

УДК 616.24-008.811.6:613.84]616.155.3-007.1:577.213.7:616-008

DOI: 10.36604/1998-5029-2024-92-40-46

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК В ЛЕЙКОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Д.А.Гассан, Д.Е.Наумов, И.Ю.Сугайло, 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. Окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе ХОБЛ. Сигаретный дым индуцирует окислительный стресс, в результате которого происходит повреждение ДНК в клетках. Каналы с транзиторным рецепторным потенциалом (TRP) способны опосредовать эффекты сигаретного дыма и активных форм кислорода. **Цель.** Изучение уровня фосфорилирования гистонов H2AX, указывающего на повреждение ДНК, в лейкоцитах больных ХОБЛ и установление взаимосвязи экспрессии каналов TRPV1 и TRPV4 с выявленными особенностями. **Материалы и методы.** В исследование было включено 47 больных ХОБЛ разной степени тяжести и 25 лиц контрольной группы. Всем исследуемым была проведена спирометрия для оценки вентиляционной функции легких. Фосфорилирование гистонов H2AX и экспрессию TRPV1/TRPV4 на лейкоцитах определяли методом проточной цитометрии. Для поиска взаимосвязи между количественными переменными использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ). **Результаты.** Лимфоциты больных ХОБЛ характеризовались более высоким уровнем γ H2AX (%), чем лимфоциты лиц контрольной группы ($p=0,04$). Лимфоциты здоровых курильщиков также демонстрировали большую степень повреждения ДНК по сравнению с не курившими лицами ($p=0,02$). Значимые отличия отмечались при сравнении экспрессии γ H2AX (%) между больными ХОБЛ и здоровыми не курившими лицами в лимфоцитах ($p=0,001$) и моноцитах ($p=0,04$). Курение более 20 пачка-лет сопровождалось более высокой экспрессией γ H2AX (%) в лимфоцитах ($p=0,04$) больных ХОБЛ. Экспрессия TRPV1 и γ H2AX (%) демонстрировала достоверные корреляции на гранулоцитах ($\rho=0,76$, $p<0,001$), лимфоцитах ($\rho=0,34$, $p=0,03$) и моноцитах ($\rho=0,55$, $p<0,001$). **Заключение.** Больные ХОБЛ отличаются от лиц контрольной группы более выраженным повреждением ДНК, преимущественно проявляющимся в лимфоцитах. Курение является фактором, негативно влияющим на формирование разрывов ДНК. Экспрессия TRPV1, вероятно, играет роль в окислительном повреждении ДНК в лейкоцитах больных ХОБЛ за счет увеличения продукции активных форм кислорода.

Ключевые слова: повреждение ДНК, H2AX, TRP каналы, ХОБЛ, курение, лейкоциты.

ASSESSMENT OF THE DEGREE OF DNA DAMAGE IN LEUKOCYTES OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

D.A.Gassan, D.E.Naumov, I.Yu.Sugaylo, 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. Oxidative stress plays a key role in the pathogenesis of COPD. Cigarette smoke induces oxidative stress, which causes DNA damage in cells. Transient receptor potential (TRP) channels are capable of mediating the effects of tobacco smoke and reactive oxygen species. **Aim.** Studying the level of H2AX histones phosphorylation (γ H2AX) indicating DNA damage in leukocytes of COPD patients and establishing its relationship with TRPV1 and

Контактная информация

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», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dani-shi@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Dina A. Gassan, PhD (Med.), 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: dani-shi@mail.ru

Для цитирования:

Гассан Д.А., Наумов Д.Е., Сугайло И.Ю., Котова О.О., Горчакова Я.Г., Шелудько Е.Г. Оценка степени повреждения ДНК в лейкоцитах больных хронической обструктивной болезнью легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2024. Вып.92. С.40–46. DOI: 10.36604/1998-5029-2024-92-40-46

For citation:

