что, являясь энергетическими станциями клетки, митохондрии потребляют до 90% поступающего кислорода. Окисление субстратов (жиров или углеводов) генерирует восстановительные эквиваленты (NADH и FADH₂), которые окисляясь, отдают электроны в митохондриальную транспортную цепь, состоящую из четырех типов белковых комплексов, закрепленных на внутренней мембране: NADH-коэнзим Q редуктазы (I), сукцинат дегидрогеназы (II), коэнзим

Q-цитохром С редуктазы (III) и цитохром С оксидазы (IV). Перемещение электронов в комплексах I, III и IV напрямую ассоциировано с перекачкой протонов из митохондриального матрикса в пространство между наружной и внутренней мембраной. Избыток протонов в межмембранном пространстве дает положительный заряд по сравнению с матриксом, который становится заряжен отрицательно, за счет чего создается электрохимический протонный градиент или мембранный потенциал митохондрии ($\Delta\Psi_m$), в норме приблизительно равный 180 мВ. В комплексе V, представленном F₁F₀ АТФ-синтазой, протоны переходят обратно из межмембранного пространства в митохондриальный матрикс, и их энергия используется для синтеза аденозинтрифосфата (АТФ) – основного энергетического субстрата для всех клеточных ферментов. В свою очередь, электроны могут случайным образом покидать транспортную цепь на различных участках, перемещаясь в матрикс, и там, реагируя с молекулами кислорода, формировать супероксид анионы, которые являются короткоживущими первичными АФК [5, 6]. С одной стороны, более высокий $\Delta\Psi_m$ теоретически сопряжен с увеличенной способностью производить АТФ, с другой – при высоких значениях $\Delta\Psi_m$ также начинает существенно возрастать продукция АФК. Низкий $\Delta\Psi_m$ также вреден для клетки, поскольку при этом производство АТФ и кислородных радикалов недостаточно для поддержания биологических процессов на должном уровне. Таким образом, оптимальным режимом работы митохондрий можно считать тот, при котором продукция АТФ не страдает, а образование АФК остается на достаточно низком уровне [7].

Имеющиеся в литературе данные указывают на типичное формирование дисфункции митохондрий при различных патологических состояниях организма, при этом под дисфункцией понимается нарушение нор-

мального хода любых процессов, связанных с работой митохондрий на разных этапах. Примечательно, что митохондрии не только являются основными источниками АФК, но и могут служить мишенями для оксидативного повреждения, возникающего за счет разрывов и модификаций митохондриальной ДНК, нарушения нормальной работы белков, обеспечивающих перенос электронов в транспортной цепи и гомеостаз кальция, а также сопутствующего возрастания проницаемости внутренней мембраны с невозможностью эффективно поддерживать протонный градиент [8].

В качестве вспомогательных регуляторов функции митохондрий могут рассматриваться каналы с транзитным рецепторным потенциалом (TRP). Данные каналы экспрессируются как внеклеточно, на плазматической мембране, так и внутриклеточно, на различных органеллах. В том числе, TRP были обнаружены на митохондриях, где данные каналы вовлечены в регуляцию гомеостаза кальция. Ряд TRP каналов привлекает внимание как сенсоры редокс-статуса и может опосредовать некоторые эффекты оксидативного стресса на митохондрии по принципу обратной связи. Например, установлено, что такие каналы как TRPV1, TRPV3, TRPV4, TRPA1, TRPM2 и TRPC5, TRPM8 являются чувствительными к АФК и/или азота [9]. Экспериментальные данные указывают на то, что некоторые TRP каналы способны опосредовать митохондриальную дисфункцию, в том числе, активируясь локально продуцируемыми АФК. Так, обнаружено, что стимуляция TRPM8 приводит к росту продукции кислородных радикалов в митохондриях при одновременном снижении $\Delta\Psi_m$ [10]. С. Tian et al. также установили, что TRPA1 опосредует продукцию АФК в митохондриях и снижение $\Delta\Psi_m$ в макрофагах, дифференцированных из клеточной линии THP-1, под действием лизофосфатидилхолина [11]. Аналогичные эффекты обнаружены для TRPV1: в митохондриях его активация сопряжена с нарастанием уровня ионов кальция и деполяризацией внутренней мембраны, но увеличением митохондриальной продукции АФК [12]. В отношении функциональной роли канала TRPV4 на митохондриях Т-клеток были получены менее однозначные результаты. Активация Т-клеток сопровождалась накоплением кальция в митохондриях, что частично предотвращалось блокированием TRPV4, что указывает на вклад данного канала в происходящие изменения. В то же время, в покоящихся Т-клетках TRPV4 оказывал влияние на $\Delta\Psi_m$, при этом активация канала вызывала снижение поляризации внутренней мембраны и продукции АТФ. В активированных же клетках TRPV4 вызывал увеличение синтеза АТФ, но не влиял на $\Delta\Psi_m$ [13].

Целью настоящей работы было исследовать особенности мембранного потенциала митохондрий во взаимосвязи с экспрессией каналов TRPV1, TRPV4, TRPM8 и TRPA1 в лейкоцитах периферической крови у больных ХОБЛ по сравнению со здоровыми лицами.

Материалы и методы исследования

Исследование проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н МЗ РФ от 01.04.2016. Все лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания».

В исследование было включено 23 больных ХОБЛ различной степени тяжести (60,8±1,64 лет), 8 курящих лиц без признаков бронхиальной обструкции (56,0±3,55 лет) и 9 здоровых, никогда не куривших добровольцев (50,7±3,18 лет). Больные ХОБЛ были значительно старше, чем некурящие лица контрольной группы (p=0,006). Все обследованные были лицами мужского пола. Большинство (65,2%) больных ХОБЛ имели III стадию заболевания согласно GOLD, в меньшей степени были представлены больные с I-II (26%) и IV стадией (8,8%). Индекс курения в группе больных ХОБЛ составил 40,0 (30,0; 60,0) пачка-лет, в группе здоровых курильщиков – 31,5 (23,5; 35,0) пачка-лет (p=0,07).

