

УДК 577.113

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК В КРОВОТОКЕ ЧЕЛОВЕКА. I. ПРОИСХОЖДЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

Н.О. Туаева, З.И. Абрамова

Аннотация

О факте существования внеклеточных нуклеиновых кислот в кровотоке человека известно довольно давно. Однако относительно их происхождения и функций в литературе нет единого мнения. В данном обзоре приводятся разные версии появления ДНК в плазме крови. Рассматривается возможность активной экскреции ДНК клетками иммунной системы, апоптотическое происхождение внеклеточной ДНК и некоторые другие мнения, описанные в литературе.

*Светлой памяти
научного руководителя,
профессора
Виктора Георгиевича Винтера
посвящается*

Около 60 лет назад Mandel и Metais обнаружили внеклеточную ДНК (вкДНК) в плазме крови человека [1]. После этой ранней работы вопрос о плазменной и сывороточной ДНК был забыт почти на 20 лет. Только после того, как в 1996 г. [2] нуклеиновые кислоты были обнаружены в сыворотке крови пациентов с системной красной волчанкой (СКВ), интерес к вкДНК стал нарастать год от года.

В настоящее время практическая значимость вкДНК плазмы крови как прогностического и диагностического критерия является доказанной для онкологических, неврологических, аутоиммунных заболеваний, для выявления генетически детерминированных патологий плода и для мониторинга беременности у женщин группы риска по преэклампсии. Возможность использования вкДНК в медицине обусловлена тем, что указанные выше патологии в большинстве случаев сопровождаются изменением концентрации вкДНК в плазме и сыворотке крови, изменением размеров ДНК-фрагментов или наличием различных мутаций. Однако вопрос о происхождении вкДНК и ее функциях остается открытым.

1. Активная экскреция экстрахромосомной ДНК лимфоцитами

Происхождение вкДНК является одним из важнейших аспектов в изучении внеклеточных нуклеиновых кислот, так как непосредственно определяет их

свойства, а следовательно, и биологические эффекты. Происхождение вкДНК в кровотоке человека нельзя считать до конца выясненным. По данным литературы, некоторые процессы, протекающие в организме, способны приводить к появлению вкДНК в плазме крови. Один из них – активный процесс экскреции внехромосомных ДНК лимфоцитами. Гипотеза активной экскреции основана на ряде экспериментальных материалов, полученных при работе с лимфоцитами и некоторыми другими клетками *in vitro*, и свидетельствует о наличии механизмов синтеза ДНК в ядрах клеток и активной экскреции ее во внеклеточную среду. Одними из первых, кто наблюдал процесс выделения ДНК из лимфоцитов во внеклеточную среду, была группа исследователей под руководством Rogers [3]. Установлено, что подавляющее большинство (99.9%) лимфоцитов, циркулирующих в периферической крови человека и животных, находится в состоянии интерфазы и характеризуется очень низким уровнем «спонтанного» синтеза ДНК. Авторы культивировали лимфоциты на среде, содержащей [³H]-тимидин, в присутствии таких фитомитогенов, как фитогемагглютинин (ФГА) или конканавалин-А (кон-А), а также в присутствии антигенов эпидемического паротита. Уже на третьи сутки 70–90% клеток претерпевали бласт-трансформацию и синтезировали ДНК, включая в ее состав [³H]-тимидин. Когда лимфоциты тщательно отмыли от несвязавшегося тимидина и вновь прокультивировали на свежей среде в течение 3 дней, оказалось, что клетки потеряли от 35 до 90% вновь синтезированной [³H]-ДНК. Одновременно в культуральной среде появлялась меченая [³H]-ДНК, количество которой постепенно нарастало. В то время как 80–95% клеток оставались жизнеспособными, количество внеклеточной [³H]-ДНК в случае с кон-А и антигеном превышало даже тот уровень, который мог бы образоваться при гибели всех клеток культуры. Экскретируемая ДНК при этом находилась в комплексе с белками и липидами. Аналогичный процесс происходил и без стимуляции, только количество ДНК как в культуральной среде, так и в самих лимфоцитах было в 4–6 раз меньше.

