

Читать  
онлайн  
Read  
online

Попова А.Ю.<sup>1</sup>, Кузьмин С.В.<sup>2</sup>, Илюшина Н.А.<sup>2</sup>, Горенская О.В.<sup>2</sup>, Егорова О.В.<sup>2</sup>,  
Котнова А.П.<sup>2</sup>, Аверьянова Н.С.<sup>2</sup>, Игнатъев С.Д.<sup>2</sup>, Кузнецова Н.Е.<sup>3</sup>,  
Кобелевская Н.В.<sup>4</sup>

## Лабиллизация структуры ДНК лимфоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19

<sup>1</sup> Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 127994, Москва, Россия;

<sup>2</sup> ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Россия;

<sup>3</sup> ГБУЗ МО «Егорьевская ЦРБ», 140301, Егорьевск, Россия;

<sup>4</sup> ГБУЗ МО «Сергиево-Посадская больница», 141301, Сергиев Посад, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Имеющиеся данные свидетельствуют о вероятной способности коронавируса SARS-CoV-2 нарушать процессы репарации ДНК, вызывать окислительный стресс, что может приводить к накоплению поврежденных ДНК в клетках человека. Однако ДНК-повреждающее действие вируса недостаточно изучено.

**Цель исследования** – изучение способности SARS-CoV-2 вызывать повреждения ДНК в лимфоцитах периферической крови человека.

**Материалы и методы.** В исследование включены 140 доноров с диагнозом COVID-19 и 24 человека контрольной группы. Уровень фрагментации ДНК в лимфоцитах определяли методом ДНК-комет в щелочной версии. Статистические различия между средними значениями медиан показателя «процент ДНК в хвосте комет» (% ДНКхв) оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Для сравнения долей клеток с разным уровнем повреждения ДНК использовали критерий Джебферса. Статистические различия между группами оценивали с помощью теста Манна – Уитни.

**Результаты.** У пациентов с COVID-19 выявлено повышение уровня разрывов и щелочнолабильных сайтов в ДНК по сравнению с контролем ( $p = 0,025$ ). В группе пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, доля комет с повреждениями ДНК до 5% ДНКхв снижалась ( $p = 0,009$ ). При этом возрастала доля комет, содержащих более 10% ДНКхв ( $p = 0,000$ ). Количество атипичных комет по сравнению с контролем увеличивалось в 3, 7 и 5, 9 раза при лёгкой и среднетяжёлой степени тяжести COVID-19, соответственно ( $r = 0,993$ ;  $p = 0,001$ ). При наличии хронических заболеваний — ишемической болезни сердца (ИБС) и сахарного диабета II типа (СД2) уровень фрагментации ДНК в лимфоцитах статистически значимо повышался по сравнению с группой пациентов без указанных патологий.

**Ограничение исследования.** Ограничением является отсутствие данных о нарушениях структуры ДНК при тяжёлой степени COVID-19.

**Заключение.** Инфекция SARS-CoV-2 приводит к лабиллизации структуры ДНК в лимфоцитах периферической крови человека. Уровень повреждений ДНК зависит от степени тяжести COVID-19 и наличия сопутствующих патологий — ИБС и СД2. Результаты исследования важны для понимания механизмов действия вируса на иммунокомпетентные клетки человека.

**Ключевые слова:** COVID-19; SARS-CoV-2; повреждение ДНК; ДНК-кометы; лимфоциты человека; сахарный диабет 2-го типа; ишемическая болезнь сердца

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование проводили в соответствии с этическим стандартом Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (протокол № 8 от 29.09.2022 г.). Все доноры дали информированное согласие на участие в исследовании.

**Для цитирования:** Попова А.Ю., Кузьмин С.В., Илюшина Н.А., Горенская О.В., Егорова О.В., Котнова А.П., Аверьянова Н.С., Игнатъев С.Д., Кузнецова Н.Е., Кобелевская Н.В. Лабиллизация структуры ДНК лимфоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19. *Гигиена и санитария*. 2024; 103(4): 288–296. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-4-288-296> <https://elibrary.ru/pqxmha>

**Для корреспонденции:** Илюшина Наталья Алексеевна, доктор биол. наук, зав. отд. генетической токсикологии ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи. E-mail: [ilushina.na@fncg.ru](mailto:ilushina.na@fncg.ru)

**Участие авторов:** Попова А.Ю., Кузьмин С.В. — концепция исследования; Илюшина Н.А. — дизайн исследования, сбор материала, обработка данных, написание текста; Горенская О.В. — лабораторные исследования, статистическая обработка, написание текста; Егорова О.В. — лабораторные исследования, написание текста; Котнова А.П. — лабораторные исследования, обработка данных; Аверьянова Н.С. — лабораторные исследования; Игнатъев С.Д. — статистическая обработка; Кузнецова Н.Е., Кобелевская Н.В. — сбор материала. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

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

Поступила: 15.12.2023 / Принята к печати: 09.04.2024 / Опубликована: 08.05.2024

Anna Yu. Popova<sup>1</sup>, Sergey V. Kuzmin<sup>2</sup>, Natalia A. Ilyushina<sup>2</sup>, Olga V. Gorenskaya<sup>2</sup>,  
Olga V. Egorova<sup>2</sup>, Alina P. Kotnova<sup>2</sup>, Nataliya S. Averianova<sup>2</sup>, Semen D. Ignatyev<sup>2</sup>,  
Nataliya E. Kuznetsova<sup>3</sup>, Nataliya V. Kobelevskaya<sup>4</sup>

## Labilization of the DNA structure in peripheral blood lymphocytes of COVID-19 patients

<sup>1</sup>Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 141014, Russian Federation;

<sup>2</sup>Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation;

<sup>3</sup>Yegoryevskaya Central District Hospital, 140301, Yegoryevsk, Russian Federation;

<sup>4</sup>Sergiev Posad Hospital, 141301, Sergiev Posad, Russian Federation

### ABSTRACT

**Introduction.** Available data indicate the SARS-CoV-2 coronavirus to be potent of impairing DNA repair processes and cause oxidative stress, which can lead to the accumulation of DNA damage in human cells. However, the DNA-damaging effect of the virus has not yet been sufficiently studied.

**The purpose of the research** was to study the ability of SARS-CoV-2 to cause DNA damage in human peripheral blood lymphocytes.

**Materials and methods.** One hundred forty COVID-19 patients and 24 donors of the control group are included in the study. The level of DNA fragmentation in lymphocytes was determined by alkaline DNA-comet assay. Statistical differences between the mean medians of the «%DNA in the comet tail» (tail DNA%) were assessed using Student's *t*-test. The Jeffers test was used to compare the proportions of cells with different levels of DNA-damage. Statistical differences between groups were assessed using the Mann-Whitney test.

**Results.** In the COVID-19 patients, an increase in the level of breaks and alkali-labile sites in DNA was revealed when compared to controls ( $p = 0.025$ ). In the group of patients infected with SARS-CoV-2, the proportion of comets with DNA damage of up to 5% decreased ( $p = 0.009$ ), while the proportion of comets containing more than 10% DNA tail increased ( $p = 0.000$ ). The number of atypical comets compared to the control increased by 3.7 and 5.9 times with mild and moderate severity of the disease, respectively ( $r = 0.993$ ;  $p = 0.001$ ). In the association with diseases – coronary heart disease (CHD) and diabetes mellitus type II (DM type 2), the level of DNA fragmentation in lymphocytes statistically significantly increased compared to the group of patients without these diseases.