С целью оценки степени бронхиальной обструкции всем больным было выполнено спирометрическое исследование на аппарате Easy on-PC (niddMedizintechnik AG, Швейцария) на фоне действия бронхолитика.

Периферическую венозную кровь отбирали в пробирку, содержащую ЭДТА, эритроциты лизировали 15 минут с буфером BD Pharm Lyse (BD Biosciences, США) и однократно отмывали фосфатно-солевым буфером для получения суспензии лейкоцитов. Осадок лейкоцитов ресуспендировали в растворе солей Хэнкса (HBSS) без фенолового красного, содержащем 100 нМ этилового эфира тетраметилродамина (TMRE, ООО «Люмипроб РУС», Россия). TMRE – положительно заряженный липофильный флуоресцентный краситель, который, проникая в клетку, накапливается в отрицательно заряженном матриксе митохондрий. Таким образом, концентрация красителя в митохондриях и уровень измеряемого сигнала прямо пропорциональны величине $\Delta\Psi_m$. К дополнительной аликвоте клеток добавляли форбол-12-миристат-13-ацетат (PMA) до конечной концентрации 0,1 нг/мл с целью оценки анализируемых параметров на фоне провоспалительной активации. Клетки инкубировали в термостате при 37°C 30 мин., после чего анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США). Популяции моноцитов, лимфоцитов и гранулоцитов гейтировали на графиках FSC и SSC. Величину сигнала измеряли на канале PE. Результат выражали в

виде нормализованной медианной интенсивности флуоресценции (nMFI). Дополнительно рассчитывали производные величины – абсолютное и относительное (выраженное в процентах от исходного уровня) изменение в уровне сигнала на фоне стимуляции РМА.

Уровень экспрессии TRP каналов определяли с помощью непрямой проточной цитометрии. Лейкоциты фиксировали и пермеабилizировали в буфере, содержащем 3% параформальдегида и 0,5% сапонина в течение 30 мин. при 4°C, инкубировали с первичными кроличьими поликлональными антителами к TRPA1, TRPM8, TRPV1, TRPV4 (Alomone Labs, Израиль) или изотопическими антителами в эквивалентной концентрации, а затем с вторичными антителами к IgG кролика, конъюгированными с Alexa Fluor 647 (Abcam, Великобритания). Величину экспрессии белков TRP определяли по сравнению с соответствующим изотипическим контролем на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США) и выражали в виде процента положительно окрашенных клеток или нормализованной медианной интенсивности флуоресценции (nMFI).

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Все данные представлены в формате $M \pm m$ – среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего, либо $Me (Q_1; Q_3)$

– медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью критерия U Манна-Уитни или критерия Вилкоксона (для зависимых выборок). Наличие и силу корреляций оценивали с помощью рангового корреляционного коэффициента r Спирмена. Ассоциации для качественных переменных определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона. В качестве критического уровня значимости принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

ХОБЛ была ассоциирована с более высокими величинами $\Delta\Psi_m$ в моноцитах и лимфоцитах по сравнению с клетками лиц, не имевших бронхиальной обструкции, как до, так и после стимуляции РМА, причем различия в $\Delta\Psi_m$ лимфоцитов были наиболее значимыми. При этом уровни $\Delta\Psi_m$ в гранулоцитах значимо не отличались (табл. 1). Обращает на себя внимание, что в то время как в контрольной группе исходный $\Delta\Psi_m$ в гранулоцитах был выше, чем в моноцитах и лимфоцитах, среди больных ХОБЛ гранулоциты отличались наиболее низкими значениями $\Delta\Psi_m$. Также, гранулоциты как больных лиц, так и группы контроля, реагировали на стимуляцию РМА заметным снижением $\Delta\Psi_m$.

Таблица 1

Показатели мембранного потенциала митохондрий ($\Delta\Psi_m$) в лейкоцитах периферической крови больных ХОБЛ и лиц контрольной группы в базальных условиях и на фоне стимуляции РМА

Показатель (nMFI)	Больные ХОБЛ (n=23)	Лица без бронхиальной обструкции (n=17)	Значимость различий (p)
$\Delta\Psi_m$, моноциты	161,8 (153,8; 206,8)	129,3 (75,5; 161,8)	0,03
$\Delta\Psi_m$ + РМА, моноциты	172,6 (151,3; 190,1)	107,2 (64,7; 160,6)	0,04
	$p_s=0,03$	$p_s=0,87$	
$\Delta\Psi_m$, лимфоциты	209,7 (184,7; 257,8)	122,5 (67,9; 164,3)	0,003
$\Delta\Psi_m$ + РМА, лимфоциты	204,3 (176,4; 234,8)	105,4 (75,6; 152,3)	0,008
	$p_s=0,09$	$p_s=0,68$	
$\Delta\Psi_m$, гранулоциты	132,5 (71,7; 234,5)	194,0 (90,4; 232,4)	0,73
$\Delta\Psi_m$ + РМА, гранулоциты	81,8 (50,3; 181,6)	123,6 (67,8; 195,6)	0,37
	$p_s=0,005$	$p_s=0,04$	

Примечание. Здесь и в таблице 2: p_s – значимость различий $\Delta\Psi_m$ в стимулированных и нестимулированных клетках.

