

Булгакова О.В.¹, Каусбекова А.Ж.², Берсимбаев Р.И.³

¹PhD, доцент кафедры общей биологии и геномики, e-mail: obulgakova330@gmail.com

²студент PhD-докторантуры кафедры общей биологии и геномики, e-mail: asema.kausbekova@yandex.kz

³доктор биологических наук, академик НАН РК,

заведующий кафедрой общей биологии и геномики, e-mail: ribers@mail.ru

Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Казахстан, г. Астана

СВОБОДНОЦИРКУЛИРУЮЩИЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ БИОМАРКЕР ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В последнее десятилетие одним из актуальных вопросов современной науки является поиск биомаркеров, которые обладали бы высокой чувствительностью и специфичностью для неинвазивной диагностики онкологических заболеваний. Иммунологические методы диагностики злокачественных опухолей в целом находят пока очень скромное клиническое применение по причине низкой специфичности используемых на данный момент опухолевых маркеров. Исследование свободноциркулирующих нуклеиновых кислот в плазме и сыворотке крови у больных с онкопатологией представляет перспективное направление современной молекулярной диагностики. Свободноциркулирующие нуклеиновые кислоты включают ДНК, РНК, микроРНК, вирусную ДНК/РНК и митохондриальную ДНК. При этом свободноциркулирующие нуклеиновые кислоты могут присутствовать как в свободной форме, так и в составе надмолекулярных нуклеопротеиновых комплексов. Однако, многие аспекты, связанные с биогенезом свободно-циркулирующих нуклеиновых кислот, а также их роль в механизме развития злокачественных опухолей до сих пор остаются не ясными. В этом обзоре основное внимание уделяется биологическим свойствам свободноциркулирующих нуклеиновых кислот, биогенезу, их роли в патогенезе злокачественных новообразований и возможности применения сцНК в качестве биомаркеров в диагностике онкологических заболеваний.

Ключевые слова: свободноциркулирующие нуклеиновые кислоты, свободноциркулирующая ДНК, микроРНК, митохондриальная ДНК, рак, биомаркеры.

Bulgakova O.V.¹, Kausbekova A.Zh.², Bersimbaev R.I.³

¹PhD, Associate Professor of the Department of General biology and Genomics, e-mail: obulgakova330@gmail.com

²PhD-student of the Department of General biology and Genomics, e-mail: asema.kausbekova@yandex.kz

³Doctor of biological sciences, academician of NAS of RK,

Head of the Department of General biology and Genomics, e-mail: ribers@mail.ru

L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazakhstan, Astana

Circulating nucleic acids as diagnostic biomarker of cancer diseases

In the last decade, one of the most important trends of modern science is the search of the biomarkers, which would have high sensitivity and specificity for non-invasive diagnostics of cancer diseases. Immunological methods are not a well established practice in cancer diagnostics because of low specificity of currently used tumor markers. The study of free-circulating nucleic acids in plasma and serum of cancer patients represents a promising direction of modern molecular diagnostics. Free-circulating nucleic acids include DNA, RNA, microRNA, viral DNA / RNA and mitochondrial DNA. In this case, free-circulating nucleic acids can be present both in the free form and in the supramolecular nucleoprotein complexes. However, many aspects related to the biogenesis of free-circulating nucleic acids, as well as their role in the mechanism of carcinogenesis, are still not clear. This review focuses on the biological properties of free-circulating nucleic acids, biogenesis, their role in the pathogenesis of cancer and the possibility of using free-circulating nucleic acids as biomarkers in the diagnosis of cancer.

Key words: free circulating nucleic acids, free circulating DNA, microRNA, mitochondrial DNA, cancer, biomarkers.

Булгакова О.В.¹, Қауысбекова А.Ж.², Берсімбаев Р.І.³

¹PhD, жалпы биология және геномика кафедрасының доценті, e-mail: obulgakova330@gmail.com

²жалпы биология және геномика кафедрасының PhD докторантураның студенті,
e-mail: asema.kausbekova@yandex.kz

³биология ғылымдарының докторы, ҚР ҰҒА академигі,
жалпы биология және геномика кафедрасының меңгерушісі, e-mail: ribers@mail.ru
Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қазақстан, Астана қ.

Еркін айналатын нуклеин қышқылдары онкологиялық аурулардың диагностикалық биомаркері ретінде

Заманауи ғылымның соңғы он жылдағы өзекті сұрақтарының бірі онкологиялық аурулардың инвазиялық емес диагностикасы үшін жоғары сезімтал және арнайы биомаркерлерді табу болып табылады. Қатерлі ісік ауруларын диагностикалаудың иммунологиялық әдістері қазіргі кезде пайдаланып жүрген ісік маркерлерінің спецификалығының төмендігіне байланысты өте қарапайым клиникалық әдіс болып табылады. Онкопатологиясы бар науқастардың плазмасы мен қан сарысуында еркін айналатын нуклеин қышқылдарын зерттеу заманауи молекулалық диагностиканың перспективті бағытын көрсетеді. Еркін айналатын нуклеин қышқылдарына (eaНК) ДНК, РНК, микроРНК, вирустық ДНК/РНК және митохондриялық ДНК жатады. Сонымен қатар, еркін айналатын нуклеин қышқылдары еркін түрде де, супрамолекулалық нуклеопротеиндер кешендерінің құрамында да болуы мүмкін. Алайда, еркін айналатын нуклеин қышқылдарының биогенезі және олардың қатерлі ісік дамуы механизміндегі рөлімен байланысты көптеген аспектілер осы уақытқа дейін анық емес. Бұл шолу мақалада еркін айналатын нуклеин қышқылдарының биологиялық қасиеті, биогенезі, олардың қатерлі ісік патогенезіндегі рөлі және онкологиялық аурулардың диагностикасына биомаркерлер ретінде пайдалану мүмкіндігіне басты назар аударылады.

Түйін сөздер: еркін айналатын нуклеин қышқылдары, еркін айналатын ДНК, микроРНК, митохондриялық ДНК, қатерлі ісік, биомаркерлер.

Первое упоминание о свободно-циркулирующих нуклеиновых кислотах (сцНК) относится к середине прошлого века, когда *Mandel* и *Metais* впервые из плазмы крови человека выделили сцНК (*Gahan, 2010:168*). Однако активное изучение клинического значения сцНК, в том числе и в онкологии, началось сравнительно недавно. Длительное время исследования в данной области были в основном сосредоточены на аутоиммунных заболеваниях, при которых в сыворотке крови пациентов были обнаружены высокие уровни сцНК.

сцНК как прогностический маркер онкологических заболеваний впервые упоминается в 1977 году, когда *Leon* и др. детектировали высокие уровни свободно-циркулирующей ДНК в сыворотке больных различными типами рака. Более того, было показано, что уровень свободно-циркулирующей ДНК уменьшался, при положительном ответе пациентов на лучевую терапию (*Leon, 1977:646*).

Важность сцНК была признана в начале 1990-х годов, когда *Sorenson* описал присутствие мутантных продуктов онкогена *K-ras* в плазме и сыворотке крови больных раком поджелудочной железы (*Sorenson, 1994:67*), а *Anker* и коллеги (*Vasioukhin, 1994:774*) идентифицировали мутантный онкоген *N-ras* в плазме крови

пациентов с миелодиспластическим синдромом.