Gassan D.A., Naumov D.E., Sugaylo I.Yu., Kotova O.O., Gorchakova Y.G., Sheludko E.G. Assessment of the degree of DNA damage in leukocytes of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2024; (92):40–46 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2024-92-40-46

TRPV4 expression. **Materials and methods.** The study included 47 patients with COPD of varying severity and 25 controls. All subjects underwent spirometry to assess lung function. Histone H2AX phosphorylation and TRPV1/TRPV4 expression on leukocytes were determined by flow cytometry. Spearman's rank correlation coefficient (ρ) was used to search for relationships between quantitative variables. **Results.** Lymphocytes of COPD patients were characterized by higher level of γ H2AX (%) than lymphocytes from the controls ($p=0.04$). Lymphocytes of smokers also showed a greater degree of DNA damage as compared to healthy non-smokers ($p=0.02$). Significant differences were observed when comparing γ H2AX expression (%) between COPD patients and healthy non-smokers in lymphocytes ($p=0.001$) and monocytes ($p=0.04$). Smoking more than 20 pack-years was associated with higher γ H2AX (%) in lymphocytes ($p=0.04$) of COPD patients. Expression of TRPV1 and γ H2AX (%) showed significant correlations on granulocytes ($\rho=0.76$, $p<0.001$), lymphocytes ($\rho=0.34$, $p=0.03$) and monocytes ($\rho=0.55$, $p<0.001$). **Conclusion.** COPD patients differ from the control group by more pronounced DNA damage, which is most evident in lymphocytes. Smoking is a factor that negatively affects the formation of DNA breaks. TRPV1 expression may play a role in oxidative DNA damage in leukocytes by increasing the production of reactive oxygen species.

Key words: DNA damage, H2AX, TRP channels, COPD, smoking, leukocytes.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – распространенное и трудно поддающееся лечению заболевание, которое характеризуется прогрессирующим ограничением воздушного потока, что связано со структурными изменениями в легких из-за хронического воспаления в результате длительного воздействия вредных частиц или газов, чаще всего сигаретного дыма. В патогенезе ХОБЛ ключевую роль играют окислительный стресс, воспаление, апоптоз и старение клеток [1]. Эти процессы связаны с формированием интерактивных путей обратной связи, которые способствуют развитию ремоделирования дыхательных путей, разрушению альвеол и неэффективной регенерации поврежденных тканей. Курение табака является непосредственной причиной всех перечисленных процессов, но клинически значимое течение ХОБЛ возникает не у всех курильщиков, а снижение функции легких и воспаление продолжается даже у бросивших курить [2]. Таким образом, можно предположить, что существуют механизмы, которые отвечают за предрасположенность к повреждению тканей, воспалению и прогрессирующему течению заболевания. Именно таким механизмом является повреждение ДНК.

Каждая клетка в организме человека подвергается повреждениям ДНК. Они возникают под действием активных форм кислорода, продуктов метаболизма, различных токсических веществ, факторов окружающей среды [3]. Одним из повреждающих факторов выступает сигаретный дым, который, как известно, является индуктором активных форм кислорода [4]. Ранее мы обнаружили, что продукция активных форм кислорода существенно выше в лейкоцитах периферической крови больных ХОБЛ. При этом у курящих лиц без бронхиальной обструкции также отмечалось некоторое увеличение степени окислительного стресса в клетках по сравнению со здоровыми некурящими лицами [5]. Данные факты могут указывать на более выраженное повреждение ДНК у больных ХОБЛ и курильщиков.