При том, что статистически значимые различия между $\Delta\Psi_m$ лейкоцитов куривших и не куривших лиц без бронхиальной обструкции отсутствовали, можно заметить, что медианные значения $\Delta\Psi_m$ в моноцитах и лимфоцитах были выше у курильщиков, а $\Delta\Psi_m$ гра-

нулоцитов, напротив, снижалась при курении (табл. 2). Воздействие РМА не приводило к достоверным изменениям $\Delta\Psi_m$, хотя для гранулоцитов прослеживалась отрицательная динамика $\Delta\Psi_m$ вне зависимости от статуса курения.

Таблица 2

Показатели мембранного потенциала митохондрий ($\Delta\Psi_m$) в лейкоцитах периферической крови курильщиков без бронхиальной обструкции и никогда не куривших здоровых добровольцев в базальных условиях и на фоне стимуляции РМА

Показатель (nMFI)	Курильщики без бронхиальной обструкции (n=8)	Никогда не курившие лица (n=9)	Значимость различий (p)
$\Delta\Psi_m$, моноциты	129,8 (91,4; 149,6)	107,1 (75,5; 164,9)	0,99
$\Delta\Psi_m$ + РМА, моноциты	140,8 (57,7; 162,8)	99,2 (65,4; 160,6)	0,96
	$p_s=0,67$	$p_s=0,37$	
$\Delta\Psi_m$, лимфоциты	130,6 (91,3; 169,9)	100,4 (67,9; 164,3)	0,67
$\Delta\Psi_m$ + РМА, лимфоциты	127,8 (75,3; 151,3)	103,5 (75,6; 163,7)	0,67
	$p_s=0,88$	$p_s=0,67$	
$\Delta\Psi_m$, гранулоциты	163,8 (57,6; 233,7)	206,0 (94,4; 232,4)	0,54
$\Delta\Psi_m$ + РМА, гранулоциты	136,9 (60,9; 209,6)	122,2 (67,8; 195,6)	0,99
	$p_s=0,16$	$p_s=0,14$	

Мы не выявили статистически значимых различий в абсолютной и относительной реакции $\Delta\Psi_m$ на РМА между больными ХОБЛ и лицами контрольной группы (табл. 3). Несмотря на это, в моноцитах и, особенно, в лимфоцитах больных ХОБЛ $\Delta\Psi_m$ имел большее

свойство снижаться в ответ на стимуляцию. При этом для гранулоцитов амплитуда снижения $\Delta\Psi_m$ была приблизительно одинаковой как среди больных, так и среди здоровых лиц, не имевших бронхиальной обструкции.

Таблица 3

Абсолютная и относительная динамика показателей мембранного потенциала митохондрий ($\Delta\Psi_m$) в лейкоцитах периферической крови больных ХОБЛ и лиц контрольной группы в ответ на стимуляцию РМА

Показатель	Больные ХОБЛ (n=23)	Лица без бронхиальной обструкции (n=17)	Значимость различий (p)
Динамика $\Delta\Psi_m$ абс. (моноциты)	-4,1 (-8,9; -0,2)	0,1 (-10,1; 6,8)	0,31
Динамика $\Delta\Psi_m$ отн. (моноциты)	-3,4 (-7,9; -0,04)	0,1 (-13,4; 8,9)	0,39
Динамика $\Delta\Psi_m$ абс. (лимфоциты)	-9,5 (-22,1; 5,3)	1,4 (-6,0; 11,4)	0,14
Динамика $\Delta\Psi_m$ отн. (лимфоциты)	-7,2 (-11,7; 2,7)	1,1 (-3,8; 9,5)	0,18
Динамика $\Delta\Psi_m$ абс. (гранулоциты)	-30,7 (-52,9; -2,7)	-27 (-53,3; -8,6)	0,96
Динамика $\Delta\Psi_m$ отн. (гранулоциты)	-22,6 (-49,7; -3,6)	-20,9 (-55,2; -5,1)	0,87

Среди лиц без бронхиальной обструкции не обнаруживалось достоверных различий динамики $\Delta\Psi_m$ в

ответ на стимуляцию РМА (табл. 4).

Таблица 4

Абсолютная и относительная динамика показателей мембранного потенциала митохондрий ($\Delta\Psi_m$) в лейкоцитах периферической крови курильщиков без признаков бронхиальной обструкции и здоровых некурящих лиц в ответ на стимуляцию РМА

Показатель	Курильщики без бронхиальной обструкции (n=8)	Никогда не курившие лица (n=9)	Значимость различий (p)
Динамика $\Delta\Psi_m$ абс. (моноциты)	5,1 (-10,7; 16,3)	-0,9 (-10,1; 1,2)	0,28
Динамика $\Delta\Psi_m$ отн. (моноциты)	6,6 (-14,7; 10,7)	-0,6 (-13,4; 3,7)	0,32
Динамика $\Delta\Psi_m$ абс. (лимфоциты)	1,8 (-12,1; 13,0)	-0,7 (-2,8; 4,4)	0,96
Динамика $\Delta\Psi_m$ отн. (лимфоциты)	3,1 (-16,3; 10,1)	-0,4 (-3,0; 6,2)	0,96
Динамика $\Delta\Psi_m$ абс. (гранулоциты)	-31,4 (-42,1; -10,9)	-22,6 (-78,6; -2,4)	0,81
Динамика $\Delta\Psi_m$ отн. (гранулоциты)	-17,2 (-46,8; -4,1)	-25,0 (-55,2; -5,1)	0,89