Эти результаты подтвердили что ДНК, полученная из опухоли, может быть выделена также из плазмы или сыворотки больных раком.

Также, рядом авторов было показано, что сцНК могут служить биомаркером для диагностики инсульта, травматических состояний, и неинвазивной пренатальной диагностики наследственных патологий плода.

В результате данных исследований появились совершенно новые возможности для поиска и разработки биомаркеров, в том числе и для ранней диагностики онкологических заболеваний.

1. Виды и характеристика свободно-циркулирующих нуклеиновых кислот

сцНК включают циркулирующие внеклеточные нуклеиновые кислоты (геномную ДНК, мРНК), вирусную ДНК и РНК, микроРНК и митохондриальную ДНК.

Свободно-циркулирующая ДНК (цирДНК) представляет собой двухцепочечные молекулы геномной ДНК различной длины, от 200 пар оснований до 21 тыс. пар оснований. Как правило, цирДНК присутствует в виде макромолекулярных комплексов (нуклесом) или везикул (*Marsman, 2016:2518*). Подобные структуры защищают цирДНК от действия нуклеаз и предотвращают иммунный ответ на присутствие

цирДНК в системе кровообращения (Marsman, 2016:2518). Однако цирДНК могут быть связаны с поверхностью клеток крови посредством специализированных мембранных белков.

Структурное разнообразие цирДНК отражает ее происхождение – вследствие апоптоза, некроза, фагоцитоза или путем активной секреции. Механизм активной секреции продемонстрировал *Stroun* др. (Stroun, 1987:707) на лимфоцитах и миокардиоцитах лягушек. Позже *Abolhassani* доказал возможность активного выделения внеклеточной ДНК из клеточной линии HL60 (Abolhassani, 1994: 417).

Кроме того, было обнаружено, что циркулирующие нуклеиновые кислоты, выделенные из сыворотки и плазмы крови больных раком, содержали последовательности hTERT, которые не характерны для генетического материала апоптотических клеток (Pelosi, 2006: 7).

Циркулирующая мРНК впервые была обнаружена в плазме крови у пациентов со злокачественной меланомой. Не смотря на то, что РНК очень лабильная молекула, которая легко разрушается РНКазами, циркулирующая мРНК защищена от деградации в плазме, возможно, благодаря «апоптотической упаковке». В настоящее время экзосомы рассматриваются как один из значимых источников сцНК, в том числе и мРНК. *Helfnawy* и др. продемонстрировали стабильность циркулирующей РНК как в цельной крови, так и в очищенной плазме в течение нескольких часов при комнатной температуре (El-Hefnawy, 2004;564). При этом РНКазы, находящиеся в плазме крови приводили к немедленной деградации экзогенной полноразмерной РНК.

сцНК могут быть представлены также генетическим материалом вирусов. Папилломавирусы человека, вирус Эпштейна-Барра, вирусы гепатиты В и С являются этиологическими факторами в патогенезе различных злокачественных заболеваний, таких как рак шейки матки, рак легкого, рак молочной железы, рак печени.

микроРНК представляют собой одноцепочечные, некодирующие молекулы РНК длиной 20-23 нуклеотидов, которые действуют как основные регуляторы генной экспрессии на посттранскрипционном уровне (Izotti, 2016: 1461). микроРНК были первоначально описаны *Lee* и др. (Lee, 1993: 843) у *C. elegans* в 1993 году. Геном человека содержит более 2500 зрелых микроРНК.

Было показано, что большинство микроРНК циркулируют в крови в свободной форме, а также в виде комплексов (экзосом) с рибону-

клеопротеидами и/или белками семейства аргонатов, которые защищают микроРНК от активности РНКаз. Первоначально предполагалось, что источником циркулирующих микроРНК служат клетки, подвергшиеся некрозу. Однако современные данные свидетельствуют о том, что микроРНК активно секретируются клетками с целью регуляции генной экспрессии, как в близлежащих, так и в отдаленных тканях (Petrovic, 2018:10).

Как уже было сказано, микроРНК присутствуют в биологических жидкостях как в виде экзосом, так и в виде свободных олигонуклеотидов. Причем вид, в котором микроРНК находится в биологических жидкостях организма, напрямую зависит от типа продуцирующей ее клетки. Так секретирующие клетки высвобождают микроРНК в виде экзосом, тогда как другие типы клеток экскретируют микроРНК в виде свободных олигонуклеотидов (Izotti, 2016: 1461).

Митохондриальная ДНК (мтДНК) представляет собой кольцевую двуспиральную не связанную с гистонами молекулу ДНК длиной 16 000 пар оснований. Циркулирующая мтДНК может присутствовать в плазме крови, как в свободном состоянии, так и входить в состав микровезикул. Циркулирующая мтДНК также была обнаружена в крови, как здоровых лиц, так и пациентов с различными заболеваниями, в том числе у больных различными типами рака (Yu, 2012: 329). Особенно значимые различия уровня свободно-циркулирующей мтДНК были обнаружены в крови больных раком и здоровых людей (Yu, 2012: 329). Считается, что основным механизмом появления циркулирующей мтДНК служит программируемая клеточная гибель. При этом циркулирующая мтДНК может присутствовать как в свободном виде, так и будучи связанной с фрагментами внутренней или внешней мембраны митохондрии.

Однако, процессы апоптоза и некроза могут рассматриваться как основные источники свободно-циркулирующей мтДНК только при состояниях, как правило, связанных с острой травмой, например при инфаркте миокарда (Sudakov, 2017: 1). У онкологических больных в целом наблюдаются высокие концентрации внеклеточной ДНК уже на ранних стадиях развития злокачественной опухоли (Тамкович, 2008: 12).

2. Биогенез свободно-циркулирующих нуклеиновых кислот

Как было сказано выше, биогенез большинства сцНК опосредован тремя путями, вслед-

ствии программируемой клеточной гибели, некроза, и активной секреции (рис.1).

Расщепление ДНК при апоптозе (рис.1) создает характерную картину «лестницы», состоящей из отдельных фрагментов ДНК размером 180-200 пар оснований (размер соответствует величине отдельной нуклеосомы) (Snyder, 2016:57). Однако цирДНК опухолевого происхождения более фрагментирована, чем цирДНК из здоровых клеток, и имеет размер менее 145 пар оснований.

Сохранение нуклеосомной структуры защищает фрагменты ДНК от ферментативной деградации в системе кровообращения. Фрагментация также может быть признаком гибели клеток вследствие онкоза, основного механизма гибели клеток при ишемии (Weerasinghe, 2012:302). Онкоз характеризуется митохондриальной деструкцией (рис.1), за которой следует цитоплазматическая вакуолизация вплоть до клеточного распада.

Holdenrieder и др. (Gezer, 2014:287) используя иммуноферментный анализ с антителами к нуклеосоме, детектировал высокий уровень свободно-циркулирующих нуклеосом в крови больных колоректальным раком.