Работавшая независимо группа под руководством Anker [4] почти в то же самое время доказала возможность выхода ДНК из лимфоцитов без стимулирующих агентов. При этом концентрация экскретированной во внешнюю среду ДНК является, по-видимому, постоянной величиной. Эксперимент проходил по следующей схеме: после культивирования лимфоциты отделяли от среды инкубации и отмывали, а в среде определяли количество выделившейся ДНК. Если затем отмытые лимфоциты повторно помещали в ту же среду, то они ДНК не выделяли. Но если лимфоциты помещали в свежую инкубационную среду, то экскреция ДНК возобновлялась. Результаты двух восьмичасовых экспериментов показали, что при непрерывном культивировании в течение этого срока количество экскретируемой ДНК достигало 22 мкг в 200 мл среды. Если то же самое количество клеток инкубировалось с заменой инкубационной среды через каждые 2 часа, то суммарное количество ДНК, выделенное за те же 8 часов, составляло уже 87 мкг (в суммарных 800 мл среды). То есть в последнем случае имела место более интенсивная экскреция ДНК. Молекулярная масса экскретируемой ДНК находилась в пределах $3.5 \cdot 10^5 - 3.7 \cdot 10^6$ Да.

В 1990 г. Н.А. Федоров и И.С. Янева [5] подтвердили возможность синтеза и экскреции ДНК лимфоцитами без фитомитогенов, хотя и отметили незначительную интенсивность этих процессов.

Имеются данные, доказывающие, что не только лимфоциты, но и фибробласты способны экскретировать ДНК [6].

Пытаясь ответить на вопрос, что является клеточным предшественником вкДНК, группа Rogers [7] выделяла ДНК из лимфоцитов, активированных ФГА. Эксперименты показали, что эта ДНК была представлена высокомолекулярной хромосомной и экстрахромосомной фракциями. С помощью [³H]-тимидина было показано, что вновь синтезированная ДНК медленно перемещается из хромосомной фракции в экстрахромосомную, а затем выделяется в культуральную среду. Работы, выполненные Rogers et al., позволяют считать экстрахромосомную ДНК непосредственным предшественником внеклеточной ДНК.

Необходимо отметить, что сами экстрахромосомные ДНК представлены в клетках двумя классами. К первому классу относят митохондриальную ДНК, второй класс включает в себя кольцевые ядерные ДНК, гетерогенные по размеру, числу молекул на клетку и составу входящих в них нуклеотидных последовательностей. ДНК этого класса можно подразделить по размеру на большие кольцевые ДНК, называемые эписомами (100–900 т.п.н.), и малые гетерогенные кольцевые ДНК (мгкДНК) [8, 9]. Размеры мгкДНК варьируют от 150 п.н. до 20 т.п.н. и в клетке составляют от 0.030 до 0.001% от количества хромосомной ДНК. Так как основным методом препаративного получения мгкДНК является выделение по Хирту [10], то эта фракция получила название фракции Хирта. Эписомы, содержащие амплифицированные копии генов, – феномен чрезвычайно редкий даже в трансформированных клетках с присущей им нестабильностью генома. Они практически никогда не выявляются в нормальных клетках и не появляются во внеклеточном пространстве [11]. Напротив, фракция Хирта, как оказалось, по своему составу аналогична внеклеточной ДНК, а это означает, что именно она может быть предшественником ДНК, экскретируемой клетками. По этой причине в последующем, говоря об экстрахромосомной ДНК как предшественника вкДНК, будет подразумеваться именно фракция Хирта.

Еще Rogers [3, 7] отметил, что репликация и экскреция экстрахромосомной ДНК – процессы необычные, сопровождающие активацию лимфоцитов, но не обязательно связанные с митозом. Чуть позже Distelhort et al. [12] показали, что экскретируемая ДНК может синтезироваться в логарифмическую фазу роста клеток, а в 1980-е гг. вышел ряд работ, доказавших автономную репликацию ДНК фракции Хирта [8, 13–15]. Так, в синтезе новых молекул принимает участие ДНК-полимераза, отличная от ДНК-полимеразы α , так как процесс мало чувствителен к афидиколину и цитозинарабинозиду. Репликация мгкДНК может происходить по типу катящегося кольца при участии, например, ДНК-полимеразы γ , и не приурочена к какой-либо фазе клеточного цикла [8].

