

Danno al DNA nei fumatori con Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva

Francesca Milani, Stefania Proietti, Stefano Bonassi, Patrizia Russo

Riassunto

Introduzione: La Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) è una patologia respiratoria complessa con importanti implicazioni sanitarie, spesso associata al fumo di sigaretta ma coinvolgente anche fattori non tabagici. Questo studio si è focalizzato sull'analisi del danno al DNA come possibile meccanismo di danno polmonare.

Materiali e metodi: In uno studio condotto su 80 pazienti anziani con BPCO, abbiamo suddiviso i partecipanti in tre gruppi in base alle loro abitudini tabagiche: fumatori attuali, ex fumatori e non fumatori. Abbiamo utilizzato il comet assay per quantificare il danno al DNA. Inoltre, abbiamo analizzato se la terapia con ossigeno potesse influenzare il livello di danno al DNA nei pazienti.

Risultati: I pazienti fumatori attuali hanno mostrato livelli significativamente superiori di danno al DNA rispetto agli ex fumatori e ai non fumatori, confermando il ruolo del fumo di sigaretta in tale danno. Inoltre, gli ex fumatori hanno presentato danni al DNA persistenti nonostante abbiano

DNA damage in smokers with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

Francesca Milani, Stefania Proietti, Stefano Bonassi, Patrizia Russo

Abstract

Introduction: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is a complex respiratory condition with significant health implications, often associated with cigarette smoking but also involving non-smoking factors. This study focused on the analysis of DNA damage as a potential mechanism of lung injury.

Materials and methods: In a study involving 80 elderly COPD patients, participants were categorized into three groups based on their smoking habits: current smokers, former smokers, and non-smokers. The comet assay was used to quantify DNA damage. Additionally, we investigated whether oxygen therapy could influence the level of DNA damage in the patients.

Results: Current smoking patients exhibited significantly higher levels of DNA damage compared to former smokers and non-smokers, confirming the role of cigarette smoking in such damage.

smesso di fumare. Sorprendentemente, la terapia con ossigeno non ha avuto alcun effetto significativo sul danno al DNA nei pazienti con BPCO.

Conclusioni: Questo studio conferma l'importante associazione tra il fumo di sigaretta e il danno al DNA nei pazienti con BPCO. Il danno al DNA sembra persistere negli ex fumatori, sottolineando la necessità di una comprensione più approfondita dei meccanismi coinvolti. Questi risultati evidenziano l'importanza di ulteriori ricerche per affrontare questa problematica e le implicazioni per la salute umana.

Parole chiave: Fumo di sigaretta, BPCO, danno al DNA, comet assay, stress ossidativo.

Introduzione

La Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) è un significativo contributore alla mortalità e alla disabilità globale. Si tratta di una condizione complessa caratterizzata da un'ostruzione delle vie aeree persistente con sintomi respiratori. Le principali cause della BPCO coinvolgono l'esposizione a particolato inalato, tra cui il fumo di sigaretta e gli inquinanti atmosferici, insieme a fattori genetici, di sviluppo e sociali [1]. La condizione è spesso associata al fumo di tabac-

co, ma si stima che il 25-45% dei pazienti con BPCO non abbia mai fumato e possa sviluppare comunque la BPCO, possibilmente a causa del fumo passivo, dell'esposizione occupazionale, degli inquinanti atmosferici e di una storia di infezioni polmonari passate, tra cui la tubercolosi [2]. Inoltre, la BPCO è collegata a un aumento dello stress ossidativo nelle vie aeree inferiori, che può causare danno al DNA e la carcinogenesi polmonare [3]. Una recente revisione [4] che ha riassunto l'entità del danno al DNA in malattie ad alta prevalenza

mostra quanto segue: le scoperte complessive di questi studi indicano una maggiore frequenza di rotture delle catene di DNA nei pazienti con BPCO rispetto ai gruppi di controllo. Un'analisi metanalitica ha riportato livelli significativamente elevati di rotture delle catene di DNA nel gruppo di pazienti con BPCO (SMD = 1,29, IC al 95%: 0,69-1,90). Dopo aver considerato il fumo attuale e altri potenziali fattori di confondimento, il rapporto di probabilità per livelli elevati di rotture delle catene di DNA in relazione all'aumento della gravità

Moreover, former smokers displayed persistent DNA damage despite having quit smoking. Surprisingly, oxygen therapy had no significant impact on DNA damage in COPD patients.