**Limitations.** A limitation is the lack of data on DNA-structure damage in severe COVID-19 disease.

**Conclusion.** SARS-CoV-2 infection leads to labilization of the DNA structure in human peripheral blood lymphocytes. The level of DNA damage depends on the severity of COVID-19 and the presence of comorbid diseases: CHD and DM type 2. The results of the study are important for understanding the mechanisms of action of the virus on human immunocompetent cells.

**Keywords:** COVID-19; SARS-CoV-2; DNA damage; DNA-comets; human lymphocytes; type 2 diabetes mellitus; coronary heart disease

**Compliance with ethical standards.** The study was conducted in accordance with the ethical standard of the World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects" as amended in 2000. The study was approved by the local ethics committee (protocol No. 8 of September 29, 2022). All donors gave informed consents to participate in the study.

**For citation:** Popova A.Yu., Kuzmin S.V., Ilyushina N.A., Gorenskaya O.V., Egorova O.V., Kotnova A.P., Averianova N.S., Ignatyev S.D., Kuznetsova N.E., Kobelevskaya N.V. Labilization of the DNA structure in peripheral blood lymphocytes of COVID-19 patients. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2024; 103(4) 288–296. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-4-288-296> <https://elibrary.ru/pqxmh> (In Russ.)

**For correspondence:** Nataliya A. Ilyushina, MD, Ph.D., DSci., Head of the Department of Genetic Toxicology, Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation. E-mail: [ilyushina.na@fncg.ru](mailto:ilyushina.na@fncg.ru)

**Contribution:** Popova A.Yu., Kuzmin S.V. – concept of the study; Ilyushina N.A. – concept of the study, collection of material, data processing, writing text; Gorenskaya O.V. – laboratory research, statistical processing, text writing; Egorova O.V. – laboratory research, text writing; Kotnova A.P. – laboratory research, data processing; Averianova N.S. – laboratory research; Ignatyev S.D. – statistical processing; Kuznetsova N.E., Kobelevskaya N.V. – collection of material. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

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

**Acknowledgement.** The study had no sponsorship.

Received: December 15, 2023 / Accepted: April 9 / Published: May 8, 2024

### Введение

Важнейшей задачей здравоохранения России является сохранение генетического здоровья населения. Молекулы ДНК в клетках человека подвергаются изменениям при действии эндогенных и экзогенных факторов (химических, физических или биологических агентов), которые вызывают непосредственное повреждение ДНК или мешают процессам её репликации и репарации. Нестабильность генома характеризуется множеством различных генетических изменений [1, 2] и может являться одной из причин целого ряда мультифакториальных заболеваний, таких как рак, диабет II типа, болезнь Альцгеймера, преждевременное старение и др. [3–7].

Многие вирусы в течение своего жизненного цикла повреждают ДНК и индуцируют нестабильность генома в клетках-хозяевах. Вирусные инфекции могут запускать процессы канцерогенеза, кодируя онкогенные вирусные белки, вызывая хроническое воспаление и (или) генотокси-

ческое повреждение. Международное агентство по изучению рака (IARC) относит к канцерогенам группы 1 (с доказанностью канцерогенных эффектов у человека) 10 патогенов, среди которых бактериальные, паразитарные и вирусные инфекции [8].

Заболевание COVID-19 в популяциях человека появилось сравнительно недавно, поэтому долгосрочные последствия для здоровья пациентов ещё недостаточно изучены. Вирус SARS-CoV-2, который вызывает COVID-19, проникает в клетки по механизму вирус-индуцированного эндотоза при взаимодействии связывающего домена белка S1-RBD (receptor binding in S1 subunit) с рецепторами ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2) на поверхности клетки. Вирусная геномная РНК использует белоксинтезирующий аппарат клетки для образования структурных и функциональных белков. Последние иницируют процесс репликации вирусной РНК, синтез вирусных белков внутри инфицированной клетки и самосборку вирусов, которые просачиваются и (или) выпочковываются наружу [9, 10].

Вирус SARS-CoV-2 поражает эпителиальные клетки дыхательных путей и эндотелиальные клетки сосудов, приводя к гибели клеток и тяжёлому поражению лёгких [11]. Вирус может реплицироваться в эндотелиальных клетках почек, лёгких, сердца и печени [12], выявлен в нейронах головного мозга, эндокринных клетках поджелудочной железы, гепатоцитах, кардиомиоцитах. Как отмечено в работе [13], способность SARS-CoV-2 реплицироваться в головном мозге некоторых пациентов может привести к образованию долговременного резервуара вируса и впоследствии к развитию хронических нейродегенеративных заболеваний. В первую очередь это связано с тем, что мозг является органом с иммунными привилегиями. Вирус обнаружен в лимфоцитах и моноцитах периферической крови, лимфатических узлах [14]. Повреждение клеток иммунной системы может быть одной из причин лимфопении, которая наблюдается более чем у 80% больных COVID-19 [15, 16].

В экспериментах на мышах, инфицированных SARS-CoV-2, установлено, что две трети транскриптов в клетках, инфицированных SARS-CoV-2, имеют вирусное происхождение. Такой эффект был показан и у пациентов с COVID-19. При этом снижались уровень и активность киназы CHK1, которая участвует в регуляции клеточного цикла, первой отвечает на повреждение ДНК и контролирует образование дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, необходимых для синтеза ДНК. Дефицит нуклеотидов в инфицированных клетках приводит к нарушению репликации, репарации, прохождения клеточного цикла и клеточному старению [17].

В экспериментах *in vitro* на линии клеток HEK-293T показано, что шиповидный белок SARS-CoV-2 ингибирует восстановление повреждений ДНК, препятствуя рекрутированию ключевых белков репарации ДНК BRCA1 и 53BP1 к месту повреждения [18]. В обзоре [13] приведены сведения о том, что коронавирусы, такие как SARS-CoV и вирус инфекционного бронхита (IBV), нарушают активность ДНК-полимеразы  $\delta$ , что приводит к нарушению формирования репликативной вилки, повреждению ДНК, фосфорилированию гистонов и остановке клеточного цикла. Важно отметить, что SARS-CoV и SARS-CoV-2 сходны на 99,8%, поэтому для нового вируса SARS-CoV-2 можно предполагать аналогичный механизм. В некоторых исследованиях обнаружено, что COVID-19 сопровождается развитием окислительного стресса [19].

Исследования, направленные на изучение влияния инфекции SARS-CoV-2 на целостность ДНК, немногочисленны. В работе [20] показано, что степень повреждения ДНК, параметры окислительного стресса и уровни цитокинов значительно повышались у пациентов с SARS-CoV-2 по сравнению со здоровыми людьми из контрольной группы. Повышенный уровень повреждений ДНК у больных COVID-19 выявлен в работе [21]. В совокупности полученные данные свидетельствуют о вероятной способности SARS-CoV-2 индуцировать повреждение ДНК, нарушать механизмы репарации ДНК и вызывать окислительный стресс в клетках человека. Однако способность коронавируса SARS-CoV-2 индуцировать повреждение ДНК ещё недостаточно изучена.

*Цель работы* – изучение способности вируса SARS-CoV-2 вызывать повреждение ДНК лимфоцитов периферической крови доноров с диагнозом COVID-19 в зависимости от степени тяжести болезни и сопутствующих хронических заболеваний.