Существование активной экскреции ДНК ставит вопрос о наличии механизма транспорта ДНК через мембрану. Высвобождению ДНК из лимфоцитов способствуют трипсин, проназа и плазмин, а также дефицит ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} . Процесс выхода ДНК полностью, но обратимо ингибируется избытком Ca^{2+} и

дибутирил-цАМФ. Тот факт, что клетки, обработанные трипсином в присутствии ионов Ca^{2+} , выделяют чрезвычайно мало ДНК, а в среде без Ca^{2+} ее количество максимально, свидетельствует о важной роли мембранных структур в этом процессе [6, 12]. Предположительно, перенос нуклеиновой кислоты внутри и между клетками осуществляется с помощью везикулярного транспорта, так как размеры переносимых молекул ДНК велики. В работе Adams и McIntosh [6] наблюдали экскрецию ДНК из фибробластов цыпленка. Через 3 ч после введения [^3H]-тимидина, комплекс, содержащий ДНК с молекулярной массой $5 \cdot 10^3$ Да, появляется в цитозоле, а через 5 ч – вне клеток. По мнению авторов, ДНК, покидая ядро, перемещается недиффузно по цитозолю, а по канальцам, соединяющим клеточную оболочку с ядром. Однако других сведений о механизмах трансмембранного переноса ДНК нет, и вопрос остается открытым.

Таким образом, возможность экскреторного происхождения вкДНК в культуре клеток является вполне доказанной. Что же касается непосредственно вкДНК плазмы, то обнаруживается одно противоречие: низкомолекулярные фрагменты ДНК, входящие в состав нуклеопротеидных комплексов при СКВ и других патологиях, имеют линейную форму [16], в отличие от кольцевых экстрахромосомных ДНК. В этом случае нельзя исключить вероятность внутриядерной деградации экстрахромосомной ДНК за счет активации ядерных нуклеаз [17, 18]. Другое объяснение может быть основано на выявлении нуклеазной активности антител, реагирующих с ДНК непосредственно в плазме крови [19–23]. Такие антитела относятся к классу IgG и получили название абзимов. На сегодняшний день имеется ряд работ о присутствии абзимов в сыворотке крови больных различными заболеваниями [19, 20, 22].

2. Внеклеточная ДНК как результат гибели клеток

После серии экспериментов с лимфоцитами Stroun et al. в 1987 г. [24] сообщили о том, что помимо экскретированной ДНК, в культуральную жидкость может попадать 9–12% ДНК из погибших клеток. В 1990 г. И.С. Янева и Н.А. Федоров [5] при электрофорезе вкДНК, выделенной из среды культивирования лимфоцитов, помимо высокомолекулярной фракции (21 т.п.н.), наблюдали диффузное распределение исследуемого препарата ДНК в средней части геля. Однако радиоактивный [^3H]-тимидин, которым была помечена вкДНК, фиксировался практически полностью в участке геля, где располагалась полоса ДНК размером 21 т.п.н. Это позволило авторам утверждать, что только высокомолекулярная фракция ДНК является собственно экскреторной. Поскольку стимуляция лимфоцитов ФГА шла параллельно с нуклеолитическим процессом, генерирующим короткие фрагменты ДНК, то авторы предположили, что ДНК, располагающаяся в средней части геля и не содержащая радиоактивного тимидина, представляет собой часть ДНК хроматина разрушенных лимфоцитов.

Таким образом, альтернативным источником плазменной вкДНК могут быть процессы гибели клеток и деградации их хроматина, происходящие в организме. Процесс естественной элиминации клеток получил название «апоптоз», а образующиеся при этом остатки клеток, упакованные в мембрану, названы апоптотическими тельцами. В норме апоптотические тельца фагоцитируются макрофагами, нейтрофилами и дендритными клетками сразу же после

их появления [25–28]. Активации процесса фагоцитоза способствуют уже сами клетки, вступающие в апоптоз, экспрессируя на своей поверхности фосфатидилсерин [28]. Поэтому в норме апоптотические продукты в плазме не выявляются. Вероятно, при физиологической элиминации клеток они и не выходят в кровоток. Появление большого количества апоптотических телец в плазме крови свидетельствует либо о действии факторов, приводящих к усилению апоптоза в тканях, либо о нарушении фагоцитоза [25, 27]. Подтверждением апоптотической природы вкДНК при различных типах патологии служит тот факт, что при электрофорезе низкомолекулярной вкДНК обнаруживается в среднем четыре фракции возрастающей длины, при этом доминирующим является фрагмент, соответствующий размеру нуклеосомы (140–200 п.н.), а остальные фрагменты кратны его длине. Из таких субъединиц состоит хроматин ядер, и они могут образовываться под воздействием Ca^{2+}/Mg^{2+} -зависимой эндонуклеазы, активация которой является доказанной при лучевой и других видах патологии [17, 18].