Одними из самых тяжелых типов повреждения ДНК являются двухцепочечные разрывы. Если их не устранить, то они могут привести к апоптозу, старению

клеток, провоспалительным реакциям и онкологической патологии [6, 7]. Гистон H2AX, один из вариантов гистона H2A, является белком ответственным за поддержание целостности генома. Его фосфорилирование по аминокислоте серин в 139 позиции (Ser139) является самым ранним ответом на такие разрывы. Под действием киназ, таких как ATM (ataxia telangiectasia mutated), ATR (ATR-Rad3-related) или DNA-PK (ДНК-зависимая протеинкиназа), формируется модифицированная форма белка, называемая γ H2AX, которая может служить надежным и чувствительным индикатором повреждения ДНК [8, 9]. Образовавшись в месте повреждения, γ H2AX служит сигналом для белков репарации ДНК, включая p53-связывающий белок, которые привлекаются к участкам разрывов. При этом в случае, если восстановление невозможно, происходит апоптоз или клеточное старение, часто ассоциированное с воспалением [10, 11]. Таким образом, сохранение фокусов γ H2AX рассматривается как свидетельство того, что часть повреждений ДНК остается невосстановленной.

Существуют несколько методов, позволяющих зарегистрировать нарушения целостности ДНК. В то время как метод ДНК-комет позволяет непосредственно наблюдать разрывы ДНК за счет проведения электрофореза единичных клеток [12], определение фосфорилированной формы гистона H2AX является более удобным альтернативным способом косвенно оценить степень повреждения ДНК.

Каналы с транзиторным рецепторным потенциалом (TRP) – семейство рецепторных белков, способных активироваться широким спектром экзо- и эндогенных стимулов. Интересно, что некоторые представители TRP являются рецепторами активных форм кислорода, и, в то же время, способны опосредовать их образование клеткой. Наше внимание привлекли каналы ваниллоидного подсемейства – TRPV1 и TRPV4, вовлеченные в рецепцию и продукцию активных форм кислорода [13, 14].

Целью настоящей работы было изучить уровень фосфорилирования гистонов H2AX, указывающий на повреждение ДНК, в лейкоцитах больных ХОБЛ и

установить взаимосвязь экспрессии каналов TRPV1 и TRPV4 с выявленными особенностями.

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 от 01.04.2016 Министерства здравоохранения Российской Федерации. 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 47 больных ХОБЛ и 25 лиц контрольной группы (из них 48% – курильщики), не имевших бронхиальной обструкции. Возраст лиц в обследованных группах составил $63,0 \pm 1,42$ лет и $51,0 \pm 2,00$ лет, соответственно ($p < 0,001$), индекс курения – $35,1 \pm 2,51$ и $18,7 \pm 4,39$ пачка-лет, соответственно ($p = 0,002$). Тогда как все лица контрольной группы были мужского пола, среди больных ХОБЛ было 15% женщин ($p = 0,04$). Большинство больных ХОБЛ имели среднюю (52,2%) и тяжелую (32,6%) степень заболевания.

С целью оценки степени бронхиальной обструкции всем больным было выполнено спирометрическое исследование на аппарате Easy on-PC (niddMedizintechnik AG, Швейцария). При этом оценивали величины объема форсированного выдоха за 1 сек. (ОФВ₁), соотношение ОФВ₁ к форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), пиковую объемную скорость (ПОС), мгновенную объемную скорость на уровнях 25% ФЖЕЛ (МОС₂₅), 50% ФЖЕЛ (МОС₅₀), 75% ФЖЕЛ (МОС₇₅), а также среднюю объемную скорость (СОС₂₅₋₇₅).

Периферическую венозную кровь отбирали в пробирку, содержащую ЭДТА, эритроциты лизировали 15 минут с буфером BD Pharm Lyse (BD Biosciences, США), затем однократно отмывали фосфатно-солевым буфером для получения суспензии лейкоцитов. Анализ γ H2AX и каналов TRPV1 и TRPV4 проводили методом проточной цитометрии на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (Becton Dickinson, США), используя программное обеспечение FACS Diva 6.0 (Becton Dickinson, США).

С целью определения субпопуляций лейкоцитов клетки окрашивали с помощью антител, конъюгированных с флуорохромами к CD45 APC-Cy7, CD14 PE-Cy7 и CD16 PerCP-Cy5.5 (Elabscience, КНР). Лейкоциты гейтировали как CD45⁺ клетки, гранулоциты определяли, как CD16⁺ клетки с высоким боко-

вым светорассеянием, моноциты – как CD14⁺ клетки, лимфоциты – как CD14-CD16⁻ клетки с низкими значениями прямого и бокового светорассеяния.