Conclusion: This study confirms the significant association between cigarette smoking and DNA damage in COPD patients. DNA damage appears to persist in former smokers, highlighting the need for a deeper understanding of the involved mechanisms. These findings underscore the importance of further research to address this issue and its implications for human health.

Key words: COPD, DNA damage, cigarette smoking, comet assay, oxidative stress.

Introduction

Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is a significant contributor to global mortality and disability. It is a complex condition characterized by persistent airway obstruction and respiratory symptoms. The primary causes of COPD involve exposure to inhaled particulate matter, including cigarette smoke and air pollutants, along with genetic, developmental, and social factors [1]. While the condition is often associated with tobacco smoking, it is esti-

mated that 25-45% of COPD patients have never smoked and can still develop COPD, possibly due to passive smoking, occupational exposure, air pollution, and a history of past lung infections, including tuberculosis [2]. Additionally, COPD is linked to increased oxidative stress in the lower airways, which can cause DNA damage and lung carcinogenesis [3]. A recent review [4] summarizing the extent of DNA damage in prevalent diseases reveals the following: The overall findings of these studies indicate a higher frequency of DNA

strand breaks in COPD patients compared to control groups. A meta-analytic analysis reported significantly elevated levels of DNA strand breaks in the group of COPD patients (SMD = 1.29, 95% CI: 0.69, 1.90). After accounting for current smoking and other potential confounding factors, the odds ratio for high levels of DNA strand breaks in relation to increasing COPD severity was reduced. However, the effect in the adjusted analyses was relatively modest (e.g., the odds ratio was 1.008 for the increase in % DNA in the tail

della BPCO è stato ridotto. Tuttavia, l'effetto nelle analisi corrette era relativamente modesto (per esempio, il rapporto di probabilità era di 1,008 per l'aumento del % DNA nella coda per incremento nel gruppo di gravità della BPCO). Il danno al DNA scatena diverse risposte cellulari, consentendo alle cellule di riparare o adattarsi al danno o di attivare la morte cellulare programmata, eliminando infine le cellule con mutazioni potenzialmente dannose [5]. Sebbene il fumo di tabacco sia una fonte ben documentata di composti potenzialmente mutageni e cancerogeni, e i fumatori siano considerati un gruppo di studio idoneo con esposizione mutagena rilevante, i risultati relativi al danno al DNA valutato con il comet assay nei fumatori presentano esiti contrastanti [6-8]. La situazione potrebbe essere diversa quando si valuta il danno al

DNA nei pazienti affetti da BPCO, suddivisi tra fumatori e non fumatori. Numerosi studi hanno dimostrato un aumento del carico ossidativo nei pazienti affetti da BPCO, compresi sia i fumatori attuali che quelli passati, rispetto ai controlli sani [10]. Pertanto, abbiamo valutato il danno al DNA utilizzando il comet assay in diversi pazienti con BPCO, suddivisi in fumatori attuali, fumatori passati e non fumatori.

Materiali e metodi

È stato condotto uno studio osservazionale di coorte su 87 pazienti con età pari o superiore a 70 anni affetti da BPCO grave e ricoverati presso l'Unità di Riabilitazione Polmonare (PR) dell'IRCCS San Raffaele di Roma tra gennaio 2013 e dicembre 2015 per un programma completo di riabilitazione polmonare della durata di 3 settimane. Sono stati raccolti campioni

di sangue periferico al momento del ricovero e dopo le 3 settimane di riabilitazione, che sono stati conservati a -80°C . Dettagli aggiuntivi sulla popolazione dello studio sono riportati in Russo e coll. [9].

Lo studio ha ricevuto l'approvazione del comitato etico dell'IRCCS San Raffaele di Roma (Prot. 15/2013) e tutti i partecipanti hanno firmato il consenso informato al momento dell'ammissione.

I pazienti sono stati suddivisi in tre gruppi sulla base della loro storia di fumo, seguendo le definizioni del National Center for Health Statistics (NHIS - Adult Tobacco Use - Glossary, 2019):

- fumatori attuali, adulti che hanno fumato almeno 100 sigarette nella loro vita e che fumano attualmente;
- ex fumatori, adulti che hanno fumato almeno 100 sigarette

per increment in COPD severity group). DNA damage triggers various cellular responses, allowing cells to repair or adapt to the damage or activate programmed cell death, ultimately eliminating cells with potentially harmful mutations [5]. While tobacco smoking is a well-documented source of potentially mutagenic and carcinogenic compounds, and smokers are considered a relevant study group with significant mutagenic exposure, results regarding DNA damage assessed by the comet assay in smokers present conflicting outcomes [6-8]. The situation may be different when evaluating DNA damage in patients with COPD, divided into smokers and non-smokers. Numerous studies have demonstrated an increase in oxidative stress in COPD patients, including both current and former smokers, compared to healthy controls [9]. Therefore, we evaluat-

ed DNA damage using the comet assay in various COPD patients, categorized as current smokers, former smokers, and non-smokers.