Единственный аргумент, противоречащий данной гипотезе, представлен в работе В.Г. Владимирова [29]. Авторы показали, что ДНК-комплексы, выделенные из плазмы крови облученных животных, имеют иной качественный состав и другие соотношения белков, липидов и РНК, нежели хроматин. Однако принимая во внимание то, что в работе рассматривается лучевая патология и то, что низкомолекулярная ДНК, появляющаяся в крови крыс после воздействия γ -облучения, почти не гибридизуется с ДНК, выделенной из плазмы крови интактных животных [30, 31], можно констатировать существенные структурные различия между этими видами вкДНК [16]. Таким образом, гипотеза о происхождении вкДНК путем деградации хроматина апоптотических клеток не может быть отвергнута на основании работы [29].

Апоптотическое происхождение можно считать вполне доказанным для фетальной низкомолекулярной вкДНК, циркулирующей в плазме крови беременных женщин [32]. Эта ДНК по молекулярному весу кратна размерам нуклеосомы, появляется в плазме крови матери в результате постоянно идущего апоптоза трофобласта и элиминируется в течение нескольких часов после родов [33].

Выясняя происхождение вкДНК у новорожденных детей, мы наблюдали морфологические изменения некоторой части лимфоцитов новорожденных при внутриутробном инфицировании, пневмопатии и перинатальной патологии ЦНС (уменьшение площади ядра, увеличение конденсации хроматина и снижение содержания ДНК в ядре клетки). Такие изменения характерны для начала процесса апоптоза. Одновременно у детей обнаруживался высокий уровень внеклеточной ДНК низкой молекулярной массы [34]. Результаты исследования подтверждают, что апоптоз лимфоцитов является одной из причин появления вкДНК в плазме крови новорожденных детей при патологии.

По-видимому, причиной появления вкДНК в кровотоке может быть и некротическое поражение тканей под воздействием повреждающих факторов. Но так как размеры молекул вкДНК, выявляемых в плазме крови при патологии, соответствуют размерам нуклеосом, то авторы предпочитают объяснять это явление именно апоптозом.

3. Другие гипотезы появления вкДНК в плазме крови

Существует третья точка зрения, дополняющая две предыдущие. Еще в 1971 г. Lerner et al. [35] обнаружили особую фракцию внутриклеточной, но неядерной ДНК. Эта ДНК находится в цитоплазме и ассоциирована с мембраной диплоидных лимфоцитов человека. От ядерной и митохондриальной ДНК она отличается не только своим расположением в клетке, но и временем синтеза в клеточном цикле, а также некоторыми физическими свойствами. Функции этой ДНК не были установлены, но высказано предположение, что взаимодействие IgG-рецептора в мембране лимфоцита с иммуногеном может быть причиной конформационных изменений, приводящих к амплификации определенных генов, сопровождающих дифференцировку лимфоцитов. Другое предположение касается вовлечения цитоплазматической ДНК в межклеточные взаимодействия. В таком случае возможен транспорт этой ДНК через мембрану и появление ее в кровотоке в виде вкДНК. Эту гипотезу подтверждает и работа Anker et al. [4], в которой показано, что экскретируемая ДНК родственна ядерной, но содержит значительное количество уникальных последовательностей. По своим характеристикам она весьма напоминает цитоплазматическую ДНК, связанную с мембранами лимфоцитов.

Высказано мнение, согласно которому, внеклеточная ДНК может синтезироваться микроорганизмами, присутствующими в крови [36].