Для регистрации повреждения ДНК к пермеабилizированным клеткам добавляли антитела к белку H2AX, фосфорилированному по Ser139 (γ H2AX) (Affinity Biosciences, КНР), либо изотипические антитела, а после инкубации клетки отмывали и дополнительно окрашивали вторичными антителами, конъюгированными с красителем Alexa Fluor 647 (Abcam, Великобритания). Величину экспрессии γ H2AX определяли по сравнению с изотипическим контролем и выражали в виде процента положительно окрашенных клеток или как нормализованную медианную интенсивность флуоресценции (nMFI).

Для определения экспрессии TRPV1/TRPV4 к фиксированным и пермеабилizированным лейкоцитам добавляли первичные поликлональные антитела к TRPV1 или TRPV4 (Alomone Labs, Израиль) либо изотипические антитела, а после окончания инкубации отмывали и дополнительно окрашивали вторичными антителами, конъюгированными с красителем Alexa Fluor 647 (Abcam, Великобритания). Величину экспрессии каналов TRP определяли по сравнению с изотипическим контролем и выражали в виде процента положительно окрашенных клеток.

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в формате Me (Q1-Q3) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью критерия Стьюдента (для нормально распределенных переменных) или критерия У Манна-Уитни (для переменных, распределение которых отличалось от нормального). Поиск взаимосвязи между количественными переменными проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена ρ . Значимость коэффициента проверяли по критерию Стьюдента. Ассоциации для качественных переменных оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. В качестве критического уровня значимости (p) принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Уровни γ H2AX в гранулоцитах, лимфоцитах и моноцитах достоверно коррелировали между собой. При сравнении экспрессии γ H2AX в лейкоцитах больных ХОБЛ с клетками крови лиц группы контроля было установлено, что для больных характерны более высокие значения экспрессии модифицированной формы белка в лимфоцитах (табл. 1).

При сравнении экспрессии γ H2AX между курильщиками без бронхиальной обструкции и здоровыми не курившими лицами было обнаружено, что лимфоциты курильщиков демонстрировали большую степень повреждения ДНК (табл. 2).

Таблица 1

Показатели γ H2AX в лейкоцитах периферической крови у больных ХОБЛ и лиц группы контроля

	Больные ХОБЛ	Группа контроля	Значимость (p)
γ H2AX (гран.), %	98,8 (94,7-99,6)	98,7 (95,2-99,4)	0,73
γ H2AX (лимф.), %	99,0 (97,6-99,5)	97,2 (92,9-99,2)	0,04
γ H2AX (мон.), %	98,3 (97,0-99,1)	96,7 (93,8-99,2)	0,12
γ H2AX (гран.), nMFI	6,51 (5,12-12,03)	6,65 (5,36-13,23)	0,94
γ H2AX (лимф.), nMFI	7,24 (6,32-8,03)	6,23 (5,15-8,51)	0,17
γ H2AX (мон.), nMFI	3,09 (2,62-3,55)	2,87 (2,69-3,55)	0,70

Таблица 2

Показатели γ H2AX в лейкоцитах периферической крови у курильщиков без бронхиальной обструкции и здоровых не куривших лиц

	Курильщики	Не курившие	Значимость (p)
γ H2AX (гран.), %	97,2 (76,5-99,8)	99,0 (98,6-99,3)	0,36
γ H2AX (лимф.), %	98,8 (97,3-99,8)	96,1 (90,7-97,0)	0,02
γ H2AX (мон.), %	97,3 (95,1-99,8)	96,6 (91,2-98,5)	0,28
γ H2AX (гран.), nMFI	7,21 (3,45-15,67)	6,53 (5,81-10,09)	0,77
γ H2AX (лимф.), nMFI	8,35 (5,70-9,71)	5,38 (4,63-6,55)	0,03
γ H2AX (мон.), nMFI	2,92 (2,77-4,50)	2,84 (2,59-3,46)	0,39