сцНК могут появляться вследствие нетоза (рис.1) – процесса программируемой клеточной гибели, сопровождающегося созданием нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) (анг. *neutrophil extracellular DNA traps*). Нейтоз приводит к деконденсации хроматина, лизису клеточных и ядерных мембран, и, наконец, высвобождению НВЛ. НВЛ состоит из внеклеточной ДНК, гистонов и белков гранул нейтрофилов. Выход НВЛ в межклеточное пространство может быть спровоцирован путем активации нейтрофила патогеном, либо опосредован некоторыми патофизиологическими состояниями. Было показано, что НВЛ играют большую роль во многих патологических процессах, в том числе и в канцерогенезе (Expenbeck, 2017:2483). Причем в случае нетоза наблюдается значительно увеличение уровня сцНК (Expenbeck, 2017:2483).

Свободно-циркулирующая РНК (сцРНК) представляет собой весьма гетерогенную группу, включающую различные типы РНК: мРНК, микроРНК, вирусная РНК.

микроРНК синтезируется в виде длинных транскриптов длиной до 1000 нуклеотидов, известных как первичные микроРНК или при-микроРНК. При-микроРНК подвергается дальнейшему процессингу при участии белков DRISHA и DGCR8 с образованием структур

длиной 44-180 нуклеотидов – пре-микроРНК. В цитоплазме пре-микроРНК разрезается ферментом Dicer, содержащим каталитический центр РНКазы III. Эта эндорибонуклеаза взаимодействует с 3'-концом шпильки и вырезает петлю, соединяющую 3'- и 5'-концы шпильки. Полученная 18-25-нуклеотидная молекула микроРНК в конечном счете, интегрируется в RISC-комплекс, в котором осуществляется взаимодействие микроРНК и её мРНК-мишени (Izotti, 2016: 1461) (рис. 2).

Центральную роль в функционировании RISC-комплекса играют белки семейства Argonaute (Ago). Эти белки необходимы для микроРНК-индуцированного выключения мРНК. Зрелые микроРНК оказывают свои регуляторные эффекты путем связывания в пределах 3'-нетранслируемой области (3'-UTR) их мРНК-мишеней, тем самым подавляя биосинтез белка. Если микроРНК полностью комплементарна мРНК-мишени, то Ago2 может разрезать мРНК, приводя тем самым к её непосредственной деградации. Если же полной комплементарности нет, то выключение достигается через предотвращение трансляции (Izotti, 2016: 1461).

В результате клеточной гибели в кровь поступает содержимое клеток, в том числе и компоненты митохондрий (рис.1), так называемые молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (МПАП) (анг. *Damage associated molecular patterns* (DAMP)), которые служат своеобразными индикаторами повреждения. Митохондриальные МПАП представляют собой комплексы, состоящие из белков и мтДНК, приводящие к активации клеток иммунной системы и обладающие провоспалительным эффектом (Nakahira, 2015:1329).

Известно, что бактериальная ДНК может активировать врожденный иммунитет (Zhang, 2010:55). мтДНК уникальна среди эндогенных молекул в том, что эволюционно митохондрии происходят от прокариотических клеток. Таким образом, мтДНК сохраняет мотивы, подобные бактериальной ДНК. Выделяющаяся, вследствие клеточной гибели, мтДНК может активировать нейтрофилы и способствовать системному воспалительному ответу. Было показано, что различные виды травм и геморрагический шок вызывали увеличение уровня свободно-циркулирующей мтДНК (Zhang, 2010:55). Более того, инкубирование *in vitro* нейтрофилов с очищенной мтДНК приводило к активации иммунных клеток, а также к фосфорилированию митоген-активированной протеинкиназы (МАРК) p38. В

то время как сцДНК не индуцировала активацию нейтрофилов (Zhang, 2010:55). Внутривенная инъекция фрагментов митохондрий вызывала у крыс активацию MAPK p38 и накопление IL-6 и

TNF-альфа в печени. Zhang и коллеги считают, что мтДНК, поступающая в кровотоки вследствие некроза играет ведущую роль в развитии «стерильного воспаления» (Zhang, 2010:55).

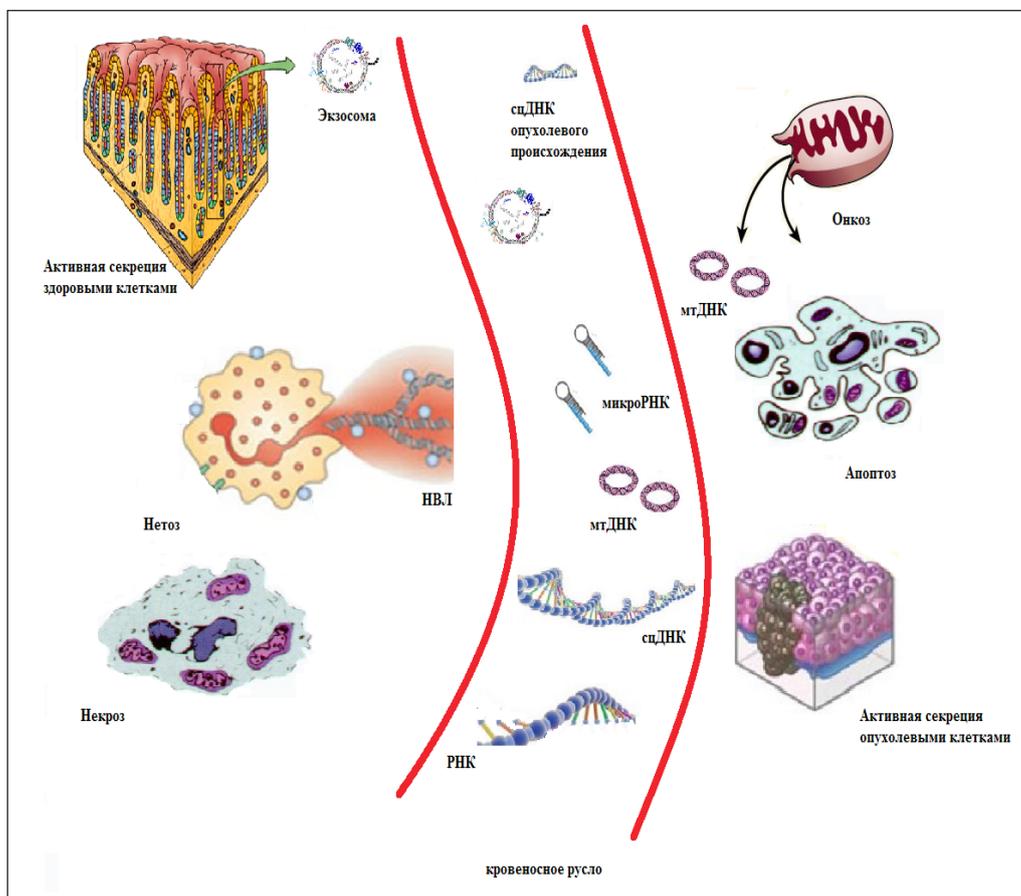


Рисунок 1 – Формирование пула сцНК в крови

В литературе приводятся несколько механизмов активации иммунного ответа, опосредованного мтДНК. Считается, что мтДНК является активатором иммунного ответа из-за присутствия неметилованных последовательностей CpG и наличия окисленных азотистых оснований. Свободно-циркулирующая мтДНК была обнаружена в синовиальной жидкости у пациентов с ревматоидным артритом. Инъекция как мтДНК, так и окисленных олигонуклеотидов в суставы мышцей приводила к развитию воспалительного процесса. Во-вторых, мтДНК часто находится не в чистом виде, а образует нуклеопротеидные комплексы, в состав которых входят хеликаза TWINKLE, транскрипционный фактор TFAM и формируемые митохондриальные белки. Последние при участии TFAM способны акти-

вировать моноциты человека. Таким образом, свободно-циркулирующая мтДНК, выделяющаяся в кровотоки вследствие апоптоза и некроза, является не просто индикатором клеточной гибели, но одним из ключевых компонентов развития асептического воспалительного процесса.