Stroun et al. [37] предположили, что некоторое количество вкДНК может синтезироваться в среде после удаления лимфоцитов. Для доказательства существования бесклеточного синтеза ДНК авторы использовали меченый дезоксицитидин. Поскольку процесс ингибировался ДНКазой, РНКазой и актиномицином D, было высказано предположение, что синтез идет по репликативному механизму, а затравкой или даже матрицей в данном случае может служить РНК. В клетках эукариот ядерная ДНК ассоциирована с полимеразой, следовательно, фермент может попадать в экскретируемый комплекс вместе с ДНК. Представленные данные, включая предположение о защите репликативного комплекса мембранами, логично объясняют механизм внеклеточного синтеза ДНК [16]. Исходя из этого, можно было бы предположить, что репликация ДНК возможна и внутри апоптотических телец, содержащих необходимые для синтеза части ядерного аппарата клетки. Однако, кроме работы Stroun et al., других доказательств внеклеточного синтеза ДНК, тем более *in vivo*, на данный момент в литературе не представлено.

Заслуживает внимания работа отечественных авторов, [38], показавшая, что у здоровых доноров около 90% внеклеточных нуклеиновых кислот связано с поверхностью клеток крови. Напротив, у онкологических больных наблюдается отсутствие нуклеиновых кислот на внешней мембране форменных элементов при выраженном увеличении концентрации вкДНК в плазме. Видимо, такое «слушивание» ДНК вносит вклад в увеличение концентрации плазменной вкДНК, хотя большая часть вкДНК при раке представлена молекулами опухолевого происхождения, попадающими в кровоток либо за счет лизиса клеток на стыке между опухолью и кровотоком, либо за счет разрушения циркулирующих опухолевых клеток или микрометастазов [39].

Заключение

На наш взгляд, несколько приведенных гипотез не исключают друг друга, а лишь отражают различное происхождение вкДНК в норме и при патологии. Суммируя литературные данные, можно предположить, что физиологические концентрации вкДНК у здоровых лиц поддерживаются за счет экскреции лимфоцитами высокомолекулярной экстрахромосомной ДНК (фракции Хирта). Появление при патологии низкомолекулярных фрагментов может быть результатом: а) деградации высокомолекулярной ДНК внутриклеточными эндонуклеазами или внеклеточными абзимами, б) усиления репликации и экскреции низкомолекулярной фракции Хирта, как побочного продукта реаранжировок генома, в) усиления апоптоза клеток в организме при нарушении фагоцитарной функции или результатом некротического поражения тканей. Вероятно, в некоторых случаях указанные выше процессы могут протекать одновременно.

Summary

N.O. Tuayeva, Z.I. Abramova. The extracellular DNA in a human bloodstream. I. The origin of extracellular DNA.

The fact of extracellular nucleic acids existence is old-established. But the origin and functions of these nucleic acids are not yet clear. In present review the different hypothesis about origin of blood plasma cell-free DNA are discussed. In particular, the possibilities of DNA active excretion by immune system cells and apoptotic origin of cell-free DNA are considered. Some others opinions, which exist in literature sources, are briefly reviewed.

Литература

1. *Mandel P., Metais P.* Les acides nucleiques du plasma sanguine chez Homme // CR Acad. Sci. Paris. – 1948. – V. 142. – P. 241–243.
2. *Tan E.M., Schur P.H., Carr R.H., Kunkel H.G.* Deoxyribonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus // J. Clin. Invest. – 1996. – V. 45. – P. 1732–1740.
3. *Rogers J.C., Boldt D., Kornfeld S.* Excretion of deoxyribonucleic acid by lymphocytes stimulated with phytohemagglutinin or antigen // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1972. – V. 69, No 7. – P. 1685–1689.
4. *Anker P., Stroun M., Mourice P.A.* Spontaneous release of DNA by human blood lymphocytes in the course of as shown in an *in vitro* system // Cancer Res. – 1975. – V. 35, No 9. – P. 2375–2382.
5. *Янева И.С., Федоров Н.А., Боровкова Т.В., Севастьянова М.Г.* Выделение, идентификация и электрофоретические свойства ДНК, секретлируемой лимфоцитами человека // Биохимия. – 1990. – Т. 55, Вып. 4. – С. 745–753.
6. *Adams D., McIntosh A.* Studies on the cytosolic DNA of chick embryo fibroblasts and its uptake by recipient cultured cells // Int. J. Biochem. – 1985. – V. 17, No 10. – P. 1041–1052.
7. *Rogers J.C.* Identification of an intracellular precursor to DNA excreted by human lymphocytes // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1976. – V. 73, No 9. – P. 3211–3215.
8. *Сальников К.В.* Экстрахромосомная ДНК в клетках млекопитающих // Цитология. – 1990. – Т. 32, № 11. – С. 1061–1071.