Наиболее сильные отличия отмечались при сравнении экспрессии γ H2AX между больными ХОБЛ и здоровыми не курившими лицами. В этом случае значимость различий для показателя γ H2AX в лимфоцитах, выраженного в % и nMFI, составила $p=0,001$ и $p=0,009$, соответственно. Кроме этого, появлялись достоверные отличия в уровне γ H2AX (%) в моноцитах ($p=0,04$) среди курильщиков и не курящих лиц. Среди больных ХОБЛ экспрессия γ H2AX на лимфоцитах коррелировала с индексом курения ($p=0,27$, $p=0,08$ и $p=0,34$, $p=0,02$ для показателя, выраженного в % и nMFI, соответственно). Курение более 20 пачка-лет сопровождалось более высокой экспрессией γ H2AX (%) в лимфоцитах (99,2 (97,7-99,6)% против 98,1 (92,8-98,9)%, $p=0,04$).

Уровень γ H2AX не зависел от степени тяжести ХОБЛ и не был взаимосвязан с показателями вентиляционной функции легких. При этом экспрессия TRPV1 и уровень γ H2AX демонстрировали достоверные корреляции: на гранулоцитах ($p=0,76$, $p<0,001$ и $p=0,70$, $p<0,001$ для γ H2AX в % и nMFI, соответственно), на лимфоцитах ($p=0,34$, $p=0,03$ и $p=0,33$, $p=0,04$ для γ H2AX в % и nMFI, соответственно) и на моноцитах ($p=0,55$, $p<0,001$ – только для γ H2AX в %). TRPV4 коррелировал с γ H2AX только в гранулоцитах ($p=0,64$, $p<0,001$ и $p=0,59$, $p<0,001$ для показателя в % и nMFI, соответственно).

Мы обнаружили, что уровень γ H2AX в лимфоцитах больных ХОБЛ был выше, чем у лиц контрольной группы, что ожидаемо было взаимосвязано с курением, как фактором, провоцирующим развитие оксидативного стресса и воспаления. Действительно, экспериментальная активация лейкоцитов крови форбол-12-миристан-13-ацетатом за счет развития оксидативного стресса и окислительного повреждения ДНК уже через час приводила к появлению фокусов γ H2AX [15]. На линии клеток A549 был показан непосредственный эффект курения на повреждение ДНК, ассоциированное с фосфорилированием H2AX [16]. Обнаружить работы, посвященные изучению γ H2AX в лейкоцитах периферической крови больных ХОБЛ, нам не удалось. Тем не менее, повреждение ДНК в мононуклеарах периферической крови больных ХОБЛ ранее было установлено методом ДНК-комет [17]. Имеющиеся исследования указывают на повреждение ДНК, прежде всего, в альвеолярных клетках больных ХОБЛ [18]. При данном заболевании найдено увеличение числа фокусов γ H2AX в альвеолоцитах I и II типа, а также в эндотелии, по сравнению со здоровыми лицами. Авторами был сделан вывод, что двухпочечные разрывы ДНК, по крайней мере, отчасти формируются под влиянием оксидативного стресса и служат патогенетическим компонентом заболевания, способствуя развитию апоптоза, клеточного старения

и воспалительного ответа [2].

Важным наблюдением стала прямая взаимосвязь между экспрессией TRPV1 на лейкоцитах и уровнем сигнала γ H2AX, что может указывать на роль канала в окислительном повреждении ДНК. Известно, что TRPV1 способен опосредовать эффекты сигаретного дыма и активных форм кислорода на клетку [19]. Так, было установлено, что нокдаун TRPV1 в клетках эпителия A549 снижал формирование фокусов γ H2AX. Аналогичный эффект отмечался при фармакологической блокаде TRPV1, а агонист TRPV1 – капсаицин, напротив, сенсibilизировал клетки к действию γ -излучения, увеличивая число разрывов ДНК [20]. F. Magi et al. также показали, что активация TRPV1 способствует развитию оксидативного стресса, стресса эндоплазматического ретикулаума, повреждению ДНК и апоптозу в клеточных линиях хронической миелоидной лейкемии [21].