## Материалы и методы

Исследование одобрено Этическим комитетом ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (протокол № 8 от 29.09.2022 г.). Все доноры были информированы о цели исследования, дали письменное согласие на участие в нём. В исследование включены 140 доноров с диагнозом COVID-19, находившиеся на стационарном лечении: 40 человек с лёгкой степенью тяжести COVID-19

и 100 человек со среднетяжёлой степенью тяжести заболевания<sup>1</sup>. Контрольную группу составили 24 человека – добровольцы, не болевшие COVID-19 на протяжении года (минимально) до момента взятия крови. Критерии исключения из исследования – наличие злокачественных новообразований, гепатита, ВИЧ-инфекции.

Перед отбором проб проведено анкетирование, включающее сведения о возрасте, поле, наличии хронических заболеваний и курении. Отбор образцов венозной крови из локтевой вены (объём 9 мл) проводили в вакутейнеры с гепарином при поступлении в лечебное учреждение.

Уровень фрагментации ДНК в лимфоцитах периферической крови определяли методом щелочного гелевого электрофореза отдельных клеток (метод ДНК-комет). Лимфоциты выделяли из цельной гепаринизированной периферической крови центрифугированием в градиенте плотности (фиколл, ПанЭко, Россия). Электрофорез проводили в щелочном буфере (pH 13,0). Начальная сила тока составляла 300 мА, напряжение 17 В (0,7 В/см), длительность 30 мин. Готовили по четыре микропрепарата на каждого донора.

Окрашенные микропрепараты (краситель SYBR Green I в ТЕ-буфере (pH = 8,0) анализировали с помощью эпифлуоресцентного микроскопа с камерой и программой захвата изображения Comet Assay IV производства Perceptive Instruments Ltd. Оценивали степень миграции ДНК отдельных клеток по показателю % ДНКхв. В анализ брали только отдельно лежащие клетки без наложений. На каждом микропрепарате считали не менее 100 клеток. Кометы с показателем % ДНКхв более 80% рассматривали как атипичные (hedgehogs («ежи») или ghost cell («клетки-призраки»)).

Статистический анализ результатов проводили с помощью программного пакета IBM.SPSS.Statistics.v22. Для проверки данных на нормальное распределение использовали метод Колмогорова – Смирнова. Рассчитывали среднее медианных значений показателя для каждого донора. Статистические различия между средними значениями медиан оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Для сравнения долей клеток с разным уровнем повреждения ДНК использовали критерий Джефферса, рассчитывали доверительный интервал к долям. Статистические различия между группами оценивали с помощью теста Манна – Уитни, также рассчитывали арифметическое среднее и ошибку среднего.

## Результаты

Общая характеристика групп доноров, включённых в исследование, приведена в табл. 1.

Оценивали уровень разрывов и щелочнолабильных сайтов ДНК в лимфоцитах периферической крови методом ДНК-комет на основании показателя % ДНКхв.

Известно, что фактором, способным индуцировать повреждение ДНК в клетках, является курение [22, 23]. Кроме того, на уровень разрывов ДНК могут влиять пол и возраст пациентов [23–25]. Анализ вклада этих факторов в изменение показателя % ДНКхв у доноров с диагнозом COVID-19 не выявил статистически значимых отличий в уровне повреждений ДНК в зависимости от возраста ( $p = 0,704$ ), пола ( $p = 0,249$ ) и курения ( $p = 0,097$ ). В контрольной группе статистически значимые отличия по уровню повреждений ДНК в лимфоцитах периферической крови между донорами разного пола ( $p = 0,164$ ) и возраста ( $p = 0,890$ ) также не выявлены.

Поскольку при наличии сопутствующих патологий возможна индукция повреждений ДНК в клетках, на основании данных анкет были выделены группы лиц, имеющих в анамнезе хронические болезни. Показано, что наличие в анамне-

<sup>1</sup> Временные методические рекомендации профилактики, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 17 (14.12.2022 г.). Министерство здравоохранения Российской Федерации. 260 с. Доступны: [https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/061/252/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0\\_COVID-19\\_V17.pdf](https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/061/252/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V17.pdf)

Таблица 1 / Table 1

**Характеристика доноров, принимавших участие в исследовании**  
**The characteristics of donors participated in the study**

Характеристика Characteristics	Контрольная группа Control	Пациенты с COVID-19 / COVID-19 patients		
		Вся группа Total	Тяжесть заболевания / Disease severity	
			Лёгкая / Mild	Среднетяжёлая / Moderate
Возраст, лет / Age, years	28–66	27–83	27–80	30–83
Пол: / Sex:				
женщины / women, <i>n</i> (%)	15 (62.5)	76 (54.2)	23 (57.5)	53 (53.0)
мужчины / men, <i>n</i> (%)	9 (37.5)	64 (45.8)	17 (42.5)	47 (47.0)
Курение: / Smoking:				
да / yes, <i>n</i> (%)	23 (95.8)	21 (15.0)	11 (27.5)	10 (10.0)
нет / no, <i>n</i> (%)	1 (4.2)	119 (85.0)	29 (72.5)	90 (90.0)

Примечание. Здесь и в табл. 2, 5: *n* – число человек в группе.  
 Note: Here and in tabl. 2, 5: *n* – the case number in the group.

зе гипертонии или патологий желудочно-кишечного тракта не влияло на уровень повреждений ДНК в лимфоцитах.

В группе больных COVID-19, имеющих в анамнезе ишемическую болезнь сердца и сахарный диабет второго типа, уровень повреждений ДНК в лимфоцитах был статистически значимо выше, чем в группе пациентов без указанных сопутствующих патологий. Для определения вклада вирусной инфекции в уровень повреждений ДНК на первом этапе исследований из группы доноров исключили пациентов, имеющих эти болезни в анамнезе. Группа пациентов без ИБС или СД2 составила 97 человек (табл. 2).

Для группы доноров с диагностированным COVID-19, не имеющих в анамнезе ИБС и СД2, показано статистически значимое увеличение содержания ДНК в хвосте комет по сравнению с контролем как в случае общей группы пациентов, так и при разных степенях тяжести болезни (табл. 3).

Выявлены статистически значимые отличия в уровне повреждений ДНК в лимфоцитах пациентов с COVID-19 по сравнению с контролем. Средние медианные значения показателя % ДНКхв возрастают по сравнению с контрольной группой в 1,3 раза (лёгкая степень) и 1,5 раза (среднетяжёлая степень). Средние арифметические значения этого показателя увеличиваются в 1,3 и 1,6 раза при лёгкой и среднетяжёлой степенях тяжести болезни соответственно. Для

анализа различий между группами кометы с разным уровнем повреждений ДНК были разделены на шесть категорий в зависимости от значений показателя % ДНКхв (табл. 4).

Как видно из табл. 4, в контроле основная часть комет (около 90%) содержала не более 5% ДНК в хвосте, суммарная доля комет с уровнем разрывов ДНК 10% и выше составляла в среднем 2,16%. Доля атипичных комет с содержанием ДНК в хвосте более 80% составляла всего около 0,1%. При инфицировании вирусом доля комет с повреждениями ДНК до 5% статистически значимо снизилась. При этом возросло количество комет, содержащих более 10% ДНК в хвосте (*p* = 0,000). Количество комет с показателем % ДНКхв от 10 до 25% увеличилось в 1,4 раза, от 25 до 50% – в 3,9 раза, от 50 до 80% – в 5,4 раза, более 80% – в 5,1 раза.