Materials and methods

An observational cohort study was carried out in 87 patients aged 70 years or older suffering from severe COPD and admitted to the Pulmonary Rehabilitation (PR) Unit of the IRCCS San Raffaele Roma between January 2013 and December 2015 for a comprehensive 3-weeks PR program. Peripheral blood samples were collected and stored at -80°C at admission and after 3 weeks of PR. Additional detail of the study population can be found in Russo et al. [10]. The study was approved by the ethics committee of the IRCCS San Raffaele Roma (Prot. 15/2013), and all participants signed the consent to participate in the study at admission. All patients were stratified into three groups

according to their smoking history, i.e., according to National center for health statistics (NHIS - Adult Tobacco Use - Glossary, 2019), current smoker: an adult who has smoked 100 cigarettes in his or her lifetime and who currently smokes cigarettes; former smoker: an adult who has smoked at least 100 cigarettes in his or her lifetime but who had quit smoking at the time of interview; and never-smoker: an adult who has never smoked, or who has smoked less than 100 cigarettes in his or her lifetime. These categories were confirmed after measuring the presence of cotinine in the urine samples. Consequently, we assigned subjects based on the positivity of the test rather than solely relying on their self-declarations. Urine specimens were taken at the admission into plastic containers that were subsequently frozen at -20°C . In the urine samples, levels of cotinine were analyzed

nella loro vita ma che avevano smesso di fumare al momento dell'intervista;

- non fumatori, adulti che non hanno mai fumato o che hanno fumato meno di 100 sigarette nella loro vita.

Queste categorie sono state confermate mediante la misurazione dei livelli di cotinina nei campioni di urina, invece di affidarsi esclusivamente alle dichiarazioni dei pazienti. I campioni di urina sono stati raccolti al momento del ricovero in contenitori di plastica e successivamente congelati a -20°C . I livelli di cotinina nelle urine sono stati analizzati utilizzando il kit per il test rapido della cotinina della Sure Screen (Eazzi, Edimburgo, UK), certificato ISO 9001 e ISO 13485, e conforme alla direttiva CE 98/79/EC. La procedura dettagliata del comet assay è stata descritta nel nostro studio precedente

te [10]. Seguendo le nuove linee guida che specificano i requisiti minimi per la reportistica delle procedure del comet assay e i recenti sviluppi tecnici [11], è stato valutato il danno al DNA nei linfociti. Questo processo ha incluso la lisazione dei linfociti, la denaturazione del DNA, l'elettroforesi su gel di agarosio e la colorazione.

L'analisi è stata condotta utilizzando il software Comet Assay IV versione 4 (Instem, Londra, UK). I valori di intensità della coda (*tail intensity*, TI, % del DNA nella coda della cometa) sono stati calcolati analizzando 100 comete per ciascun individuo.

Risultati

Sono stati arruolati un totale di 80 pazienti anziani, con un'età media di $71,6 \pm 8,7$ anni (SD) dei quali 45 donne e 35 uomini, dopo aver fornito il consenso informato. I pa-

zienti presentavano diversi stadi della BPCO al momento dell'ospedalizzazione.

I pazienti sono stati raggruppati in base alle abitudini tabagiche in fumatori attuali (15 pazienti), ex fumatori (55 pazienti) e non fumatori (10 pazienti). Inoltre, gli ex fumatori avevano smesso di fumare da almeno un anno e potevano potenzialmente conservare rischi residui legati alle loro precedenti abitudini tabagiche.

Il danno al DNA è stato quantificato in termini di *tail intensity* (%). La Tabella 1 mostra che la *tail intensity* ($19,92 \pm 7,57$) era aumentata in tutti i pazienti con BPCO.