Выводы

Таким образом, больные ХОБЛ отличаются от лиц контрольной группы более выраженным повреждением ДНК, которое наиболее заметно проявляется в лимфоцитах. Курение является фактором, негативно

влияющим на формирование разрывов ДНК, что сопровождается повышенным уровнем γ H2AX, как маркера процессов репарации. Канал TRPV1, апрегуляция которого отмечается при ХОБЛ, вероятно, играет роль в окислительном повреждении ДНК в лейкоцитах за счет увеличения продукции активных форм кислорода либо других механизмов, поскольку его экспрессия значимо коррелирует с количеством γ H2AX.

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 выполнено в рамках программы фундаментальных исследований Министерства науки и высшего образования РФ (FGWF-2022-0005).

Funding Sources

This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under the Program for Basic Research (FGWF-2022-0005).

ЛИТЕРАТУРА

1. MacNee W., Tudor R.M. New paradigms in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease I // Proc. Am. Thorac. Soc. 2009. Vol.6, Iss.6. P.527–531. <https://doi.org/10.1513/pats.200905-027DS>
2. Aoshiba K., Zhou F., Tsuji T., Nagai A. DNA damage as a molecular link in the pathogenesis of COPD in smokers // Eur. Respir. J. 2012. Vol.39, Iss.6. P.1368–1376. <https://doi.org/10.1183/09031936.00050211>
3. Торгашина А.В., Лиля А.М. Потенциал использования определения двунитевых разрывов ДНК в различных областях медицины // Современная ревматология. 2023. Т.17, №3. С.96–103. <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2023-3-96-103>
4. Yamaguchi N.H. Smoking, immunity, and DNA damage // Transl. Lung Cancer. Res. 2019. Vol.8, Suppl.1. P.S3–S6. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2019.03.02>
5. 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. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2023-87-62-70>
6. Ciccio A., Elledge S.J. The DNA damage response: making it safe to play with knives // Mol. Cell. 2010. Vol.40, Iss.2. P.179–204. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.019>
7. Bekker-Jensen S., Mairand N. Assembly and function of DNA double-strand break repair foci in mammalian cells // DNA Repair (Amst.). 2010. Vol.9, Iss.12. P.1219–1228. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2010.09.010>
8. Mah L.J., El-Osta A., Karagiannis T.C. γ H2AX: a sensitive molecular marker of DNA damage and repair // Leukemia. 2010. Vol. 24, Iss. 4. P.679–686. <https://doi.org/10.1038/leu.2010.6>
9. Siddiqui M.S., François M., Fenech M.F., Leifert W.R. Persistent γ H2AX: A promising molecular marker of DNA damage and aging // Mutat. Res. Rev. Mutat. Res. 2015. Vol.766. P.1–19. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2015.07.001>
10. Rodier F., Coppé J.P., Patil C.K., Hoeijmakers W.A., Muñoz D.P., Raza S.R., Freund A., Campeau E., Davalos A.R., Campisi J. Persistent DNA damage signaling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion // Nat. Cell Biol. 2009. Vol.11, Iss.8. P.973–979. <https://doi.org/10.1038/ncb1909>
11. Freund A., Orjalo A.V., Desprez P.Y., Campisi J. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences // Trends Mol. Med. 2010. Vol.16, Iss.5. P.238–246. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2010.03.003>
12. Olive P., Banáth J.P. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells // Nat. Protoc. 2006. Vol.1, Iss.1. P.23–29. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.5>
13. Taylor-Clark T. Role of reactive oxygen species and TRP channels in the cough reflex // Cell Calcium. 2016. Vol.60, Iss.3. P.155–162. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2016.03.007>
14. Hong Z., Tian Y., Yuan Y., Qi M., Li Y., Du Y., Chen L., Chen L. Enhanced Oxidative Stress Is Responsible for TRPV4-Induced Neurotoxicity // Front. Cell. Neurosci. 2016. Vol.10. Article number:232.