Анализ распределения комет с различным количеством ДНК в хвосте показал (см. рисунок), что при лёгкой степени тяжести COVID-19 значимо возрастает количество комет с показателем % ДНКхв ≥ 25%, тогда как при среднетяжёлом течении значимые отличия от контроля по этому показателю регистрируются начиная с уровня 10%. Наиболее выраженные отличия между группами с разной тяжестью COVID-19 отмечены в отношении доли комет с содержанием ДНК в хвосте более 80% (*p* = 0,011), что свидетельствует об усилении гибели клеток.

Таблица 2 / Table 2

**Характеристика доноров, не имеющих в анамнезе ишемической болезни сердца и сахарного диабета**  
**Characteristics of donors without coronary heart disease (CHD) and diabetes mellitus in the history**

Характеристика Characteristics	Пациенты с COVID-19 без ИБС и СД2, <i>n</i> (%) COVID-19 patients without CHD and DM type 2, <i>n</i> (%)		
	Объединённая группа Combined group	Тяжесть заболевания Disease severity	
		Лёгкая Mild	Среднетяжёлая Moderate
Возраст, лет / Age, years	27–83	27–80	30–83
Пол: / Sex:			
женщины / women	52 (53.61)	16 (50.0)	36 (55.38)
мужчины / men	45 (46.39)	16 (50.0)	29 (44.62)
Курение: / Smoking:			
да / yes	79 (81.44)	22 (68.75)	57 (87.69)
нет / no	18 (18.56)	10 (31.25)	8 (12.31)

Таблица 3 / Table 3

**Значения показателя % ДНКхв у доноров контрольной группы и лиц с COVID-19, не имеющих в анамнезе ишемической болезни сердца и сахарного диабета**

The value of tail DNA % in control group of donors and COVID-19 patients without coronary heart disease and diabetes mellitus

Группы доноров Donor groups	<i>Mme</i> ± <i>m</i>	<i>p</i>	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>p</i>
Контрольная группа Control group	0.31 ± 0.03	–	1.64 ± 0.05	–
Объединённая группа Combined group	0.43 ± 0.03	0.025	2.44 ± 0.04	0.000
Тяжесть заболевания: Disease severity:				
лёгкая степень / mild	0.39 ± 0.02	0.044	2.19 ± 0.07	0.000
среднетяжёлая степень / moderate	0.45 ± 0.04	0.007	2.56 ± 0.05	0.000

Примечание. Здесь и в табл. 6, 7: *Mme* – среднее медианных значений; *M* – среднее арифметическое; *m* – ошибка среднего; *p* – значимость отличий от контрольной группы.

Note: Here and in Tables 6, 7: *Mme* – mean of medians; *M* – arithmetic mean; *m* – standard error; *p* – significance of differences from the control group.

Таблица 4 / Table 4

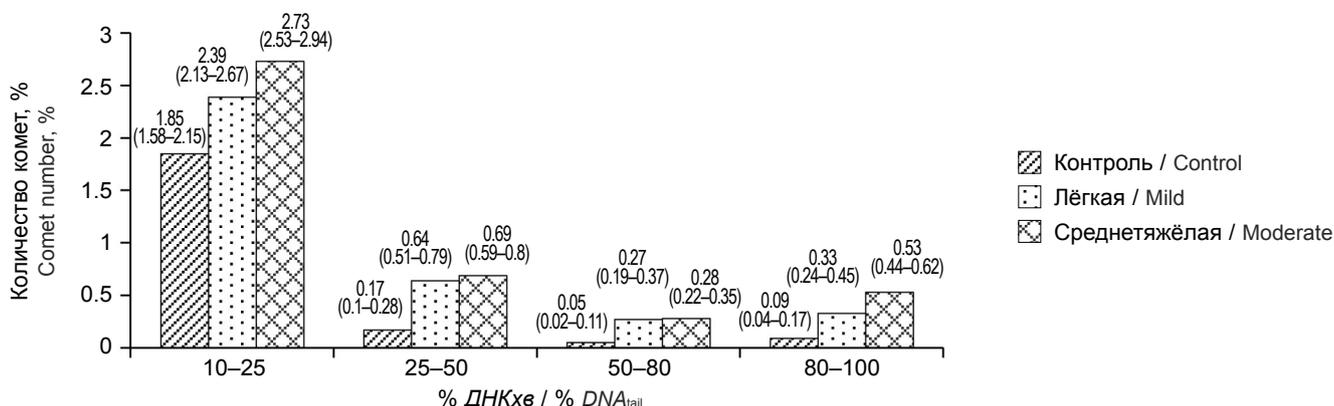
**Распределение клеток с разной степенью фрагментации ДНК у доноров контрольной группы и доноров с COVID-19, не имеющих в анамнезе ишемической болезни сердца и сахарного диабета**

**Distribution of cells with different level of DNA fragmentation in control group and donors with COVID-19 without coronary heart disease and diabetes mellitus**

% ДНКхв DNA <sub>tail</sub> , %	Контрольная группа Control group		Группа пациентов с COVID-19 без ИБС и СД2 COVID-19 patients without CHD and DM type 2		
	Количество клеток, % / Number of cells, %	95% CI	Количество клеток, % / Number of cells, %	95% CI	p
До 5	91.02	90.41–91.61	88.78	88.29–89.10	0.009
От 5 до 9,99	6.82	6.30–7.36	7.20	6.94–7.47	0.048
10–24,99	1.85	1.58–2.15	2.61	2.45–2.78	0.000
25–49,99	0.17	0.10–0.28	0.67	0.59–0.76	0.000
50–79,99	0.05	0.02–0.11	0.27	0.22–0.33	0.000
80–100	0.09	0.04–0.17	0.46	0.39–0.53	0.000

Примечание. p – уровень значимости отличий между группами.

Note: p – significance level of differences between the groups.



Распределение комет с показателем % ДНКхв. более 10% в контроле и при разной степени тяжести COVID-19. Над столбиками указаны соответствующие значения (95% CI); лёгкая – лёгкая степень тяжести COVID-19, среднетяжёлая – среднетяжёлая степень тяжести COVID-19.

Distribution of comets with «DNA<sub>tail</sub> %» more than 10% in the control and COVID-19 patients with different disease severity. Corresponding values (95% CI) are indicated above the bars; «mild» – mild disease severity, «moderate» – moderate disease severity.

Количество атипичных комет в зависимости от тяжести COVID-19 увеличивается в 3,7 и 5,9 раза (лёгкая и среднетяжёлая степени соответственно) по сравнению с контролем. Проведённый корреляционный анализ показал высокую положительную корреляцию степени тяжести COVID-19 с долей комет с разрывами ДНК более 80% ( $r = 0,993$ ;  $p = 0,001$ ). Характеристика групп больных COVID-19 с сопутствующими патологиями (ИБС и СД2) показана в табл. 5.

Результаты исследования показали, что у доноров с COVID-19 уровень фрагментации ДНК лимфоцитов пери-

ферической крови статистически значимо повышается при наличии в анамнезе таких хронических заболеваний, как ИБС и СД2 (табл. 6).

Средние значения % ДНКхв при наличии ИБС, СД2 или двух этих патологий одновременно статистически значимо отличаются от значений в группе без указанных хронических болезней. Медианные значения показателя были незначимы в случае СД2. На следующем этапе нами проведено сравнение уровня повреждений ДНК в лимфоцитах пациентов с ИБС и СД2 при разной степени тяжести COVID-19 (табл. 7).