3. Свободно-циркулирующие нуклеиновые кислоты в диагностике онкологических заболеваний

Учитывая, что происхождение сцНК напрямую связано с клеточной гибелью при различных патофизиологических состояниях, а также может быть опосредовано активной секрецией опухолевыми клетками, сцНК представляются весьма перспективным биомаркером диагностики различных заболеваний, в том числе и онкологических.

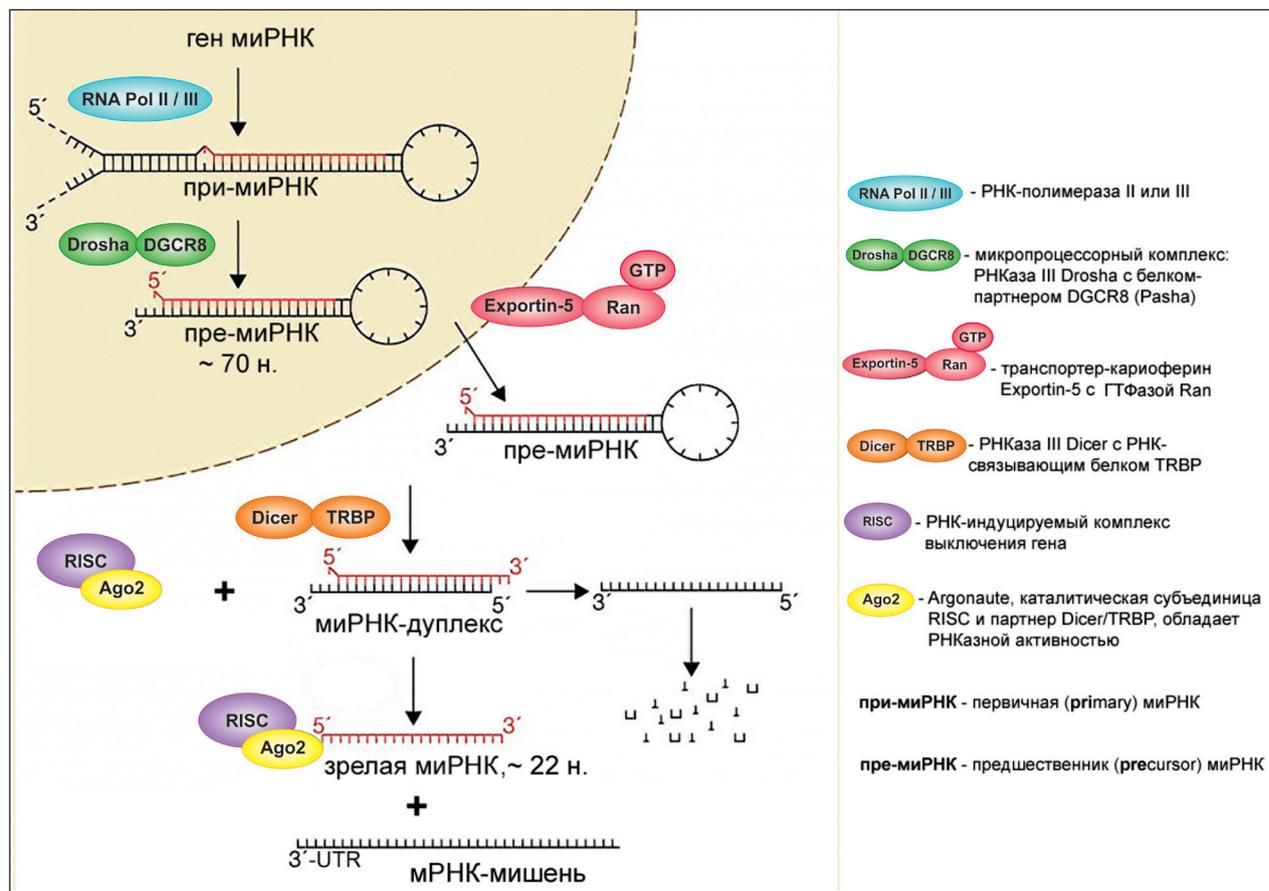


Рисунок 2 – Биогенез микроРНК

Так *Bettegowda* и др. (*Bettegowda*, 2014:224) показали, что объем циркулирующей ДНК (цДНК) в крови пациентов варьировал в зависимости от типов рака. Так у пациентов с раком мочевого пузыря, колоректальным раком, раком яичников, поджелудочной железы и раком молочной железы уровень цДНК в пять и в десять раз превышал таковой у пациентов с раком щитовидной железы и глиомы соответственно. Следует также учитывать, что источником цДНК могут служить не только клетки опухоли, но и ее микроокружение: эндотелиальные клетки, лимфоциты и другие иммунные клетки. Однако объем цДНК напрямую зависит от количества раковых клеток. Так, была показана ассоциация между уровнем цДНК и стадией заболевания, а также наличием метастаз. Причем цДНК у пациентов со злокачественными неоплазиями характеризуется выраженной гетерогенностью вследствие генетической неоднородности опухолевой ткани.

Ряд исследований выявил, что высокий уровень как общей цДНК, так и цДНК имеющей мутации, коррелировал с неблагоприятным

прогнозом выживаемости пациентов с колоректальным раком. Секвенирование цДНК позволило идентифицировать ряд мутаций, на основании которых можно судить о резистентности к химиотерапии цисплатином, лапатинибом, тамоксифеном и транстузумабом (*Murtaza*, 2013: 108).

Кроме того, следует учитывать, что химиотерапевтические препараты, как правило, индуцируют апоптоз в опухолевых клетках, в связи с чем уровень цДНК может быть маркером данного процесса у онкобольных.

Интересным является тот факт, что в цДНК также были обнаружены эпигенетические изменения. Кроме того, недавние исследования показывают, что эпигенетические метки цДНК могут быть иметь тканеспецифический характер и указывать на источник происхождения цДНК (*Lehmann-Werman*, 2016:1826, *Shyder*, 2016:57). Так, *Lehmann-Werman* и коллеги (*Lehmann-Werman*, 2016:1826) показали, что цДНК в крови пациентов с раком поджелудочной железы, имеет профиль метилирования,

идентичный профилю метилирования в клетках протоков поджелудочной железы. Исследования показали эффективность определения эпигенетических меток в цирДНК для колоректального рака (Galanopoulos, 2017:142) и рака молочной железы (Shyder, 2016:57). Причем для последнего на ранних стадиях развития.

Эти результаты имеют большое клиническое значение, поскольку они представляют собой перспективную неинвазивную стратегию для возможного раннего выявления и мониторинга многих заболеваний, включая рак поджелудочной железы, которые до настоящего времени не имеют проверенного клинического биомаркера и обнаруживаются на поздних стадиях, что приводит к высокой смертности.