La BPCO è una malattia infiammatoria e per questo motivo i non fumatori mostrano livelli elevati di danno al DNA (*tail intensity* $14,43 \pm 4,11$). Gli ex fumatori hanno danno al DNA leggermente superiore ($19,75 \pm 7,76$) rispetto ai non

using Instant Cotinine Testing Kit by Sure Screen (Eazzi, Edinburgh, UK), certified to ISO 9001 and ISO 13485, and this drug test cassette was CE Marked in accordance with 98/79/EC. The complete detailed procedure for the assay can be found in our previous work [10]. In summary, following new guidelines for minimal required detailed information on reporting comet assay procedures and new technical information [11], damage of DNA from lymphocytes was evaluated after lymphocytes lysis, DNA denaturation, electrophoresis on agarose gel, and staining, using the Comet assay IV software version 4 (Instem, London, UK). Tail intensity values (TI, % DNA in comet tail) were calculated from 100 comets counted for each individual.

Results

A total of 80 elderly patients were enrolled, with an average age of

71.6 ± 8.7 years (SD), including 45 females and 35 males, after providing informed consent. These patients presented with various stages of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) at the time of hospitalization.

The patients were grouped according to their smoking habits into current smokers (15 patients), former smokers (55 patients), and non-smokers (10 patients). Notably, the former smokers had quit smoking at least one year prior, potentially retaining residual risks associated with their previous smoking habits.

DNA damage was quantified in terms of Tail Intensity (%). Table 1 shows that the tail intensity (19.92 ± 7.57) was increased in all COPD patients. As previously reported by Bonassi et al. in 2021, individuals without underlying medical conditions exhibited a tail intensity (%) of 7.4 ± 8.8 . Interestingly, this

value increased to 10.5 ± 11.2 for individuals over the age of 60 in a sample of 1,329 subjects. COPD is an inflammatory disease, which is why non-smokers show elevated levels of DNA damage (tail intensity 14.43 ± 4.11). Former smokers have slightly higher DNA damage (19.75 ± 7.76) compared to non-smokers. However, current smokers have significantly higher DNA damage (24.19 ± 6.22).

Additionally, since the patients were receiving oxygen therapy, we conducted an analysis to assess whether oxygen had an impact on DNA, and we found that there was no significant difference (Table 1). Therefore, the observed DNA damage is not associated with oxygen but rather with smoking.

Conclusions

Patients with COPD exhibit significantly higher tail intensity values compared to healthy subjects. As

Variabile	Totale (N = 80)	Fumatori attuali (N = 15)	Ex fumatori (N = 55)	Non fumatori (N = 10)	p-value
<i>Tail intensity</i> T0: ammissione	19,92 ± 7,57	24,19 ± 6,22	19,75 ± 7,76	14,43 ± 4,11	0,005
Supplementazione di ossigeno N (%) SÌ NO	26 (32,5) 54 (67,5)	4 (26,7) 11 (73,3)	21 (38,2) 34 (61,8)	1 (10) 9 (90)	NS NS
<i>Tail intensity</i> con supplementazione di ossigeno T0: ammissione	22,30 ± 8,37	23,10 ± 10,33	22,51 ± 8,27	14,72 ± 0,0	NS

Tabella 1 Danno al DNA e supplementazione di ossigeno.

fumatori. Tuttavia, i fumatori attuali hanno danno al DNA significativamente superiore ($24,19 \pm 6,22$). Inoltre, dato che i pazienti stavano ricevendo terapia con ossigeno, abbiamo condotto un’analisi per valutare se l’ossigeno avesse un impatto sul DNA e abbiamo scoperto che non c’era una differenza significativa (Tabella 1). Pertanto, il danno al DNA che osserviamo

non è associato all’ossigeno ma all’essere fumatori.

Conclusioni

I pazienti con BPCO presentano valori di *tail intensity* significativamente più elevati rispetto ai soggetti sani. Come riportato da Bonassi e coll. nel 2021 [11], nei soggetti sani il valore medio di *tail intensity* (%) era pari a $7,4 \pm 8,8$. È

interessante notare che questo valore aumentava a $10,5 \pm 11,2$ nei soggetti di età superiore ai 60 anni, in un campione di 1.329 individui. Nei pazienti con BPCO, il danno al DNA potrebbe essere un fattore chiave nelle complicazioni associate a questa malattia respiratoria, specialmente nei fumatori. Abbiamo esaminato i livelli di danno al DNA in pazienti anziani con

Variable	Total (N = 80)	Smoker (N = 15)	Former smoker (N = 55)	Never smoker (N = 10)	p-value
<i>Tail intensity</i> T0: admission	19.92 ± 7.57	24.19 ± 6.22	19.75 ± 7.76	14.43 ± 4.11	0.005
Oxygen supplementation N (%) YES NO	26 (32.5) 54 (67.5)	4 (26.7) 11 (73.3)	21 (38.2) 34 (61.8)	1 (10) 9 (90)	NS NS
<i>Tail intensity</i> with oxygen supplementation T0: admission	22.30 ± 8.37	23.10 ± 10.33	22.51 ± 8.27	14.72 ± 0.0	NS