9. Белохвостов А.С. Экстрахромосомные ДНК в клетках млекопитающих // Успехи соврем. биол. – 1997. – Т. 177, Вып. 4. – С. 433–441.
10. Hirt B. Selective extraction of polyoma DNA from infected mouse cell-cultures // J. Mol. Biol. – 1967. – V. 26. – P. 365–369.
11. Сухова Т.И., Сердюк О.И., Алехина Р.П., Шелехов В.П., Мусеев В.Л., Арсенин С.Л., Раевская Г.Б., Лихтенштейн А.В. Свойства свободных ДНК, обнаруживаемых в клеточных ядрах // Молек. биол. – 1996. – Т. 30, Вып. 3. – С. 552–563.
12. Distelhorst C.W., Dennin R.H., Cramer K., Rogers J.C. Selective release of excreted DNA sequences from phytohemagglutinin-stimulated human peripheral blood lymphocytes // J. Clin. Invest. – 1978. – V. 62, No 5. – P. 1204–1217.
13. Kiyama R., Oishi M. Pulse-labeled small closed circular DNA in cultured mouse and human cells // Plasmid. – 1987. – V. 17. – P. 215–222.
14. Von Hoff D.D., Needham-Van Devanter D.R., Yncel J., Windle B.E., Wahl G.M. Amplified human *myc* oncogenes localized to replicating submicroscopic circular DNA molecules // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1988. – V. 85. – P. 2483–2490.
15. Ruiz I.C., Choi K., Von Hoff D.D., Roninson J.B., Wahl G.M. Autonomously replicating episomes contain *mdr-1* genes in a multidrug-resistant human cell line // Mol. Cell. Biol. – 1989. – V. 9. – P. 109–116.
16. Владимиров В.Г., Васильева И.Н., Шарова Л.А. Внеклеточная ДНК и ее значение для современной медицины // Клин. мед. и патофизиол. – 1998. – № 1–2. – С. 112–119.
17. Cohen J., Duke R.C. Glucocorticoid activation of a calcium-dependent endonuclease in thymocyte nuclei leads to cell death // J. Immunol. – 1984. – V. 132. – P. 38–42.
18. Sellins K.S., Cohen J.J. Gene induction by γ -irradiation leads to DNA fragmentation in lymphocytes // J. Immunol. – 1987. – V. 139. – P. 3199–3206.
19. Канышкова Т.Г., Власов А.В., Хлиманков Д.Ю., Барановский А.Г., Щитицын М.В., Ямковой В.И., Бунева В.Н., Семенов Д.В., Невинский Г.А. ДНК- и РНК-гидролизующие антитела из молока человека и их возможная биологическая роль // Молек. биол. – 1997. – Т. 31, № 6. – С. 1082–1091.
20. Невзорова Т.А., Темников Д.А., Винтер В.Г. Особенности ДНК-гидролизующей активности антител при системной красной волчанке // Биохимия. – 2003. – Т. 68, № 12. – С. 1616–1623.
21. Бунева В.Н., Кудрявцева А.Н., Гальвита А.В., Дубровская В.В., Хохлова О.В., Калинина И.А., Галенок В.А., Невинский Г.А. Динамика уровня нуклеазной активности антител крови женщины во время беременности и лактации // Биохимия. – 2003. – Т. 63, Вып. 8. – С. 1088–1100.
22. Burlingame R.W., Carvera R. Anti-chromatin (anti-nucleosome) autoantibodies // Autoimmunity Rev. – 2002. – No 1. – P. 321–328.
23. Винтер В.Г., Невзорова Т.А., Коновалова О.А., Салахов М.Х. Применение атомно-силовой микроскопии для исследования ДНК-гидролизующей активности антител к ДНК // Доклады РАН. – 2005. – Т. 405, № 3. – С. 409–411.
24. Stroun M., Anker P., Lyautey J. Isolation and characterization of DNA from the plasma of cancer patients // Tur. J. Cancer Clin. Oncol. – 1987. – V. 23, No 6. – P. 707–712.
25. Lorenz H-M., Herrmann M., Winkler T. Role of apoptosis in autoimmunity // Apoptosis. – 2000. – V. 5, No 5. – P. 443–449.
26. Fadok V.A., Chimenti G. The phagocytosis of apoptotic cells // Immunology. – 2001. – V. 13. – P. 365–372.
27. Pisetsky D.S. The immune response to cell death in SLE // Autoimmunity Rev. – 2004. – V. 3. – P. 500–504.