Таблица 5 / Table 5

**Характеристика пациентов с COVID-19 и сопутствующими хроническими заболеваниями (ИБС и СД2), принимавших участие в исследовании**

**Characterization of COVID-19 patients and comorbid chronic diseases (CHD and DM2) participated in the study**

Болезни в анамнезе Diseases	Пациенты с COVID-19 n (%), степень тяжести болезни COVID-19 patients n (%), disease severity		
	Объединённая группа Combined group	Лёгкая степень Mild	Среднетяжёлая степень Moderate
Ишемическая болезнь сердца, ИБС / Coronary heart disease (CHD)	23 (16.4)	4 (10.0)	19 (19.0)
Сахарный диабет, СД2 / Diabetes mellitus (DM type 2)	9 (6.4)	4 (10.0)	5 (5.0)
ИБС + СД2 / CHD + DM type 2	11 (7.9)	–	11 (11.0)
Отсутствие в анамнезе ИБС+ СД2 / Without both CHD and DM type 2	97 (69.3)	32 (80.0)	65 (65.0)

Таблица 6 / Table 6

**Значение показателя % ДНКхв в группах доноров с COVID-19**  
**The value of  $DNA_{tail}$  % in groups of donors with the COVID-19**

Группы / Groups	$M \pm m$	$p$	$M \pm m$	$p$
Отсутствует в анамнезе ИБС, СД2 / Without CHD and type 2 DM	0.43 ± 0.03	–	2.44 ± 0.04	–
Присутствует в анамнезе ИБС / With CHD	0.61 ± 0.17	0.014	2.75 ± 0.09	0.000
Присутствует в анамнезе СД2 / With type 2 DM	0.40 ± 0.04	0.17	2.77 ± 0.15	0.002
В анамнезе присутствуют ИБС и СД2 / With CHD and type 2 DM	0.80 ± 0.09	0.000	3.58 ± 0.22	0.000

Таблица 7 / Table 7

**Значения показателей % ДНКхв в группах пациентов с COVID-19 и сопутствующими хроническими заболеваниями**  
**The value of the indicators  $DNA_{tail}$  % in groups of COVID-19 patients and concomitant chronic diseases**

Заболевания в анамнезе Diseases in history	Пациенты с COVID-19, n (%), степень тяжести заболевания / COVID-19 patients, n (%), disease severity							
	Лёгкая степень / Mild				Среднетяжёлая степень / Moderate			
	$M \pm m$	$p$	$M \pm m$	$p$	$M \pm m$	$p$	$M \pm m$	$p$
Отсутствуют в анамнезе ИБС, СД2 Without CHD and type 2 DM	0.39 ± 0.02	–	2.19 ± 0.07	–	0.45 ± 0.04	–	2.56 ± 0.05	–
Присутствует в анамнезе ИБС With CHD	0.45 ± 0.01	0.034	2.68 ± 0.21	0.005	0.77 ± 0.21	0.007	2.81 ± 0.11	0.004
Присутствует в анамнезе СД2 With type 2 DM	0.38 ± 0.07	0.258	2.73 ± 0.24	0.003	0.42 ± 0.05	0.421	2.78 ± 0.19	0.136
Присутствуют в анамнезе ИБС и СД2 With CHD and type 2 DM	–	–	–	–	0.80 ± 0.09	0.000	3.58 ± 0.22	0.000

Как видно из табл. 7, при лёгкой степени COVID-19 наличие в анамнезе ИБС статистически значимо повышает средние медианные значения показателя % ДНКхв. При СД2 не выявлено статистически значимых отличий медианных значений от контроля. Средние арифметические значения показателя % ДНКхв при лёгкой степени тяжести болезни статистически значимо отличались во всех группах с хроническими заболеваниями от показателей доноров без таковых. При среднетяжёлой степени COVID-19 статистически значимые отличия от группы пациентов без анализируемых хронических патологий выявлены при наличии ИБС и при сочетании в анамнезе ИБС и СД2.

## Обсуждение

Вирус SARS-CoV-2, попадая в организм реципиентов, может индуцировать геномную нестабильность и возникновение различных типов повреждений ДНК, приводить к избыточному высвобождению цитокинов и нестабильному иммунному ответу. Изучение этих процессов имеет важное значение для понимания механизмов иммунного ответа. В настоящем исследовании оценивали методом ДНК-комет в щелочных условиях уровень разрывов ДНК в лимфоцитах человека. Результаты показали, что в контрольной группе среднее значение медиан % ДНКхв составило  $0,31 \pm 0,03\%$ , среднее арифметическое этого показателя –  $1,64 \pm 0,05\%$ . При этом доля комет с минимальным уровнем фрагментации ДНК до 5% у доноров контрольной группы составила около 90%. Полученные результаты сопоставимы с данными, опубликованными в литературе ранее. В работах [26–28] показатель % ДНКхв у здоровых доноров не превышал 2%. Также Тхаккаг с соавт. показали, что доля лейкоцитов с минимальным уровнем повреждений ДНК в норме составляет 70–95% от общего количества клеток [24].

Известно, что клетки, претерпевающие некроз или апоптоз, демонстрируют высокую степень фрагментации ДНК. Апоптоз приводит к образованию множественных одно- и двухпочечных разрывов, которые могут быть обнаружены с помощью щелочного гель-электрофореза одиночных клеток [29, 30].

Согласно гипотезе [31], накопление разрывов ДНК приводит к гибели клеток. Высвобождаемые при гибели клеток частицы хроматина могут интегрироваться в геномы здоровых клеток, вызывая разрывы ДНК, что вновь ведёт к апоптозу и (или) активации воспалительных цитокинов в поражённых клетках. Таким образом, происходит инициация каскада гибели большого количества клеток, дальнейшего повреждения ДНК, гипертоспаления и цитокинового шторма. Авторы полагают, что цитокиновый шторм, который является причиной высокой смертности при тяжёлой форме COVID-19, может быть связан именно с повреждениями ДНК.

Отличительной чертой цитокинового шторма является неконтролируемый и дисфункциональный иммунный ответ, включающий постоянную активацию лимфоцитов, макрофагов и естественных клеток-киллеров. В условиях цитокинового шторма активные формы кислорода накапливаются, вызывая апоптоз клеток в инфицированной области, а также деградацию внеклеточного матрикса [32].

Полученные в настоящем исследовании результаты свидетельствуют о том, что у пациентов с COVID-19 повышается уровень разрывов ДНК в лимфоцитах периферической крови по сравнению с контрольной группой, при этом с увеличением степени тяжести заболевания уровень повреждений ДНК возрастает. Выявлена высокая положительная корреляция степени тяжести заболевания с долей комет с разрывами ДНК более 80% ( $r = 0,993$ ;  $p = 0,001$ ). Можно полагать, что при тяжёлой степени течения заболевания количество клеток с высоким уровнем повреждения ДНК, которые при анализе ДНК-комет регистрируют как атипичные кометы, увеличивается в ещё большей степени. В связи с этим может происходить массовая гибель клеток, гипертоспаление и, возможно, развитие цитокинового шторма.

Гипотезы возникновения атипичных ДНК-комет и возможные механизмы восстановления фрагментированной ДНК подробно рассмотрены в работе [33]. Авторы придерживаются точки зрения, что активация доменной топоизомеразы II, вносящей временные двухпочечные разрывы в ДНК в ответ на повреждения, может рассматриваться как один из возможных механизмов формирования атипичных ДНК-комет.