С целью более точной характеристики динамики $\Delta\Psi_m$ мы проанализировали индивидуальную направленность изменений данного показателя в исследуемых подгруппах как качественный признак. Было установлено, что в моноцитах большинства (75%) больных ХОБЛ $\Delta\Psi_m$ снижался в ответ на стимуляцию, тогда как у большей части (53,9%) лиц контрольной группы он, напротив, возрастал. Различия не были статистически значимы, но характеризовались как тенденция ($p=0,08$). В лимфоцитах направленность динамики $\Delta\Psi_m$ практически полностью воспроизводила особенности, наблюдаемые в моноцитах: для ХОБЛ было в большей степени характерно снижение показателя (70%), в то время как у лиц без бронхиальной обструкции он чаще (52,9%) увеличивался ($p=0,16$). В отличие от моноцитов и лимфоцитов, стимуляция гранулоцитов не приводила к появлению каких-либо особенностей в динамике $\Delta\Psi_m$, которые позволили бы отличить больных ХОБЛ от здоровых лиц. В группах ХОБЛ и лиц без бронхиальной обструкции $\Delta\Psi_m$ в гранулоцитах снижался на 80 и 82,3% случаев, соответственно ($p=0,86$). При сравнении качественной динамики $\Delta\Psi_m$ в лейкоцитах курильщиков без бронхиальной обструкции и никогда не куривших лиц статистически значимых различий найдено не было.

Исследуя взаимосвязь экспрессии каналов TRP с $\Delta\Psi_m$ и его динамикой на фоне стимуляции РМА, мы обнаружили ряд ассоциаций. В моноцитах больных ХОБЛ наиболее значимые корреляции были найдены между абсолютной или относительной динамикой $\Delta\Psi_m$ и экспрессией TRPV4 ($\rho=0,47$, $p=0,07$ и $\rho=0,55$, $p=0,03$, соответственно). Кроме этого, мы заметили, что больные, у которых $\Delta\Psi_m$ возрастал в ответ на стимуляцию, отличались более высокой экспрессией каналов TRPV4 (74,0 [60,3; 87,8]% против 45,8 [33,8; 60,9]%, $p=0,05$) и TRPA1 (99,9 [99,6; 100,0]% против 99,0 [98,3; 99,5]%, $p=0,03$) по сравнению с теми, у кого $\Delta\Psi_m$ снижался. В лимфоцитах больных ХОБЛ подобная взаимосвязь была установлена для канала TRPV1 ($\rho=0,55$, $p=0,03$ и $\rho=0,56$, $p=0,02$ для абсолютной и относительной динамики $\Delta\Psi_m$, соответственно). Аналогичным образом, экспрессия TRPV1 была выше среди тех, у кого отмечался прирост значения $\Delta\Psi_m$ (99,3 [98,5; 99,5]% против 97,9 [95,0; 98,3]%, $p=0,04$). В отличие от моноцитов и лимфоцитов, на гранулоцитах не было найдено корреляций экспрессии TRP со значениями и динамикой $\Delta\Psi_m$.

Несмотря на то, что в контрольной группе не было обнаружено значимых взаимосвязей экспрессии TRP каналов с динамикой $\Delta\Psi_m$, что может быть обусловлено малой численностью группы, у здоровых лиц, в отличие от больных ХОБЛ, корреляционные отношения TRPV1 или TRPV4 с динамикой $\Delta\Psi_m$ были обратными. Кроме того, в моноцитах лиц контрольной группы экспрессия TRPV4, напротив, была выше у обследованных со снижением $\Delta\Psi_m$ в ответ на РМА (66,8 [6,6; 68,4]% против 6,2 [0,8; 26,1]%, $p=0,23$), а при ана-

лизе значений nMFI различия демонстрировали устойчивую тенденцию (1,97 [1,37; 2,43] против 1,14 [0,90; 1,51], $p=0,07$).

Показатели $\Delta\Psi_m$ и их производные в лейкоцитах больных ХОБЛ не были связаны с индексом курения, тяжестью заболевания и степенью бронхиальной обструкции.

Таким образом, в проведенном исследовании мы не выявили снижения $\Delta\Psi_m$ в лейкоцитах больных лиц, напротив, он был значимо выше, чем в группе контроля. Несмотря на отсутствие достоверных различий, у курильщиков $\Delta\Psi_m$ также был выше, чем у некурящих лиц контрольной группы, но ниже по сравнению с больными ХОБЛ. С одной стороны, полученные результаты согласуются с ранее выявленным увеличением продукции АФК в лейкоцитах при ХОБЛ [4]. Кроме того, можно выдвинуть предположение о причинном факторе и сигнальном механизме, индуцирующих обнаруженные отклонения. Так, известно, что вентиляционные нарушения у больных ХОБЛ сопровождаются развитием хронической гипоксии. O.Pak et al. экспериментально показали, что гипоксия приводит к даунрегуляции UCP2 – белка, снижающего $\Delta\Psi_m$, продукцию АФК и разобщающего окислительное фосфорилирование и синтез АТФ. Ожидается, наряду со сниженной экспрессией UCP2, авторы обнаружили повышение $\Delta\Psi_m$ и продукции АФК в гладкомышечных клетках легочной артерии под действием гипоксии [14]. Наконец, у больных ХОБЛ действительно было обнаружено опосредованное гипоксией снижение экспрессии UCP2 [15]. Все эти данные в совокупности поддерживают и объясняют найденное нами увеличение $\Delta\Psi_m$ в лимфоцитах и моноцитах, а также продукцию АФК у больных ХОБЛ.