28. *Hupperts B., Kingdom J.C.P.* Apoptosis in the trophoblast – role of apoptosis in placenta morphogenesis // *J. Soc. Gynecol. Investig.* – 2004. – V. 11. – P. 353–362.
29. *Владимиров В. Г., Тищенко Л.И., Суркова Е.А., Васильева И.Н.* Внеклеточная ДНК крови после облучения // *Радиационная биол. радиоэкология.* – 1993. – Т. 33, Вып. 3(6). – С. 854–860.
30. *Владимиров В.Г., Белохвостов А.С., Шерлина С.С., Васильева И.Н., Воскресенский А.М.* Содержание внеклеточной ДНК в крови облученных крыс // *Бюл. эксперим. биол.* – 1992. – Т. 113, № 2. – С. 188–191.
31. *Белохвостов А.С., Лебедев С.Н., Шерлина С.С.* Изменение фракционного состава нуклеиновых кислот сыворотки крови при радиационных поражениях. Нарушения в ранние сроки после g-облучения крыс // *Радиобиол.* – 1987. – Т. 27, Вып. 4. – С. 505–509.
32. *Bishoff F.Z., Dang D., Horne C., Marquez-Do D., Brincley W.R., Levis D.E.* Fetal DNA in maternal plasma circulates as apoptotic bodies: elucidations of structural nature of fetal DNA for non-invasive prenatal genetic diagnosis // *Am. J. Hum. Genet.* – 2003. – V. 73. – P. 189.
33. *Bianchi D.W.* Circulating fetal DNA: its origin and diagnostic potential – a review / *Placenta.* – 2004. – V. 25. – Supplement A, *Trophoblast Research.* – V. 18. – P. 93–101.
34. *Туаева Н.О., Винтер В.Г., Софронов В.В., Емикеева В.А.* Концентрация и фракционный состав внеклеточной ДНК у новорожденных детей с перинатальной патологией ЦНС // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки.* – 2005. – Т. 147, Кн. 2. – С. 196–200.
35. *Lerner R.A., Meinke W., Goldstein D.A.* Membrane-associated DNA in the cytoplasm of diploid human lymphocytes // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1971. – V. 68, No 6. – P. 1212–1216.
36. *Stroun M., Anker P., Maurice P., Lyautey J., Ledderrey C., Beljanski M.* Neoplastic characteristics of the DNA found in the plasma of cancer patients // *Oncology.* – 1989. – V. 46. – P. 318–322.
37. *Hung P.P., Mao J.C., Ling C.M., Overby L.R.* Hybridization of Dane particle DNA with the free plasma DNA of hepatitis carriers // *Nature.* – 1975. – V. 253, No 5492. – P. 571–572.
38. *Тамкович С.Н., Лактионов П.П., Брызгунова О.Е.* Уровень внеклеточных нуклеиновых кислот, связанных с поверхностью форменных элементов крови, в диагностике рака молочной железы // *Молек. медицина.* – 2005. – № 2. – С. 46.
39. *Stroun M., Lyautey J., Lederrey A.* About the possible origin and mechanism of circulating DNA. Apoptosis and active DNA release // *Clin. Chem. Acta.* – 2001. – V. 313. – P. 139–142.

Поступила в редакцию
28.08.06

Туаева Наталья Олеговна – научный сотрудник лаборатории биохимии нуклеиновых кислот при кафедре биохимии Казанского государственного университета.

E-mail: Natalya.Tuaeva@ksu.ru

Абрамова Зинаида Ивановна – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией БНК Казанского государственного университета.

E-mail: Zinaida.Abramova@ksu.ru