Литературные данные свидетельствуют, что у людей с инфекцией SARS-CoV-2 отмечена гиперэкспрессия интерлейкина-6, повышение уровней С-реактивного белка, наблюдаются провоспалительное и прооксидантное состояния [13, 16, 31]. У пациентов с тяжёлой формой пневмонии, вызванной COVID-19, усиливались процессы воспаления и окислительного стресса. Наблюдаемые эффекты сопровождались статистически значимым увеличением показателя % ДНКхв в зависимости от тяжести заболевания: лёгкая  $0,94 \pm 0,04\%$ , умеренная  $0,96 \pm 0,04\%$ , тяжёлая  $1,08 \pm 0,04\%$ . В случае тяжёлой степени заболевания у пациентов отмечено снижение содержания тиолов, что, по мнению авторов, может являться следствием окисления белков. При этом выявлена отрицательная корреляция между уровнем тиолов и дисульфидов и уровнем ДНК повреждений [34].

Повышенный уровень окислительного стресса может вызывать, в частности, однонитевые и двухнитевые разрывы ДНК, а также образование продуктов окисления азотистых оснований и сахаров в составе нуклеиновых кислот. Выявлена статистически значимая ассоциация между смертностью пациентов с COVID-19 и уровнем окислённых оснований гуанина ДНК и РНК [35].

Увеличение количества разрывов ДНК в клетках может быть связано как с усилением процессов эксцизионной репарации, так и с подавлением репарационных систем. В экспериментах с фибробластами человека показано, что коронавирусная инфекция индуцирует нарушение репликации ДНК и остановку клеточного цикла за счёт связывания неструктурного белка nsр13 с ДНК-полимеразой  $\delta$  [36], которая участвует в репарации ДНК. В экспериментах на клетках почек африканской зелёной маршанки (Vero E6) в ответ на инфицирование SARS-CoV-2 наблюдали усиление транскрипции генов протеинкиназ AT (Ataxia Telangiectasia mutated) и ATR (ATM- и Rad3-родственная киназа), участвующих в репарационных путях у высших организмов [37].

Ещё одной причиной, которая может приводить к увеличению количества разрывов в ДНК, может быть процесс генерации новых антител (V(D)J-рекомбинация) в ответ на вирус. При неудачной V(D)J-рекомбинации на обеих хромосомах лимфоцита он погибает посредством апоптоза [38].

Таким образом, в результате множественных механизмов действия вируса SARS-CoV-2 в клетках могут накапливаться повреждения ДНК, что приводит к нарушению функций клеток и запуску процессов их гибели (апоптоз, некроз). Лимфопения в периферической крови больных COVID-19 выявлена более чем в 80% случаев [15].

В настоящей работе не обнаружено значимых отличий в уровне фрагментации ДНК лимфоцитов у курящих и некурящих пациентов с COVID-19 ( $p = 0,097$ ). Взаимосвязь между курением и инвазивностью SARS-CoV-2, а также тяжестью заболевания достаточно сложная и противоречивая. Показано, что никотин ингибирует выработку провоспалительных цитокинов, защищая организм от синдрома цитокинового шторма; оксид азота, образующийся во время курения, ингибирует репликацию SARS-CoV-2 и его проникновение в клетки. В то же время показано, что курение усугубляет тяжесть заболевания и ухудшает его прогноз [22, 23].

Согласно данным, опубликованным в работе Thakkar N.V. [24], возраст пациента и продолжительность болезни не оказывали влияния на процессы апоптоза, тогда как в других исследованиях показано, что с возрастом уровень апоптоза снижался [23]. Пол доноров также может оказывать влияние на уровень апоптоза [25]. Однако в данном исследовании не выявлено статистически значимых отличий в уровне повреждений ДНК в зависимости от возраста ( $p = 0,704$  в контрольной группе и  $p = 0,628$  в группе пациентов с COVID-19) и пола ( $p = 0,249$  в контрольной группе и  $p = 0,164$  при COVID-19).

Результаты, полученные в настоящей работе, свидетельствующие об увеличении уровня разрывов ДНК у доноров с диагнозом COVID-19 и наличием в анамнезе ИБС и СД2, согласуются с данными литературы. Имеются сведения о том, что при таких патологиях, как ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет второго типа, ожирение и злокачественные новообразования, наблюдается повышенный уровень повреждений ДНК в лейкоцитах периферической крови [24].

С использованием метода ДНК-комет на лимфоцитах периферической крови человека нами показано, что инфицирование вирусом SARS-CoV-2 приводит к повышению уровня разрывов ДНК в иммунокомпетентных клетках, что особенно проявляется на фоне ИБС и СД2 в анамнезе пациентов. Следствием повреждения генетических структур может быть гибель этих клеток, лимфопения и нарушение иммунного ответа, что отягощает течение болезни. Поскольку в настоящее время актуальны разработка, валидация и внедрение в клиническую практику ранних предикторов развития цитокинового шторма [39], можно предположить, что одним из таких предикторов может быть уровень повреждений ДНК в клетках человека.

**Ограничением исследования** является отсутствие данных о нарушениях структуры ДНК при тяжёлой степени COVID-19.

## Заключение

Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о том, что инфицирование SARS-CoV-2 приводит к лабильности структуры ДНК в лимфоцитах периферической крови человека. Статистически значимо возрастает количество разрывов ДНК, регистрируемых методом ДНК-комет. При этом показано, что с повышением степени тяжести COVID-19 увеличивается доля клеток с высоким уровнем повреждений ДНК, что может приводить к инициации апоптоза и (или) некрозу иммунокомпетентных клеток, генерации провоспалительных цитокинов, гипервоспалению и цитокиновому шторму.

Сопутствующие хронические заболевания (ишемическая болезнь сердца и сахарный диабет второго типа) являются дополнительными факторами, повышающими уровень повреждений ДНК в лимфоцитах при COVID-19, что может быть одной из причин более тяжёлого течения болезни.

Результаты исследования важны для понимания механизмов действия вируса на иммунокомпетентные клетки человека и формирование иммунного ответа при инфицировании вирусом SARS-CoV-2.

## Литература

(п.п. 2–6, 8, 11–15, 17–25, 27–32, 34–38 см. References)

1. Дурнев А.Д., Жанатаев А.К. Актуальные аспекты генетической токсикологии лекарственных средств. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022; 12(1): 90–109. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-90-109> <https://elibrary.ru/lezoao>
7. Москалева Е.Ю., Илюшина Н.А., Тарасов В.Н., Чиквашвили Б.Ш., Лятегин В.П., Караулов А.В. Повреждения ДНК лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови при раке молочной железы. *Вестник Онкологического научного центра Российской академии медицинских наук*. 1994; 5(5): 57–8. <https://elibrary.ru/hebrly>
9. Гарафудинов Р.Р., Мавзютов А.Р., Никоноров Ю.М., Чубукова О.В., Матниязов Р.Т., Баймиев А.Х. и др. Бетакоронавирус SARS-CoV-2, его геном, разнообразие генотипов и молекулярно-биологические меры борьбы с ним. *Биомика*. 2020; 12(2): 242–71. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmc.2020-15> <https://elibrary.ru/dhderx>
10. Шелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Бургасова О.А., Кружкова И.С., Малеев В.В. COVID-19: этиология, клиника, лечение. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10(3): 421–45. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-CEC-1473> <https://elibrary.ru/imaadb>