Кроме того, в недавнем исследовании, посвященном раку предстательной железы (РПЖ), было показано, что профиль метилирования цирДНК в плазме пациентов с РПЖ положительно коррелировал с ответом на проводимую терапию (Hendriks, 2018: 336).

Таким образом, цирДНК представляет интерес не только как диагностический и прогностический биомаркер онкологических заболеваний, но может быть использована и для мониторинга эффективности противоопухолевой терапии (рис.3).

Для повышения специфичности методов диагностики злокачественных неоплазий, осуществляемых на основе детекции цирДНК в крови, можно также использовать изменение распределения цирДНК у онкобольных, характеризующееся увеличением концентрации свободно-циркулирующей ДНК в плазме крови и уменьшением фракции цирДНК, фиксированной на поверхности клеточных элементов крови.

В ряде экспериментов Wong и коллеги выявили снижение уровня циркулирующей РНК в плазме крови у пациентов с карциномой носоглотки по сравнению со здоровыми лицами контрольной группы. Более того, наблюдалась линейная зависимость уровня циркулирующей в плазме крови РНК со стадией опухолевого процесса (Wong, 2006:2512).

Было показано, что в некоторых случаях, уровень вирусной ДНК в крови пациента может коррелировать со стадией заболевания, ответом на терапию и вероятностью рецидивов заболевания.

микроРНК детектируются во всех биологических жидкостях, включая цереброспинальную жидкость, мочу, кровь и даже грудное молоко. Концентрация микроРНК в этих жидкостях мо-

жет варьировать в зависимости от физиологических и патологических процессов, таких как беременность или онкологическое заболевание. Было продемонстрировано, что опухолевые клетки также способны выделять микроРНК. Причем у онкологических больных изменяется не только концентрация микроРНК в биологических жидкостях организма, но и сам профиль данных молекул, появляются специфические микроРНК, характерные для опухолевых клеток, так называемые «онкомиР» (по аналогии с онкогенами).

Таким образом, микроРНК могут служить весьма специфическими и чувствительными биомаркерами для диагностики онкологических заболеваний (Izotti, 2016: 1461).

Как правило, каждая микроРНК влияет на экспрессию нескольких генов, хотя на один ген могут влиять несколько микроРНК. В данной ситуации анализ микроРНК-панелей, представляется более эффективным в диагностике онкологических заболеваний, нежели анализ одной, конкретной микроРНК (Izotti, 2016: 1461).

В последнее время сообщается, что микроРНК, играют важную роль в индуцировании резистентности к противораковым препаратам. Специфические изменения микроРНК происходят выборочно в патогенезе злокачественных неоплазий, придавая опухолевым клеткам устойчивость к различным химиотерапевтическим агентам. Например, устойчивость к 5-фторурацилу опосредуется изменениями в уровне экспрессии miR-21, miR-27a / b и miR-155; чувствительность к доцетакселу зависит от miR-98, miR-192, miR-194, miR-200b, miR-212 и miR-424; устойчивость к цисплатину опосредуется уровнем экспрессии miR-let-7, miR-15, miR-16 miR-21 и miR-214. **Опухолевые клетки характеризуются измененными функциями ферментов, участвующих в биогенезе микроРНК, и в первую очередь эндонуклеазы Dicer.** Способность модулировать экспрессию микроРНК, задействованных в канцерогенезе, является многообещающей стратегией для преодоления проблемы резистентности к химиотерапии онкологических заболеваний (Geretto, 2017:1350).

Свободно-циркулирующие в плазме крови микроРНК могут являться маркерами радиационного воздействия на организм, причем изменение уровня микроРНК имеет доза-зависимый эффект (Bersimbaev, 2017: 93). В связи с вышеизложенным, микроРНК могут стать оптимальным биомаркером для неинвазивной диагностики рака легкого, индуцированного действием ра-

дона. По данным Всемирной Организации Здравоохранения радон является второй причиной развития рака легкого после курения. Большая часть территории Республики Казахстан является радоноопасной (Bersimbaev, 2015: 1104). Рак легкого в Казахстане занимает первое место среди всех онкологических заболеваний (Bersimbaev, 2017: 93). Причем смертность от данного заболевания очень высока, а пятилетний прогноз выживаемости после операционного вмешательства не благоприятный. Причина этого кроется в трудностях ранней диагностики заболевания и зачастую в неэффективности существующих скрининговых методов.

Разработка новой технологии, основанной на панели микроРНК, профиль которых отражает как эффект воздействия радона, так и начальные процессы малигнизации клеток, является весьма актуальной для массовых неинвазивных исследований населения, проживающих на территориях с повышенным содержанием радона и его дочерних продуктов распада (Bersimbaev, 2017: 93).

Многочисленные исследования показывают, что свободно-циркулирующая мтДНК может иметь огромное значение для диагностики различных заболеваний: диабета, острого инфаркта миокарда, атеросклероза, гранулематоза, травматических состояний (Тамкович, 2008: 12). Некоторые авторы связывают уровень свободно-циркулирующей мтДНК с воспалительными процессами и с образованием нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), которые, как показали недавние исследования, оказались вовлечены в процессы опухолеобразования и метастазирования (Expenbeck, 2017:2483).

Степень изменения количества мтДНК в физиологических жидкостях организма может служить диагностическим, прогностическим маркером, а также маркером лекарственной резистентности при опухолевой терапии (Sansone, 2017:E9066) (рис.3).

Так низкий уровень мтДНК в крови был ассоциирован с развитием карциномы почек (Xing, 2008:1104). Jiang и др. (Jiang, 2005:2486) показали, что увеличение содержания мтДНК в слюне пациентов с раком головы и шеи положительно коррелировало со стадией опухолевого процесса.

Согласно результатам многочисленных исследований уровень циркулирующей мтДНК в крови пациентов с различными типами рака значительно превышает таковой у здоровых лиц (Lu, 2016:109).

Mahmoud и др. показал, что уровень свободно-циркулирующей мтДНК у больных раком молочной железы был значительно выше по сравнению не только с контрольной группой, но и с пациентами, имеющими доброкачественные опухоли молочной железы. Причем наблюдалась статистически значимая связь между уровнем мтДНК и такими параметрами как гистологический тип опухоли и стадия опухолевого процесса (Mahmoud, 2015:8299).

Возможно, увеличение числа копий мтДНК является компенсаторной реакцией в ответ на окислительный стресс, развивающийся во время злокачественной трансформации клетки и приводящий к повреждению митохондрий.

Повышение уровня свободно-циркулирующей мтДНК обнаружено при колоректальном раке, раке пищевода и раке легкого. Однако, исследования злокачественных новообразований, таких как рак желудка, карцинома почек и карцинома печени (Li, 2016: 239) показали снижение количества копий мтДНК.

Существует гипотеза, согласно которой снижение числа копий мтДНК в целом может быть опосредовано наличием мутаций в D-петле – некодирующем регионе длиной 1124 пар оснований, который играет важную роль в транскрипции и репликации мтДНК.

Подобные мутации, детектированные примерно в 40% случаев карциномы печени, приводили к снижению содержания мтДНК более чем на 70%. Возможно, что мутации в области D-петли препятствуют репликации мтДНК за счет чего и происходит уменьшение количества копий мтДНК в целом. А это, в свою очередь, сказывается и на уровне свободно – циркулирующей мтДНК.