С другой стороны, в литературе имеются и альтернативные наблюдения, указывающие на снижение энергетического потенциала митохондрий при ХОБЛ. Например, в митохондриях скелетных и дыхательных мышц больных ХОБЛ было отмечено значимое снижение потребления кислорода и продукции АТФ на фоне повышенного образования АФК [16]. Мононуклеары больных ХОБЛ также отличались сниженным потреблением кислорода и образованием АТФ, при этом непосредственного измерения $\Delta\Psi_m$ в клетках не проводили [17]. Кроме этого, в мононуклеарах при ХОБЛ отмечали снижение концентрации супероксиддисмутазы, сукцинатдегидрогеназы и сукцината, что свидетельствует о нарушении антиоксидантной защиты и энергообмена в митохондриях [18].

В своем эксперименте для дополнительной стимуляции клеток мы использовали РМА, эффект которого опосредован активацией протеинкиназы С (PKC). Данный выбор обоснован патогенетической значимостью PKC при ХОБЛ. Показано, что ингибирование PKC эффективно предотвращает индуцированную действием TNF α и опосредованную NF- κ B продукцию таких медиаторов воспаления, как CCL2, CCL20, CSF2, CXCL1,

CXCL10, IL1 β и TNF α , в линии макрофагов U937 [19]. Таким образом, действие РМА на клетки можно рассматривать как модель обострения заболевания.

Несмотря на то, что изменение $\Delta\Psi_m$ под действием РМА было разнонаправленным, после стимуляции мононуклеары больных ХОБЛ по-прежнему отличались повышенными значениями $\Delta\Psi_m$. Тем не менее, мы обнаружили, что у большинства больных ХОБЛ активация РКС приводила к некоторому снижению $\Delta\Psi_m$ в моноцитах, и, в меньшей мере, в лимфоцитах, тогда как у лиц контрольной группы подобная отрицательная динамика наблюдалась существенно реже. При этом интересно, что даже на фоне снижения $\Delta\Psi_m$ продукция АФК все равно нарастала у всех обследованных. Полученные результаты подтверждаются данными Y.Wang et al., которые показали, что РМА индуцирует перераспределение альфа и дельта изоформ РКС в митохондрии, что сопровождается снижением $\Delta\Psi_m$, активности комплекса I и пируват дегидрогеназы, а также повышенной продукцией АФК [20]. В целом, необходимо заметить, что представления о том, что интенсивность генерации АФК напрямую зависит от величины $\Delta\Psi_m$, верны лишь отчасти. Продукция АФК также может возрастать и при снижении $\Delta\Psi_m$, что, вероятно, опосредуется белками МРТ (mitochondrial permeability transition pore) и ИМАС (inner membrane anion channel). Данные каналы, расположенные на внутренней мембране, способны активироваться в условиях нарастания уровня АФК, при этом $\Delta\Psi_m$ снижается. Их неконтролируемое открытие приводит к апоптозу, в то время как контролируемое или частичное увеличение проницаемости помогает снизить перегрузку митохондрий ионами кальция, и, тем самым, предотвратить гибель клетки [21, 22]. Таким образом, у больных ХОБЛ на фоне исходного увеличения $\Delta\Psi_m$ и продукции АФК, дальнейшая стимуляция клеток, вероятно, приводит к облегченной активации МРТ/ИМАС, что позволяет спасти клетки от апоптоза, однако провоцирует дополнительный выброс АФК и может сопровождаться каскадной деполяризацией митохондрий [23].

Мы установили, что направленность изменений $\Delta\Psi_m$ в ответ на РМА имеет определенные взаимосвязи с экспрессией каналов TRP, при этом данные взаимосвязи различны у больных ХОБЛ и здоровых лиц. В особенности были заметны корреляции с динамикой $\Delta\Psi_m$ для TRPV4 на моноцитах и TRPV1 на лимфоцитах. Известно, что РМА, активируя РКС, способствует фосфорилированию остатков Ser502 и Ser801 в аминокислотной последовательности TRPV1 и остатков

Ser162, Thr175 и Ser189 в последовательности TRPV4, что приводит к сенсibilизации данных катионных каналов. Аналогичным эффектом обладает АТФ, действуя через P2Y2 пуриnergические рецепторы, а также другие медиаторы, способные активировать РКС [24, 25]. Учитывая способность TRPV1 и TRPV4 снижать $\Delta\Psi_m$, можно ожидать увеличения экспрессии данных каналов у лиц, для которых характерна деполяризация митохондрий под действием РМА, и действительно, подобные особенности были обнаружены, но лишь в контрольной группе. При этом у больных ХОБЛ мы отмечали обратную зависимость, что может свидетельствовать о наличии специфических нарушений сигналинга TRP каналов в митохондриях, и, вероятно, вносит дополнительный вклад в высокую продукцию АФК при данной патологии.

Выводы

Ориентируясь на значения $\Delta\Psi_m$, мы не обнаружили косвенных признаков дефицита продукции АТФ в лейкоцитах больных ХОБЛ, при этом увеличение $\Delta\Psi_m$, по-видимому, вносит вклад в генерацию высоких уровней АФК. Тем не менее, в теории продукция АТФ может страдать в периоды обострений заболевания. Кроме этого, дефицит АТФ при повышенном $\Delta\Psi_m$ может иметь место при дефектах в работе АТФ-синтазы, например, при ее ингибировании фактором IF1. В этом случае $\Delta\Psi_m$ не сможет быть конвертирован в АТФ, однако образование АФК будет увеличено. В любом случае, в дальнейших исследованиях с целью уточнения наличия энергетического дефицита у больных ХОБЛ предпочтительно использовать методы прямой люминесцентной или флуоресцентной детекции уровня АТФ в клетках. Отдельного внимания заслуживает выяснение особенностей сигналинга каналов TRPV1 и TRPV4 у больных ХОБЛ и их роли в регуляции работы митохондрий в условиях хронического воспаления и гипоксии.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Park S.C., Kim D.W., Park E.C., Shin C.S., Rhee C.K., Kang Y.A., Kim Y.S. Mortality of patients with chronic obstructive pulmonary disease: a nationwide population based cohort study // Korean J. Intern. Med. 2019. Vol.34, Iss.6, P.1272–1278. <https://doi.org/10.3904/kjim.2017.428>
2. Boers E., Barrett M., Vuong V., Benjafield A., Su J., Kaye L., Tellez D., Nunez C., Malhotra A. An estimate of the global COPD prevalence in 2050: Disparities by income and gender // Eur. Respir. J. 2022. Vol.60, Suppl.66. Article