Table 1 DNA damage and oxygen supplementation.

reported by Bonassi et al. in 2021 [11], the average tail intensity (%) in healthy subjects was 7.4 ± 8.8 . Interestingly, this value increased to 10.5 ± 11.2 in individuals over the age of 60, based on a sample of 1,329 subjects. In patients with COPD, DNA damage may be a key factor in the complications associated with this respiratory disease, especially in smokers. We examined DNA damage levels in elderly

patients with COPD, dividing them into groups of current smokers, former smokers, and non-smokers. Our results revealed a significant difference in DNA damage levels among these groups, confirming the relationship between cigarette smoking and DNA damage, as current smokers exhibited significantly higher DNA damage levels compared to former smokers and non-smokers. This suggests

that exposure to cigarette smoke represents a significant risk factor for DNA damage in patients with COPD. Furthermore, we observed that even former smokers, who had quit smoking for at least a year, had higher levels of DNA damage compared to non-smokers. This suggests that DNA damage caused by cigarette smoking can persist over time even after quitting. We also examined the

BPCO, suddividendoli in gruppi di fumatori attuali, ex fumatori e non fumatori. I nostri risultati hanno rivelato una differenza significativa nei livelli di danno al DNA tra questi gruppi. Abbiamo confermato la relazione tra fumo di sigaretta e danno al DNA, poiché i fumatori attuali hanno mostrato livelli significativamente più elevati di danno al DNA rispetto agli ex fumatori e ai non fumatori. Ciò suggerisce che l'esposizione al fumo di sigaretta rappresenti un significativo fattore di rischio nei pazienti con BPCO.

Inoltre, abbiamo osservato che anche gli ex fumatori, che avevano smesso di fumare da almeno un anno, avevano livelli più elevati di danno al DNA rispetto ai non fumatori. Questo suggerisce che il danno al DNA causato dal fumo di sigaretta possa persistere nel tempo anche dopo aver smesso di fumare.

Abbiamo anche esaminato l'effetto della terapia con ossigeno, considerando che potrebbe causare danno al DNA. Tuttavia, i nostri risultati hanno indicato che non c'era una differenza significativa nel danno al DNA tra i pazienti sottoposti a terapia con ossige-

no e quelli che non lo erano. Questo suggerisce che il danno al DNA osservato non è associato alla terapia con ossigeno.

La ricerca in corso è cruciale per acquisire una comprensione completa degli intricati effetti biologici del fumo di sigaretta e del suo potenziale coinvolgimento nel danno al DNA. Ulteriori indagini sono necessarie per comprendere appieno i meccanismi e le conseguenze delle azioni del fumo sulla salute umana. Tuttavia, è importante sottolineare che le abitudini di fumo sono altamente pericolose per gli individui e la salute pubblica. Gli effetti dannosi del fumo sono le conseguenze negative sulla salute associate al fumo, tra cui malattie polmonari, malattie cardiache, tumore e molte altre condizioni di salute. Questi effetti dannosi rappresentano una significativa minaccia per la salute pubblica.

L'attuazione e l'applicazione di politiche efficaci per la salute pubblica sono essenziali per affrontare gli effetti dannosi del fumo. Ciò può includere l'adozione di leggi o normative, la creazione di programmi di prevenzione e cessazione del fumo o l'attuazione di campagne di sensibilizzazione. L'aspetto dell'ap-

plicazione implica l'attuazione rigorosa di queste politiche e misure per garantire che le leggi e le regole legate al fumo siano rispettate e che vi siano conseguenze per coloro che le violano.

Inoltre, fornire supporto e risorse accessibili per coloro che desiderano smettere di fumare è fondamentale per migliorare gli esiti della salute pubblica.