<https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00232>

15. Tanaka T., Halicka H.D., Traganos F., Darzynkiewicz Z. Phosphorylation of histone H2AX on Ser 139 and activation of ATM during oxidative burst in phorbol ester-treated human leukocytes // *Cell Cycle*. 2006. Vol.5, Iss.22. P.2671–2675. <https://doi.org/10.4161/cc.5.22.3472>

16. Albino A.P., Jorgensen E.D., Rainey P., Gillman G., Clark T.J., Gietl D., Zhao H., Traganos F., Darzynkiewicz Z. gammaH2AX: A potential DNA damage response biomarker for assessing toxicological risk of tobacco products // *Mutat. Res.* 2009. Vol.678, Iss.1. P.43–52. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.06.009>

17. Ceylan E., Kocyigit A., Gencer M., Aksoy N., Sele S. Increased DNA damage in patients with chronic obstructive pulmonary disease who had once smoked or been exposed to biomass // *Respir. Med.* 2006. Vol.100, Iss.7. P.1270–1276. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2005.10.011>

18. Pastukh V.M., Zhang L., Ruchko M., Gorodnya O., Bardwell G.C., Tuder R.M., Gillespie M.N. Oxidative DNA damage in lung tissue from patients with COPD is clustered in functionally significant sequences // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2011. Vol.6. P.209–217. <https://doi.org/10.2147/COPD.S15922>

19. Wang M., Zhang Y., Xu M., Zhang H., Chen Y., Chung K.F., Adcock I.M., Li F. Roles of TRPA1 and TRPV1 in cigarette smoke-induced airway epithelial cell injury model // *Free Radic. Biol. Med.* 2019. Vol.134. P.229–238. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.004>

20. Masumoto K., Tsukimoto M., Kojima S. Role of TRPM2 and TRPV1 cation channels in cellular responses to radiation-induced DNA damage // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. Vol.1830, Iss.6. P.3382–3390. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.020>

21. Maggi F., Morelli M.B., Aguzzi C., Zeppa L., Nabissi M., Polidori C., Santoni G., Amantini C. Calcium influx, oxidative stress, and apoptosis induced by TRPV1 in chronic myeloid leukemia cells: Synergistic effects with imatinib // *Front. Mol. Biosci.* 2023. Vol.10. Article number:1129202. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1129202>

REFERENCES

1. MacNee W., Tuder R.M. New paradigms in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease I. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2009; 6(6):527–531. <https://doi.org/10.1513/pats.200905-027DS>

2. Aoshiba K., Zhou F., Tsuji T., Nagai A. DNA damage as a molecular link in the pathogenesis of COPD in smokers. *Eur. Respir. J.* 2012; 39(6):1368–1376. <https://doi.org/10.1183/09031936.00050211>

3. Torgashina A.V., Lila A.M. The potential use of DNA double-strand breaks detection in various fields of medicine. *Sovremennaya Revmatologiya = Modern Rheumatology Journal* 2023; 17(3):96–103 (in Russian). <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2023-3-96-103>

4. Yamaguchi N.H. Smoking, immunity, and DNA damage. *Transl. Lung Cancer. Res.* 2019; 8(Suppl.1):S3–S6. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2019.03.02>

5. Kotova O.O., D.A.Gassan, 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>

6. Ciccia A., Elledge S.J. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol. Cell* 2010; 40(2):179–204. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.019>

7. Bekker-Jensen S., Mailand N. Assembly and function of DNA double-strand break repair foci in mammalian cells. *DNA Repair (Amst.)*. 2010; 9(12):1219–1228. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2010.09.010>