number: 4608. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2022.4608>

3. Chen S., Kuhn M., Prettner K., Yu F., Yang T., Bärnighausen T., Bloom D.E., Wang C. The global economic burden of chronic obstructive pulmonary disease for 204 countries and territories in 2020-50: a health-augmented macroeconomic modelling study // *Lancet Glob. Health*. 2023. Vol.11, Iss.8. e1183–e1193. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(23\)00217-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(23)00217-6)

4. Котова О.О., Гассан Д.А., Сугайло И.Ю., Наумов Д.Е., Горчакова Я.Г., Шелудько Е.Г. Оксидативный стресс в лейкоцитах периферической крови больных хронической обструктивной болезнью легких // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2023. Вып.87. С.62–70. EDN: DPSEOF. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2023-87-62-70>

5. Harper M.E., Bevilacqua L., Hagopian K., Weindruch R., Ramsey J.J. Ageing, oxidative stress, and mitochondrial uncoupling // *Acta Physiol. Scand*. 2004. Vol.182, Iss.4. P.321–331. <https://doi.org/10.1111/j.1365-201X.2004.01370.x>

6. Antunes M.A., Lopes-Pacheco M., Rocco P.R.M. Oxidative Stress-Derived Mitochondrial Dysfunction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Concise Review // *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2021. Vol. 2021. Article number: 6644002. <https://doi.org/10.1155/2021/6644002>

7. Zorova L.D., Popkov V.A., Plotnikov E.Y., Silachev D.N., Pevzner I.B., Jankauskas S.S., Babenko V.A., Zorov S.D., Balakireva A.V., Juhaszova M., Sollott S.J., Zorov D.B. Mitochondrial membrane potential // *Anal. Biochem*. 2018. Vol.552. P.50–59. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.07.009>

8. Guo C., Sun L., Chen X., Zhang D. Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases // *Neural Regen. Res*. 2013. Vol.8, Iss.21. P.2003–2014. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2013.21.009>

9. Ogawa N., Kurokawa T., Mori Y. Sensing of redox status by TRP channels // *Cell Calcium*. 2016. Vol.60, Iss.2. P.115–122. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2016.02.009>

10. Baş E., Nazıroğlu M., Pecze L. ADP-Ribose and oxidative stress activate TRPM8 channel in prostate cancer and kidney cells // *Sci. Rep*. 2019. Vol.9, Iss.1. Article number: 4100. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37552-0>

11. Tian C., Huang R., Tang F., Lin Z., Cheng N., Han X., Li S., Zhou P., Deng S., Huang H., Zhao H., Xu J., Li Z. Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Contributes to Lysophosphatidylcholine-Induced Intracellular Calcium Regulation and THP-1-Derived Macrophage Activation // *J. Membr. Biol*. 2020. Vol.253, Iss.1. P.43–55. <https://doi.org/10.1007/s00232-019-00104-2>

12. Juárez-Contreras R., Méndez-Reséndiz K.A., Rosenbaum T., González-Ramírez R., Morales-Lázaro S.L. TRPV1 Channel: A Noxious Signal Transducer That Affects Mitochondrial Function // *Int. J. Mol. Sci*. 2020. Vol.21, Iss.23. Article number: 8882. <https://doi.org/10.3390/ijms21238882>

13. Acharya T.K., Kumar S., Rokade T.P., Chang Y.T., Goswami C. TRPV4 regulates mitochondrial Ca²⁺-status and physiology in primary murine T cells based on their immunological state // *Life Sci*. 2023. Vol.318. Article number: 121493. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121493>

14. Pak O., Sommer N., Hoeres T., Bakr A., Waisbrod S., Sydykov A., Haag D., Esfandiary A., Kojonazarov B., Veit F., Fuchs B., Weisel F.C., Hecker M., Schermuly R.T., Grimminger F., Ghofrani H.A., Seeger W., Weissmann N. Mitochondrial hyperpolarization in pulmonary vascular remodeling. Mitochondrial uncoupling protein deficiency as disease model // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 2013. Vol.49, Iss.3. P.358–367. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0361OC>

15. Wang M., Li G., Yang Z., Wang L., Zhang L., Wang T., Zhang Y., Zhang S., Han Y., Jia L. Uncoupling protein 2 downregulation by hypoxia through repression of peroxisome proliferator-activated receptor γ promotes chemoresistance of non-small cell lung cancer // *Oncotarget*. 2017. Vol.8, Iss.5. P.8083–8094. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14097>

16. Puente-Maestu L., Pérez-Parra J., Godoy R., Moreno N., Tejedor A., González-Aragoneses F., Bravo J.L., Alvarez F.V., Camaño S., Agustí A. Abnormal mitochondrial function in locomotor and respiratory muscles of COPD patients // *Eur. Respir J*. 2009. Vol.33, Iss.5. P.1045–1052. <https://doi.org/10.1183/09031936.00112408>

17. Agarwal A.R., Kadam S., Brahme A., Agrawal M., Apte K., Narke G., Kekan K., Madas S., Salvi S. Systemic Immuno-metabolic alterations in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) // *Respir. Res*. 2019. Vol.20, Iss.1. Article number: 171. <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1139-2>