Уменьшение количества копий мтДНК, как показывает ряд исследований, может приводить к развитию устойчивости к таким противоопухолевым препаратам как антрациклины и таксаны.

Sansone и др. продемонстрировали, что горизонтальный перенос мтДНК в циркулирующих внеклеточных везикулах провоцирует развитие резистентности к гормональной терапии у пациентов с метастатическим раком молочной железы (Sansone, 2017:E9066).

Свободно-циркулирующая мтДНК может служить прогностическим маркером. Так, Mehra и коллеги показали, что высокое содержание мтДНК в плазме ассоциировано с низкой выживаемостью пациентов с раком предстательной железы (Mehra, 2007:421).

Не смотря на огромное количество публикаций, посвященных изучению роли мтДНК в канцерогенезе, многие вопросы по прежнему остаются не достаточно изученными.

Одним из интересных аспектов исследования в данной области является изучение изменения уровня циркулирующей мтДНК под действием канцерогенных факторов. Так, *Budnik* и коллеги (*Budnik, 2013:e64413*) продемонстрировали, что свободно-циркулирующая мтДНК может являться индикатором воздействия канцерогенов химической природы. Результаты ряда

исследований свидетельствуют о возможной роли циркулирующей мтДНК в качестве биомаркера клеточного повреждения, вызванного хроническим воздействием низких доз радиации (*Borghini, 2015:293*).

Дальнейшие исследования в данной области могут способствовать развитию так называемой «превентивной диагностики», направленной на выявление потенциальных рисков для здоровья, связанных с влиянием неблагоприятной экологической обстановки или неправильного образа жизни.

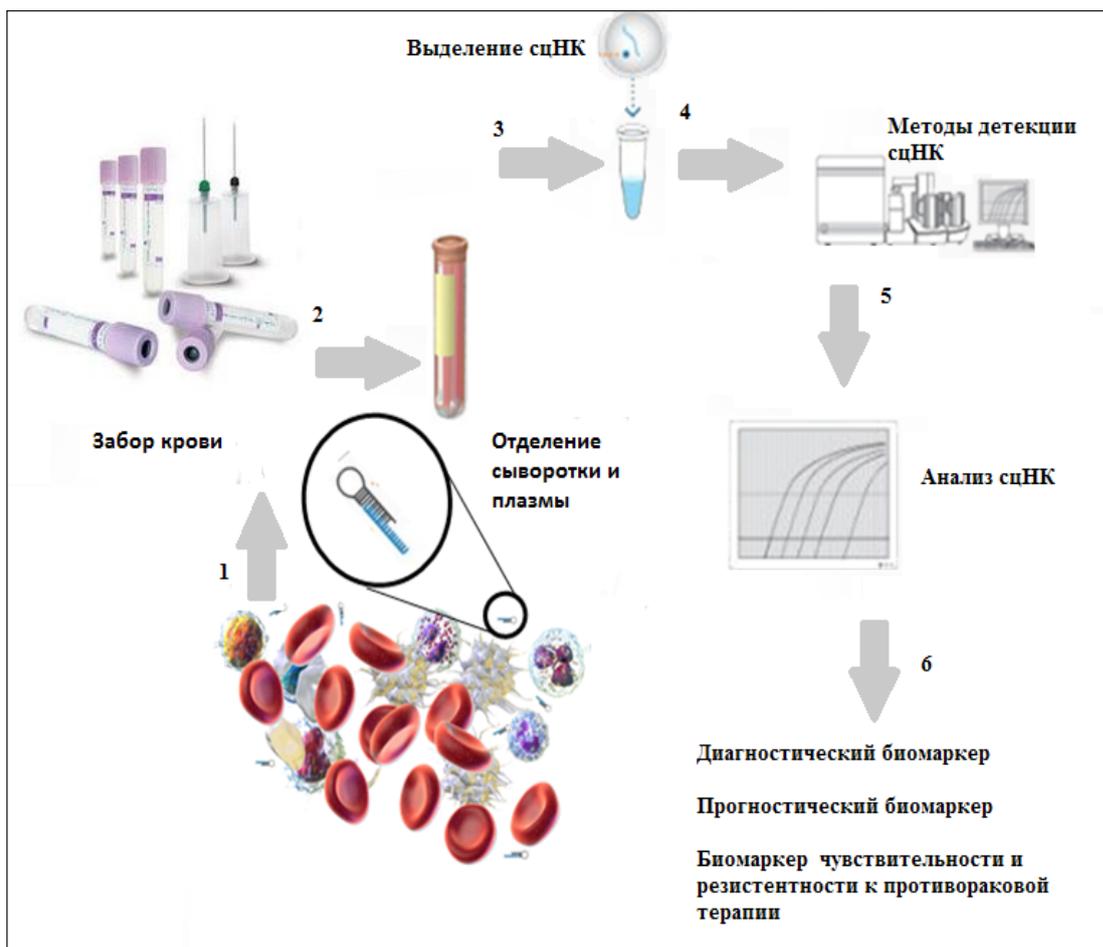


Рисунок 3 – Применение сцНК в онкологии

Подводя итог, можно сделать вывод, что сцНК являются очень перспективным объектом для молекулярной диагностики онкологических заболеваний. Кроме того, биологическая роль сцНК в настоящее время не достаточно изучена.

В то время как исследование биогенеза и биологических эффектов сцНК, позволит получить новые данные о механизмах канцерогенеза и развития лекарственной устойчивости к противораковой терапии.