8. Mah L.J., El-Osta A., Karagiannis T.C. GammaH2AX: a sensitive molecular marker of DNA damage and repair. *Leukemia* 2010; 24(4):679–686. <https://doi.org/10.1038/leu.2010.6>

9. Siddiqui M.S., François M., Fenech M.F., Leifert W.R. Persistent γH2AX: A promising molecular marker of DNA damage and aging. *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2015; 766:1–19. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2015.07.001>

10. Rodier F., Coppé J.P., Patil C.K., Hoeijmakers W.A., Muñoz D.P., Raza S.R., Freund A., Campeau E., Davalos A.R., Campisi J. Persistent DNA damage signaling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat. Cell Biol.* 2009; 11(8):973–979. <https://doi.org/10.1038/ncb1909>

11. Freund A., Orjalo A.V., Desprez P.Y., Campisi J. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences. *Trends Mol. Med.* 2010; 16(5):238–246. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2010.03.003>

12. Olive P., Banáth J.P. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nat. Protoc.* 2006; 1(1):23–29. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.5>

13. Taylor-Clark T. Role of reactive oxygen species and TRP channels in the cough reflex. *Cell Calcium* 2016; 60(3):55–162. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2016.03.007>

14. Hong Z., Tian Y., Yuan Y., Qi M., Li Y., Du Y., Chen L., Chen L. Enhanced oxidative stress is responsible for TRPV4-induced neurotoxicity. *Front. Cell. Neurosci.* 2016; 10:232. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00232>

15. Tanaka T., Halicka H.D., Traganos F., Darzynkiewicz Z. Phosphorylation of histone H2AX on Ser 139 and activa-

tion of ATM during oxidative burst in phorbol ester-treated human leukocytes. *Cell Cycle* 2006; 5(22):2671–2675. <https://doi.org/10.4161/cc.5.22.3472>

16. Albino A.P., Jorgensen E.D., Rainey P., Gillman G., Clark T.J., Gietl D., Zhao H., Traganos F., Darzynkiewicz Z. gammaH2AX: A potential DNA damage response biomarker for assessing toxicological risk of tobacco products. *Mutat. Res.* 2009; 678(1):43–52. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.06.009>

17. Ceylan E., Kocyigit A., Gencer M., Aksoy N., Selek S. Increased DNA damage in patients with chronic obstructive pulmonary disease who had once smoked or been exposed to biomass. *Respir. Med.* 2006; 100(7):1270–1276. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2005.10.011>

18. Pastukh V.M., Zhang L., Ruchko M., Gorodnya O., Bardwell G.C., Tuder R.M., Gillespie M.N. Oxidative DNA damage in lung tissue from patients with COPD is clustered in functionally significant sequences. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2011; 6:209–217. <https://doi.org/10.2147/COPD.S15922>

19. Wang M., Zhang Y., Xu M., Zhang H., Chen Y., Chung K.F., Adcock I.M., Li F. Roles of TRPA1 and TRPV1 in cigarette smoke -induced airway epithelial cell injury model. *Free Radic. Biol. Med.* 2019; 134:229–238. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.004>

20. Masumoto K., Tsukimoto M., Kojima S. Role of TRPM2 and TRPV1 cation channels in cellular responses to radiation-induced DNA damage. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013; 1830(6):3382–3390. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.020>

21. Maggi F., Morelli M.B., Aguzzi C., Zeppa L., Nabissi M., Polidori C., Santoni G., Amantini C. Calcium influx, oxidative stress, and apoptosis induced by TRPV1 in chronic myeloid leukemia cells: Synergistic effects with imatinib. *Front. Mol. Biosci.* 2023; 10:1129202. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1129202>

Информация об авторах:

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

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

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

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

Елизавета Григорьевна Шелудько, 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

Author information:

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

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

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

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

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 14.05.2024
Принята к печати 30.05.2024

Received May14, 2024
Accepted May 30, 2024