18. Бельских Э.С., Урясьев О.М., Звягина В.И., Фалетрова С.В. Развитие вторичной митохондриальной дисфункции мононуклеарных лейкоцитов крови у больных хронической обструктивной болезнью легких и хроническим бронхитом // *Казанский медицинский журнал*. 2018. Т.99, №5. P.741–747. EDN: YATHSX. <https://doi.org/10.17816/KMJ2018-741>

19. Abdel-Halim M., Darwish S.S., ElHady A.K., Hoppstädter J., Abadi A.H., Hartmann R.W., Kiemer A.K., Engel M. Pharmacological inhibition of protein kinase C (PKC) ζ downregulates the expression of cytokines involved in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) // *Eur. J. Pharm. Sci*. 2016. Vol.93. P.405–409. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.08.016>

20. Wang Y., Biswas G., Prabu S.K., Avadhani N.G. Modulation of mitochondrial metabolic function by phorbol 12-myristate 13-acetate through increased mitochondrial translocation of protein kinase Ca in C2C12 myocytes // *Biochem. Pharmacol*. 2006. Vol.72, Iss.7. P.881–892. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.06.032>

21. Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J. Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review // *Biochim. Biophys. Acta*. 2006. Vol.1757, Iss.5-6. P.509–517. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.04.029>
22. Agudo-López A., Miguel B.G., Fernández I., Martínez A.M. Role of protein kinase C and mitochondrial permeability transition pore in the neuroprotective effect of ceramide in ischemia-induced cell death // *FEBS Lett*. 2011. Vol.585, Iss.1. P.99–103. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.11.015>
23. Brady N.R., Elmore S.P., van Beek J.J., Krab K., Courtoy P.J., Hue L., Westerhoff H.V. Coordinated behavior of mitochondria in both space and time: a reactive oxygen species-activated wave of mitochondrial depolarization // *Biophys. J*. 2004. Vol.87, Iss.3. P.2022–2034. <https://doi.org/10.1529/biophysj.103.035097>
24. Numazaki M., Tominaga T., Toyooka H., Tominaga M. Direct phosphorylation of capsaicin receptor VR1 by protein kinase Cepsilon and identification of two target serine residues // *J. Biol. Chem*. 2002. Vol.277, Iss.16. P.13375–13378. <https://doi.org/10.1074/jbc.C200104200>
25. Fan H.C., Zhang X., McNaughton P.A. Activation of the TRPV4 ion channel is enhanced by phosphorylation // *J. Biol. Chem*. 2009. Vol.284, Iss.41. P.27884–27891. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.028803>

REFERENCES

1. Park S.C., Kim D.W., Park E.C., Shin C.S., Rhee C.K., Kang Y.A., Kim Y.S. Mortality of patients with chronic obstructive pulmonary disease: a nationwide populationbased cohort study. *Korean J. Intern. Med.* 2019; 34(6):1272–1278. <https://doi.org/10.3904/kjim.2017.428>
2. Boers E., Barrett M., Vuong V., Benjafield A., Su J., Kaye L., Tellez D., Nunez C., Malhotra A. An estimate of the global COPD prevalence in 2050: Disparities by income and gender. *Eur. Respir. J.* 2022; 60(66):4608. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2022.4608>
3. Chen S., Kuhn M., Prettner K., Yu F., Yang T., Bärnighausen T., Bloom D.E., Wang C. The global economic burden of chronic obstructive pulmonary disease for 204 countries and territories in 2020-50: a health-augmented macroeconomic modelling study. *Lancet Glob. Health* 2023; 11(8):e1183-e1193. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(23\)00217-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(23)00217-6)
4. Kotova O.O., Gassan D.A., Sugaylo I.Yu., Naumov D.E., Gorchakova Y.G., Sheludko E.G. [Oxidative stress in peripheral blood leukocytes of patients with chronic obstructive pulmonary disease]. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2023; (87):62–70 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2023-87-62-70>
5. Harper M.E., Bevilacqua L., Hagopian K., Weindruch R., Ramsey J.J. Ageing, oxidative stress, and mitochondrial uncoupling. *Acta Physiol. Scand.* 2004; 182(4):321–331. <https://doi.org/10.1111/j.1365-201X.2004.01370.x>
6. Antunes M.A., Lopes-Pacheco M., Rocco P.R.M. Oxidative Stress-Derived Mitochondrial Dysfunction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Concise Review. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2021; 2021:6644002. <https://doi.org/10.1155/2021/6644002>
7. Zorova L.D., Popkov V.A., Plotnikov E.Y., Silachev D.N., Pevzner I.B., Jankauskas S.S., Babenko V.A., Zorov S.D., Balakireva A.V., Juhaszova M., Sollott S.J., Zorov D.B. Mitochondrial membrane potential. *Anal. Biochem.* 2018; 552:50–59. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.07.009>
8. Guo C., Sun L., Chen X., Zhang D. Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. *Neural Regen. Res.* 2013; 8(21):2003–2014. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2013.21.009>
9. Ogawa N., Kurokawa T., Mori Y. Sensing of redox status by TRP channels. *Cell Calcium.* 2016; 60(2):115–22. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2016.02.009>
10. Baş E., Nazıroğlu M., Pecze L. ADP-Ribose and oxidative stress activate TRPM8 channel in prostate cancer and kidney cells. *Sci. Rep.* 2019; 9(1):4100. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37552-0>
11. Tian C., Huang R., Tang F., Lin Z., Cheng N., Han X., Li S., Zhou P., Deng S., Huang H., Zhao H., Xu J., Li Z. Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Contributes to Lysophosphatidylcholine-Induced Intracellular Calcium Regulation and THP-1-Derived Macrophage Activation. *J. Membr. Biol.* 2020; 253(1):43–55. <https://doi.org/10.1007/s00232-019-00104-2>
12. Juárez-Contreras R., Méndez-Reséndiz K.A., Rosenbaum T., González-Ramírez R., Morales-Lázaro S.L. TRPV1 Channel: A Noxious Signal Transducer That Affects Mitochondrial Function. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(23):8882. <https://doi.org/10.3390/ijms21238882>
13. Acharya T.K., Kumar S., Rokade T.P., Chang Y.T., Goswami C. TRPV4 regulates mitochondrial Ca²⁺-status and physiology in primary murine T cells based on their immunological state. *Life Sci.* 2023; 318:121493. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121493>
14. Pak O., Sommer N., Hoeres T., Bakr A., Waisbrod S., Sydykov A., Haag D., Esfandiary A., Kojonazarov B., Veit F., Fuchs B., Weisel F.C., Hecker M., Schermuly R.T., Grimminger F., Ghofrani H.A., Seeger W., Weissmann N. Mitochondrial hyperpolarization in pulmonary vascular remodeling. Mitochondrial uncoupling protein deficiency as disease model. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2013; 49(3):358–367. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0361OC>
15. Wang M., Li G., Yang Z., Wang L., Zhang L., Wang T., Zhang Y., Zhang S., Han Y., Jia L. Uncoupling protein 2