## Original article

16. Болдырева М.Н. Вирус SARS-CoV-2 и другие эпидемические корона-вирусы: патогенетические и генетические факторы развития инфекций. *Иммунология*. 2020; 41(3): 197–205. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-197-205> <https://elibrary.ru/cpxjja>
26. Мейер А.В., Толочко Т.А., Минина В.И., Тимофеева А.А., Ларионов А.В. Комплексный подход к оценке генотоксичности производственных факторов угольных шахт. *Генетика*. 2020; 56(5): 584–91. <https://doi.org/10.31857/S0016675820050100> <https://elibrary.ru/jmqjtc>
33. Жанатаев А.К., Анисина Е.А., Чайка З.В., Мирошкина И.А., Дурнев А.Д. Феномен атипичных ДНК-комет. *Цитология*. 2017; 59(3): 163–8. <https://elibrary.ru/ykvwex>
39. Алексеева Е.И., Тепаев Р.Ф., Шилькрот И.Ю., Дворяковская Т.М., Сурков А.Г., Криулин И.А. COVID-19-ассоциированный вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (синдром «цитокинового шторма»). *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2021; 76(1): 51–66. <https://doi.org/10.15690/vramn1410> <https://elibrary.ru/nfdlwc>

## References

1. Durnev A.D., Zhanataev A.K. Relevant aspects of drug genetic toxicology. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv*. 2022; 12(1): 90–109. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-90-109> <https://elibrary.ru/lezoao> (in Russian)
2. Aguilera A., Gómez-González B. Genome instability: a mechanistic view of its causes and consequences. *Nat. Rev. Genet.* 2008; 9(3): 204–17. <https://doi.org/10.1038/nrg2268>
3. Yao Y., Dai W. Genomic instability and cancer. *J. Carcinog. Mutagen.* 2014; 5: 1000165. <https://doi.org/10.4172/2157-2518.1000165>
4. Niedernhofer L.J., Gurkar A.U., Wang Y., Vijg J., Hoeijmakers J.H.J., Robbins P.D. Nuclear Genomic Instability and Aging. *Annu. Rev. Biochem.* 2018; 87: 295–322. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062917-012239>
5. Palazzo R.P., Bagatini P.B., Schefer P.B., de Andrade F.M., Maluf S.W. Genomic instability in patients with type 2 diabetes mellitus on hemodialysis. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2012; 34(1): 31–5. <https://doi.org/10.5581/1516-8484.20120011>
6. Hou Y., Song H., Croteau D.L., Akbari M., Bohr V.A. Genome instability in Alzheimer disease. *Mech. Ageing. Dev.* 2017; 161(Pt. A): 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2016.04.005>
7. Moskaleva E.Yu., Ilyushina N.A., Tarasov V.N., Chikvashvili B.Sh., Letyagin V.P., Karaulov A.V. DNA damage in peripheral blood lymphocytes and neutrophils in breast cancer. *Vestnik Onkologicheskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 1994; 5(S): 57–8. <https://elibrary.ru/hebrly> (in Russian)
8. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. A review of human carcinogens. Part B: Biological Agents; 2012.
9. Garafutdinov R.R., Mavzyutov A.R., Nikonov Yu.M., Chubukova O.V., Matniyazov R.T., Baimiev A.Kh., et al. Betacoronavirus SARS-CoV-2, its genome, variety of genotypes and molecular-biological approaches to combat it. *Biomika*. 2020; 12(2): 242–71. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2020-15> <https://elibrary.ru/dhderx> (in Russian)
10. Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Burgasova O.A., Kruzhkova I.S., Maleev V.V. COVID-19: etiology, clinical picture, treatment. *Infektsiya i immunitet*. 2020; 10(3): 421–45. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-CEC-1473> <https://elibrary.ru/imaadb> (in Russian)
11. Fu L., Wang B., Yuan T., Chen X., Ao Y., Fitzpatrick T., et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: A systematic review and meta-analysis. *J. Infect.* 2020; 80(6): 656–65. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.041>
12. Pons S., Fodil S., Azoulay E., Zafraniet L. The vascular endothelium: the cornerstone of organ dysfunction in severe SARS-CoV-2 infection. *Crit. Care*. 2020; 24(1): 353. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03062-7>
13. Pánico P., Ostrosky-Wegman P., Salazar A.M. The potential role of COVID-19 in the induction of DNA damage. *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2022; 789: 108411. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2022.108411>
14. Saghazadeh A., Rezaei N. Immune-epidemiological parameters of the novel coronavirus – a perspective. *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2020; 16(5): 465–70. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2020.1759954>
15. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X., et al. China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(18): 1708–20. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>
16. Boldyreva M.N. SARS-CoV-2 virus and other epidemic coronaviruses: pathogenetic and genetic factors for the development of infections. *Immunologiya*. 2020; 41(3): 197–205. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-197-205> <https://elibrary.ru/cpxjja> (in Russian)
17. Gioia U., Tavella S., Martínez-Orellana P., Cicio G., Colliva A., Ceccon M., et al. SARS-CoV-2 infection induces DNA damage, through CHK1 degradation and impaired 53BP1 recruitment, and cellular senescence. *Nat. Cell Biol.* 2023; 25(4): 550–64. <https://doi.org/10.1038/s41556-023-01096-x>
18. Jiang H., Mei Y.F. SARS-CoV-2 spike impairs DNA damage repair and inhibits V(D)J recombination *in vitro*. *Viruses*. 2021; 13(10): 2056. <https://doi.org/10.3390/v13102056>
19. Wiczfłńska J., Kleniewska P., Pawliczak R. Oxidative stress-related mechanisms in SARS-CoV-2 infections. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2022; 2022: 5589089. <https://doi.org/10.1155/2022/5589089>
20. Basaran M.M., Hazar M., Aydin M., Uzuğ G., Özdoğan İ., Pala E., et al. Effects of COVID-19 disease on DNA damage, oxidative stress and immune responses. *Toxics*. 2023; 11(4): 386. <https://doi.org/10.3390/toxics11040386>
21. Mihaljevic O., Zivancevic-Simonovic S., Cupurdija V., Marinkovic M., Tubic Vukajlovic J., Markovic A., et al. DNA damage in peripheral blood lymphocytes of severely ill COVID-19 patients in relation to inflammatory markers and parameters of hemostasis. *Mutagenesis*. 2022; 37(3-4): 203–12. <https://doi.org/10.1093/mutage/geac011>
22. Salehi Z., Motlagh Ghoochani B., Hasani Nourian Y., Jamalkandi S.A., Ghanei M. The controversial effect of smoking and nicotine in SARS-CoV-2 infection. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2023; 19(1): 49. <https://doi.org/10.1186/s13223-023-00797-0>
23. Gupta I., Sohail M.U., Elzawawi K.E., Amarah A.H., Vranic S., Al-Asmakh M., et al. SARS-CoV-2 infection and smoking: What is the association? A brief review. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2021; 19: 1654–60. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.03.023>
24. Thakkar N.V., Jain S.M. A comparative study of DNA damage in patients suffering from diabetes and thyroid dysfunction and complications. *Clin. Pharmacol.* 2010; 2: 199–205. <https://doi.org/10.2147/CPAA.S11366>
25. Singh N.P., Muller C.H., Berger R.E. Effects of age on DNA double-strand breaks and apoptosis in human sperm. *Fertil. Steril.* 2003; 80(6): 1420–30. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.04.002>
26. Meier A.V., Tolochko T.A., Minina V.I., Timofeeva A.A., Larionov A.V. Complex approach to evaluating genotoxicity from occupational factors in coal mining industry. *Genetika*. 2020; 56(5): 584–91. <https://doi.org/10.1134/S1022795420050105> <https://elibrary.ru/ysdxuu> (in Russian)
27. Garaj-Vrhovac V., Gajski G. Evaluation of the cytogenetic status of human lymphocytes after exposure to a high concentration of bee venom *in vitro*. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 2009; 60(1): 27–34. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-60-2009-1896>
28. Pant K., Springer S., Bruce S., Lawlor T., Hewitt N., Aardema M.J. Vehicle and positive control values from the *in vivo* rodent comet assay and biomonitoring studies using human lymphocytes: historical database and influence of technical aspects. *Environ. Mol. Mutagen.* 2014; 55(8): 633–42. <https://doi.org/10.1002/em.21881>
29. Gopalakrishna P., Khar A. Comet assay to measure DNA damage in apoptotic cells. *J. Biochem. Biophys. Methods*. 1995; 30(1): 69–73. [https://doi.org/10.1016/0165-022x\(94\)00056-j](https://doi.org/10.1016/0165-022x(94)00056-j)
30. Cipollini M., He J., Rossi P., Baronti F., Micheli A., Rossi A.M., et al. Can individual repair kinetics of UVC-induced DNA damage in human lymphocytes be assessed through the comet assay? *Mutat. Res.* 2006; 601(1–2): 150–61. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.06.004>
31. Shabirish S., Mittra I. Cytokine storm as a cellular response to dsDNA breaks: a new proposal. *Front. Immunol.* 2021; 12: 622738. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.622738>
32. Wu L., O’Kane A.M., Peng H., Bi Y., Motriuk-Smith D., Ren J. SARS-CoV-2 and cardiovascular complications: From molecular mechanisms to pharmaceutical management. *Biochem. Pharmacol.* 2020; 178: 114114. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114114>
33. Zhanataev A.K., Anisina E.A., Chaika Z.V., Miroshkina I.A., Durnev A.D. The phenomenon of atypical DNA comets. *Tsitologiya*. 2017; 11(4): 286–92. <https://doi.org/10.1134/S1990519X17040113> <https://elibrary.ru/xnufer> (in Russian)
34. Tepebaşı M.Y., İlhan İ., Temel E.N., Sancer O., Öztürk Ö. Investigation of inflammation, oxidative stress, and DNA damage in COVID-19 patients. *Cell Stress Chaperones*. 2023; 28(2): 191–9. <https://doi.org/10.1007/s12192-023-01330-3>
35. Lorente L., Martín M.M., González-Rivero A.F., Pérez-Cejas A., Cáceres J.J., Perez A. et al. DNA and RNA oxidative damage and mortality of patients with COVID-19. *Am. J. Med. Sci.* 2021; 361(5): 585–90. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2021.02.012>
36. Xu L.H., Huang M., Fang S.G., Liu D.X. Coronavirus infection induces DNA replication stress partly through interaction of its nonstructural protein 13 with the p125 subunit of DNA polymerase  $\delta$ . *J. Biol. Chem.* 2011; 286(45): 39546–59. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.242206>
37. Victor J., Deutsch J., Whitaker A., Lamkin E.N., March A., Zhou P., et al. SARS-CoV-2 triggers DNA damage response in Vero E6 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021; 579: 141–5. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.09.024>
38. Fang W., Mueller D.L., Pennell C.A., Rivard J.J., Li Y.S., Hardy R.R., et al. Frequent aberrant immunoglobulin gene rearrangements in pro-B cells revealed by a bcl-xL transgene. *Immunity*. 1996; 4(3): 291–9. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80437-9](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80437-9)
39. Alekseeva E.I., Tepaev R.F., Shil’krot I.Yu., Dvoryakovskaya T.M., Surkov A.G., Kriulin I.A. COVID-19-associated secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis (cytokine storm syndrome). *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2021; 76(1): 51–66. <https://doi.org/10.15690/vramn1410> (in Russian)