Литература

- Abolhassani M., Tillotson J., Chiao J. Characterization of the release of DNA by a human leukemia-cell line HL-60 // *International Journal of Oncology*. – 1994. – Vol. 4. – No. 2. – P.417–421.
- Bettegowda C., Sausen M., Leary R.J., Kinde I., Wang Y., Agrawal N., Diaz L.A. Detection of Circulating Tumor DNA in Early and Late-Stage Human Malignancies // *Science Translational Medicine*. – 2014. – Vol. 6(224). – P.224ra24–224ra24.
- Bersimbaev R.I., Bulgakova O.V. Residential radon exposure and lung cancer risk in Kazakhstan // *Radon: InTech, London*. In: F. Adrovic editors. – 2017. – P.93–124.
- Bersimbaev R. I., Bulgakova O. The health effects of radon and uranium on the population of Kazakhstan // *Genes and Environment*. – 2015.-Vol.37. – P. 1-10.
- Borghini A., Mercuri A., Turchi S., Chiesa M.R., Piccaluga E., Andreassi M.G. Increased circulating cell-free DNA levels and mtDNA fragments in interventional cardiologists occupationally exposed to low levels of ionizing radiation // *Environ. Mol. Mutagen.* – 2015. – Vol. 56(3). – P.293-300.
- Budnik L.T., Kloth S., Baur X., Preisser A.M., Schwarzenbach H. Circulating mitochondrial DNA as biomarker linking environmental chemical exposure to early preclinical lesions elevation of mtDNA in human serum after exposure to carcinogenic haloalkane-based pesticides // *PloS. One*. – 2013. – Vol. 8(5). – P.e64413.
- El-Hefnawy T., Raja S., Kelly L., Bigbee W.L., Kirkwood J.M., Luketich J.D. and Godfrey T.E. Characterization of amplifiable, circulating RNA in plasma and its potential as a tool for cancer diagnostics // *Clin. Chem.* – 2004. – Vol.50. – P.564-573.
- Erpenbeck L., Schön M.P. Neutrophil extracellular traps: protagonists of cancer progression? // *Oncogene*. – 2017. – Vol. 4:36(18). – P.2483-2490.
- Gahan P.B., Stroun M. The biology of circulating nucleic acids in plasma and serum (CNAPS) / Kikuchi Y., Rykova E. etc. // *Extracellular nucleic acids*. - NY, Springer, 2010. – P. 168-183.
- Galanopoulos M., Tsoukalas N., Papanikolaou I. S., Tolia M., Gazouli M., & Mantzaris G. J. Abnormal DNA methylation as a cell-free circulating DNA biomarker for colorectal cancer detection: A review of literature // *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. – 2017.- Vol.9(4). – P.142–152.
- Geretto M., Pulliero A., Rosano C., Zhabayeva D., Bersimbaev R., Izzotti A. Resistance to cancer chemotherapeutic drugs is determined by pivotal microRNA regulators // *American Journal of Cancer Research*. – 2017. – Vol.7(6). – P.1350–1371.
- Gezer U., Holdenrieder S. Post-translational histone modifications in circulating nucleosomes as new biomarkers in colorectal cancer // *In Vivo (Athens, Greece)*. – 2014. – Vol. – 28(3). – P.287–292
- Hendriks R.J., Dijkstra S., Smit F.P., Vandersmissen J., Van de Voorde H., Mulders P.F.A., van Oort I.M., Van Criekinge W., Schalken J.A. Epigenetic markers in circulating cell-free DNA as prognostic markers for survival of castration-resistant prostate cancer patients // *Prostate*. – 2018. – Vol. 78(5). – P.336-342.
- Izzotti A., Carozzo S., Pulliero A., Zhabayeva D., Ravetti J.L., Bersimbaev R. Extracellular MicroRNA in liquid biopsy: applicability in cancer diagnosis and prevention // *American journal of cancer research*. – 2016. – Vol. 6. – No.7. – P.1461-1493.
- Jiang W.W., Masayeva B., Zahurak M., Carvalho A.L., Rosenbaum E., Mambo E., Zhou S., Minhas K., Benoit N., Westra W.H., Alberg A., Sidransky D., Koch W., Califano J. Increased mitochondrial DNA content in saliva associated with head and neck cancer // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11. – P.2486–2491.
- Lu H., Busch J., Jung M., Rabenhorst S., Ralla B., Kilic E., Jung K. Diagnostic and prognostic potential of circulating cell-free genomic and mitochondrial DNA fragments in clear cell renal cell carcinoma patients // *Clinica Chimica. Acta*. – 2016. – Vol. 452. – P.109–119.
- Li L., Hann H.-W., Wan S., Hann R. S., Wang C., Lai Y., Ye X., Evans A., Myers R.E., Ye Z., Li B., Xing J., Yang H. Cell-free circulating mitochondrial DNA content and risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic HBV infection // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – P.23992.
- Leon S.A., Shapiro B., Sklaroff D.M., Yaros M.J. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy // *Cancer Res.* – 1977. – Vol. 37. – P. 646–650.
- Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* // *Cell*. – 1993. – Vol. 75. – P. 843-854.
- Lehmann-Werman R., Neiman D., Zemmour H., Moss J., Magenheim J., Vaknin-Dembinsky A., Dor Y. Identification of tissue-specific cell death using methylation patterns of circulating DNA // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2016. – Vol.113(13). – P.1826-1834.
- Mahmoud E.H., Fawzy A., Ahmad O.K., Ali A.M. Plasma Circulating Cell-free Nuclear and Mitochondrial DNA as Potential Biomarkers in the Peripheral Blood of Breast Cancer Patients // *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* – 2015. – Vol. 16(18). – P.8299-305.
- Marsman G., Zeerleder S., Luken B.M. Extracellular histones, cell-free DNA, or nucleosomes: differences in immunostimulation // *Cell Death & Disease*. – 2016. – Vol. 7. – No. 12. P. :e2518
- Mehra N., Penning M., Maas J., van Daal N., Giles R.H., Voest E.E. Circulating mitochondrial nucleic acids have prognostic value for survival in patients with advanced prostate cancer // *Clin. Cancer Res.* – 2007. – Vol. 13. – P.421–426.
- Murtaza M., Dawson S-J., Tsui D.W.Y., Gale D., Forshew T., Piskorz A.M., Rosenfeld N. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA // *Nature*. – 2013. – Vol. 497(7447). – P.108–112.
- Nakahira K., Hisata S., Choi A.M.K. The Roles of Mitochondrial Damage-Associated Molecular Patterns in Diseases // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2015. – Vol. 23(17). – P. 1329–1350.
- Petrovic N., Ergun S. miRNAs as Potential Treatment Targets and Treatment Options in Cancer // *Mol. Diagn. Ther.* – 2018. DOI: 10.1007/s40291-017-0314-8

Pelosi G., Schianchi E., Dell'orto P., Veronesi G., Spaggiari L., Pasini F., Sozzi G., Brambilla E., Griso C., Viale G. Detecting cell-free circulating hTERT mRNA in the plasma may identify a subset of nonsmall cell lung cancer patients // *Virchows Arch.* – 2006. – Vol. 448. – No. 1. – P.7-15.

Sansone P., Savini C., Kurelac I., Chang Q., Amato L. B., Strillacci A., Bromberg J. Packaging and transfer of mitochondrial DNA via exosomes regulate escape from dormancy in hormonal therapy-resistant breast cancer // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2017. – Vol. 114(43). – P.E9066–E9075.

Sorenson G.D., Pribish D.M., Valone F.H., Memoli V.A., Bzik D.J., Yao S. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 1994. – Vol. 3. – P.67–71.

Stroun M., Anker P., Lyautey J., Lederrey C., Maurice P.A. Isolation and characterization of DNA from the plasma of cancer patients // *European Journal of Cancer & Clinical Oncology.* – 1987. – Vol. 23. – No.6. – P. 707–712

Sudakov N.P., Apartsin K.A., Lepekhova S.A., Nikiforov S.B., Katyshev A. Lifshits G. I., Lifshits G.I., Vybivantseva A.V., Konstantinov Y.M. The level of free circulating mitochondrial DNA in blood as predictor of death in case of acute coronary syndrome // *European Journal of Medical Research.* – 2017. – Vol. 22. – P. 1-6.

Snyder M.W., Kircher M., Hill A.J., Daza R.M., Shendure J. Cell-free DNA Comprises an In Vivo Nucleosome Footprint that Informs Its Tissues-Of-Origin // *Cell.* – 2016. – Vol. 164(1–2). –P.57–68.

Vasioukhin V., Anker P., Maurice P., Lyautey J., Lederrey C., Stroun M. Point mutations of the N-ras gene in the blood plasma DNA of patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukaemia // *Br. J. Haematol.* – 1994. –Vol. 86. – P.774– 779.

Weerasinghe P., Buja L.M. Oncosis: an important non-apoptotic mode of cell death // *Experimental and Molecular Pathology.* – 2012. – Vol. 93(3). – P.302–308.