Francesca Milani

Stefania Proietti

Stefano Bonassi

Patrizia Russo

Dipartimento di Scienze Umane e Promozione della Qualità della Vita, Università San Raffaele, Roma; IRCCS San Raffaele, Roma

✉ francescamilani2710@gmail.com

► *Conflitto di interessi: Gli autori dichiarano nessun conflitto di interessi*

► *Finanziamento: Questa ricerca non ha ottenuto fondi esterni.*

Bibliografia

1. Christenson SA, Smith BM, Bafadhel M, Putcha N. Chronic obstructive pulmonary disease. Lancet 2022;399: 2227-42. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00470-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00470-6)

effect of oxygen therapy, considering that it might cause DNA damage, but our results indicated no significant difference in DNA damage between patients receiving oxygen therapy and those who were not. This suggests that the DNA damage we observed is not associated with oxygen. Ongoing research is crucial to gain a comprehensive understanding of the intricate biological effects of cigarette smoking and its potential involvement in DNA damage. Further investigations are needed to fully comprehend the mechanisms and consequences of smoking's actions on human health. How-

ever, it is essential to emphasize that smoking habits are highly hazardous to individuals and public health. The detrimental effects of smoking are negative health outcomes associated with smoking, including lung diseases, heart diseases, cancer, and many other health conditions. These harmful effects pose a significant public health threat. The implementation and enforcement of effective public health policies are essential in addressing the harmful effects of smoking. This can include the adoption of laws or regulations, the creation of smoking prevention and cessation programs, or

the implementation of awareness campaigns. The enforcement aspect involves the rigorous implementation of these policies and measures to ensure that smoking-related laws and rules are adhered to and that there are consequences for those who violate them. Furthermore, providing accessible support and resources for those who wish to quit smoking is fundamental to improving public health outcomes.

► *Conflict of Interest: The authors declare no conflicts of interest*

► *This research did not receive external funding.*

2. Salvi SS, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet* 2009;374:733-43. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61303-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61303-9)
3. Psarras S, Caramori G, Contoli M, Papadopoulos N, Papi A. Oxidants in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Curr Pharm Des* 2005;11:2053-62. <https://doi.org/10.2174/1381612054065774>
4. Møller P, Stopper H, Collins AR. Measurement of DNA damage with the comet assay in high-prevalence diseases: current status and future directions. *Mutagenesis* 2020;35:5-18. <https://doi.org/10.1093/mutage/gez018>
5. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Ünsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem* 2004;73:39-85. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.073723>
6. Hoffmann H, Isner C, Högel J, Speit G. Genetic polymorphisms and the effect of cigarette smoking in the comet assay. *Mutagenesis* 2005;20:359-64. <https://doi.org/10.1093/mutage/gei049>
7. Speit G, Witton-Davies T, Heepchantree W, Trenz K, Hoffmann H. Investigations on the effect of cigarette smoking in the comet assay. *Mutat Res* 2003;542:33-42. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2003.08.002>
8. Chandirasekar R, Lakshman Kumar B, Sasikala K, Jayakumar R, Suresh K, Venkatesan R, et al. Assessment of genotoxic and molecular mechanisms of cancer risk in smoking and smokeless tobacco users. *Mutat Res* 2014;767:21-7. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.04.007>
9. Russo P, Lamonaca P, Milic M, Rojas E, Prinzi G, Cardaci V, et al. Biomarkers of DNA damage in COPD patients undergoing pulmonary rehabilitation: integrating clinical parameters with genomic profiling. *Mutat Res* 2019;843:111-7. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.04.003>
10. Milić M, Ceppi M, Bruzzzone M, Azqueta A, Brunborg G, Godschalk R, et al. The hCOMET Project: international database comparison of results with the comet assay in human biomonitoring. baseline frequency of DNA damage and effect of main confounders. *Mutat Res Rev Mutat Res* 2021;787:108371. <https://doi.org/10.1016/j.mrev.2021.108371>
11. Bonassi S, Ceppi M, Møller P, Azqueta A, Milić M, Neri M, et al.; hCOMET Project. DNA damage in circulating leukocytes measured with the comet assay may predict the risk of death. *Sci Rep* 2021;11:16793. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95976-7>

HOW TO CITE

Milani F, Proietti S, Bonassi S, Russo P. DNA damage in smokers with COPD. *Tabaccologia* 2024; XXII(3):13-19. <https://doi.org/10.53127/tblg-2024-A014>



OPEN ACCESS

L'articolo è open access e divulgato sulla base della licenza CCBY-NC-ND (Creative Commons Attribuzione - Non commerciale - Non opere derivate 4.0 Internazionale). L'articolo può essere usato indicando la menzione di paternità adeguata e la licenza; solo a scopi non commerciali; solo in originale. Per ulteriori informazioni: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.it>

IPSE DIXIT

“La sigaretta è uno strumento di morte verso cui la neutralità non è possibile.”

ORGANIZZAZIONE MONDIALE DELLA SANITÀ