downregulation by hypoxia through repression of peroxisome proliferator-activated receptor γ promotes chemoresistance of non-small cell lung cancer. *Oncotarget* 2017; 8(5):8083–8094. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14097>

16. Puente-Maestu L., Pérez-Parra J., Godoy R., Moreno N., Tejedor A., González-Aragoneses F., Bravo J.L., Alvarez F.V., Camaño S., Agustí A. Abnormal mitochondrial function in locomotor and respiratory muscles of COPD patients. *Eur. Respir. J.* 2009; 33(5):1045–1052. <https://doi.org/10.1183/09031936.00112408>

17. Agarwal A.R., Kadam S., Brahme A., Agrawal M., Apte K., Narke G., Kekani K., Madas S., Salvi S. Systemic Immuno-metabolic alterations in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Respir. Res.* 2019; 20(1):171. <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1139-2>

18. Bel'skikh E.S., Uryas'ev O.M., Zvyagina V.I., Faletrova S.V. [Development of secondary mitochondrial dysfunction of mononuclear blood leukocytes in patients with chronic obstructive pulmonary disease and chronic bronchitis]. *Kazan Medical Journal* 2018; 99(5):741–747. <https://doi.org/10.17816/KMJ2018-741>

19. Abdel-Halim M., Darwish S.S., ElHady A.K., Hoppstädter J., Abadi A.H., Hartmann R.W., Kierner A.K., Engel M. Pharmacological inhibition of protein kinase C (PKC) ζ downregulates the expression of cytokines involved in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Eur. J. Pharm. Sci.* 2016; 93:405–409. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.08.016>

20. Wang Y., Biswas G., Prabu S.K., Avadhani N.G. Modulation of mitochondrial metabolic function by phorbol 12-myristate 13-acetate through increased mitochondrial translocation of protein kinase Ca in C2C12 myocytes. *Biochem. Pharmacol.* 2006; 72(7):881–892. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.06.032>

21. Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J. Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review. *Biochim. Biophys. Acta* 2006; 1757(5-6):509–517. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.04.029>

22. Agudo-López A., Miguel B.G., Fernández I., Martínez A.M. Role of protein kinase C and mitochondrial permeability transition pore in the neuroprotective effect of ceramide in ischemia-induced cell death. *FEBS Lett.* 2011; 585(1):99–103. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.11.015>

23. Brady N.R., Elmore S.P., van Beek J.J., Krab K., Courtoy P.J., Hue L., Westerhoff H.V. Coordinated behavior of mitochondria in both space and time: a reactive oxygen species-activated wave of mitochondrial depolarization. *Biophys. J.* 2004; 87(3):2022–2034. <https://doi.org/10.1529/biophysj.103.035097>

24. Numazaki M., Tominaga T., Toyooka H., Tominaga M. Direct phosphorylation of capsaicin receptor VR1 by protein kinase C ϵ and identification of two target serine residues. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(16):13375–13378. <https://doi.org/10.1074/jbc.C200104200>

25. Fan H.C., Zhang X., McNaughton P.A. Activation of the TRPV4 ion channel is enhanced by phosphorylation. *J. Biol. Chem.* 2009; 284(41):27884–27891. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.028803>

Информация об авторах:

Ивана Юрьевна Сугайло, канд. мед. наук, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: ivanka_888@mail.ru

Дина Анатольевна Гассан, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dani-shi@mail.ru

Денис Евгеньевич Наумов, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: denn1985@bk.ru

Олеся Олеговна Котова, канд. мед. наук, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Author information:

Ivana Yu. Sugaylo, PhD (Med.), Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ivanka_888@mail.ru

Dina A. Gassan, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dani-shi@mail.ru

Denis E. Naumov, PhD (Med.), Head of Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: denn1985@bk.ru

Olesya O. Kotova, PhD (Med.), Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Яна Геннадьевна Горчакова, лаборант-исследователь, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

Yana G. Gorchakova, Research Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

Елизавета Григорьевна Шелудко, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: liza.sheludko@mail.ru

Elizaveta G. Sheludko, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: liza.sheludko@mail.ru

*Поступила 19.06.2023
Принята к печати 06.07.2023*

*Received June 19, 2023
Accepted July 06, 2023*