**Информация об авторах:**

*Попова Анна Юрьевна*, доктор мед. наук, профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации, 127994, Москва, Россия

*Кузьмин Сергей Владимирович*, доктор мед. наук, профессор, директор ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Россия. E-mail: kuzmin.sv@fncg.ru

*Илюшина Наталия Алексеевна*, доктор биол. наук, зав. отд. генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Россия. E-mail: ilushina.na@fncg.ru

*Горенская Ольга Владимировна*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Россия. E-mail: gorenskaya.ov@fncg.ru

*Егорова Ольга Валерьевна*, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отд. генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Россия. E-mail: egorova.ov@fncg.ru

*Котнова Алина Петровна*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Россия. E-mail: kotnova.ap@fncg.ru

*Аверьянова Наталья Сергеевна*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Россия. E-mail: averyanova.ns@fncg.ru

*Игнатьев Семен Дмитриевич*, мл. науч. сотр. отд. генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Россия. E-mail: ignatjev.sd@fncg.ru

*Кузнецова Наталья Евгеньевна*, зав. ЦКДЛ, врач клинической лабораторной диагностики ГБУЗ МО «Егорьевская больница», 140300, Егорьевск, Россия. E-mail: KuznetsovaNaE@mosreg.ru

*Кобелевская Наталия Викторовна*, канд. мед. наук, доцент, зам. главного врача по медицинской части ГБУЗ МО «Сергиево-Посадская больница», 141301, Сергиев Посад, Россия. E-mail: kobelevskaya.nat@mail.ru

**Information about the authors:**

*Anna Yu. Popova*, MD, Ph.D., DSci., Professor, Head of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-being, Chef State Sanitary Physician of the Russian Federation, 127994, Moscow, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-4315-5307>

*Sergey V. Kuzmin*, MD, Ph.D., DSci., Professor, Director of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-0209-9732> E-mail: kuzmin.sv@fncg.ru

*Natalia A. Ilushina*, MD, Ph.D., DSci., Head of the Dept. of Genetic Toxicology of the Institute of Hygiene, Toxicology of Pesticides and Chemical Safety of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-9122-9465> E-mail: ilushina.na@fncg.ru

*Olga V. Gorenskaya*, MD, Ph.D., Docent, of the Dept. of Genetic Toxicology of the Institute of Hygiene, Toxicology of Pesticides and Chemical Safety of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-0028-2522> E-mail: gorenskaya.ov@fncg.ru

*Olga V. Egorova*, MD, Ph.D., Leading Researcher of the Dept. of Genetic Toxicology of the Institute of Hygiene, Toxicology of Pesticides and Chemical Safety of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-4748-8771> E-mail: egorova.ov@fncg.ru

*Alina P. Kotnova*, MD, Ph.D., Researcher of the Dept. of Genetic Toxicology of the Institute of Hygiene, Toxicology of Pesticides and Chemical Safety of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-4333-9288> E-mail: kotnova.ap@fncg.ru

*Nataliya S. Averianova*, MD, Ph.D., Senior Researcher of the Dept. of Genetic Toxicology of the Institute of Hygiene, Toxicology of Pesticides and Chemical Safety of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-2973-8776> E-mail: averyanova.ns@fncg.ru

*Semen D. Ignatyev*, Junior Researcher of the Dept. of Genetic Toxicology of the Institute of Hygiene, Toxicology of Pesticides and Chemical Safety of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7415-5513> E-mail: ignatjev.sd@fncg.ru

*Nataliya E. Kuznetsova*, Head of the Central Clinical Laboratory Diagnostics of the Yegoryevskaya Central District Hospital, Yegoryevsk, 140301, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0000-8687-6334> E-mail: KuznetsovaNaE@mosreg.ru

*Nataliya V. Kobelevskaya*, MD, Ph.D., Docent, Deputy Head Physician for the medical unit of the Sergiev Posad Hospital, 141301, Sergiev Posad, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-5845-7316> E-mail: kobelevskaya.nat@mail.ru