Wong B.C., Chan K.C., Chan A.T., Leung S.F., Chan L.Y., Chow K.C. and Lo Y.M. Reduced plasma RNA integrity in nasopharyngeal carcinoma patients // *Clin. Cancer. Res.* – 2006. – Vol. 12. – P. 2512-2516.

Xing J., Chen M., Wood C.G., Lin J., Spitz M.R., Ma J., Amos C.I., Shields P.G., Benowitz N.L., Gu J., de Andrade M., Swan G.E., Wu X. Mitochondrial DNA content: Its genetic heritability and association with renal cell carcinoma // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2008. – Vol. 100. – P.1104–1112.

Yu M. Circulating cell-free mitochondrial DNA as a novel cancer biomarker: opportunities and challenges // *Mitochondrial DNA.* – 2012. – Vol.23. – No.5. – P.329–332.

Zhang Q., Itagaki K., and Hauser C.J. Mitochondrial DNA is released by shock and activates neutrophils via p38 map kinase // *Shock.* – 2010. – Vol. 34. – P.55–59.

Тамкович С.Н., Власов В.В., Лактионов П.П. Циркулирующие ДНК крови и их использование в медицинской диагностике // *Молекулярная биология.* – 2008. - № 42(1). – С. 12-23.

References

Abolhassani M., Tillotson J., Chiao J. (1994) Characterization of the release of DNA by a human leukemia-cell line HL-60, *International Journal of Oncology*, vol.4, no 2, pp.417–421.

Bettegowda C., Sausen M., Leary R.J., Kinde I., Wang Y., Agrawal N., Diaz L.A. (2014) Detection of Circulating Tumor DNA in Early and Late-Stage Human Malignancies, *Science Translational Medicine*, vol. 6(224), pp.224ra24–224ra24.

Bersimbaev R.I., Bulgakova O.V. (2017) Residential radon exposure and lung cancer risk in Kazakhstan, *Radon: InTech*, London. In: F. Adrovic editors, pp.93–124.

Bersimbaev R. I., Bulgakova O. (2015) The health effects of radon and uranium on the population of Kazakhstan, *Genes and Environment*, vol.37, pp. 1-10.

Borghini A., Mercuri A., Turchi S., Chiesa M.R., Piccaluga E., Andreassi M.G. (2015) Increased circulating cell-free DNA levels and mtDNA fragments in interventional cardiologists occupationally exposed to low levels of ionizing radiation, *Environ. Mol. Mutagen.*, vol. 56(3), pp.293-300.

Budnik L.T., Kloth S., Baur X., Preisser A.M., Schwarzenbach H. (2013) Circulating mitochondrial DNA as biomarker linking environmental chemical exposure to early preclinical lesions elevation of mtDNA in human serum after exposure to carcinogenic halo-alkane-based pesticides, *PLoS One.*, vol. 8(5), pp.e64413.

El-Hefnawy T., Raja S., Kelly L., Bigbee W.L., Kirkwood J.M., Luketich J.D. and Godfrey T.E. (2004) Characterization of amplifiable, circulating RNA in plasma and its potential as a tool for cancer diagnostics, *Clin. Chem.*, vol.50, pp.564-573.

Erpenbeck L., Schön M.P. (2017) Neutrophil extracellular traps: protagonists of cancer progression? *Oncogene*, vol. 4:36(18), pp.2483-2490.

Gahan P.B., Stroun M. (2010) The biology of circulating nucleic acids in plasma and serum (CNAPS), *Extracellular nucleic acids*, NY, Springer, Kikuchi Y., Rykova E. etc., pp. 168-183.

Galanopoulos M., Tsoukalas N., Papanikolaou I. S., Tolia M., Gazouli M., & Mantzaris G. J. (2017) Abnormal DNA methylation as a cell-free circulating DNA biomarker for colorectal cancer detection: A review of literature, *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, vol.9(4), pp.142–152.

Geretto M., Pulliero A., Rosano C., Zhabayeva D., Bersimbaev R., Izzotti A. (2017) Resistance to cancer chemotherapeutic drugs is determined by pivotal microRNA regulators, *American Journal of Cancer Research*, vol.7(6), pp.1350–1371.

Gezer U., Holdenrieder S. (2014) Post-translational histone modifications in circulating nucleosomes as new biomarkers in colorectal cancer, *In Vivo (Athens, Greece)*, vol. 28(3), pp.287–292

Hendriks R.J., Dijkstra S., Smit F.P., Vandersmissen J., Van de Voorde H., Mulders P.F.A., van Oort I.M., Van Criekinge W., Schalken J.A. (2018) Epigenetic markers in circulating cell-free DNA as prognostic markers for survival of castration-resistant prostate cancer patients, *Prostate*, vol. 78(5), pp.336-342.

- Izzotti A., Carozzo S., Pulliero A., Zhabayeva D., Ravetti J.L., Bersimbaev R. (2016) Extracellular MicroRNA in liquid biopsy: applicability in cancer diagnosis and prevention, *American journal of cancer research*, vol. 6, no 7, pp.1461-1493.
- Jiang W.W., Masayeva B., Zahurak M., Carvalho A.L., Rosenbaum E., Mambo E., Zhou S., Minhas K., Benoit N., Westra W.H., Alberg A., Sidransky D., Koch W., Califano J. (2005) Increased mitochondrial DNA content in saliva associated with head and neck cancer, *Clin. Cancer Res.*, vol. 11, pp.2486-2491.
- Lu H., Busch J., Jung M., Rabenhorst S., Ralla B., Kilic E., Jung K. (2016) Diagnostic and prognostic potential of circulating cell-free genomic and mitochondrial DNA fragments in clear cell renal cell carcinoma patients, *Clinica Chimica. Acta.*, vol. 452, pp.109-119.
- Li L., Hann H.-W., Wan S., Hann R. S., Wang C., Lai Y., Ye X., Evans A., Myers R.E., Ye Z., Li B., Xing J., Yang H. (2016) Cell-free circulating mitochondrial DNA content and risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic HBV infection, *Scientific Reports*, vol. 6, pp.23992.
- Leon S.A., Shapiro B., Sklaroff D.M., Yaros M.J. (1977) Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy, *Cancer Res.*, vol. 37, pp. 646-650.
- Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. (1993) The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*, *Cell*, vol. 75, pp. 843-854.
- Lehmann-Werman R., Neiman D., Zemmour H., Moss J., Magenheim J., Vaknin-Dembinsky A., Dor Y. (2016) Identification of tissue-specific cell death using methylation patterns of circulating DNA, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, vol.113(13), pp.1826-1834.
- Mahmoud E.H., Fawzy A., Ahmad O.K., Ali A.M. (2015) Plasma Circulating Cell-free Nuclear and Mitochondrial DNA as Potential Biomarkers in the Peripheral Blood of Breast Cancer Patients, *Asian Pac. J. Cancer. Prev.*, vol. 16(18), pp.8299-305.
- Marsman G., Zeerleder S., Luken B.M. (2016) Extracellular histones, cell-free DNA, or nucleosomes: differences in immunostimulation, *Cell Death & Disease*, vol. 7, no 12, pp.e2518
- Mehra N., Penning M., Maas J., van Daal N., Giles R.H., Voest E.E. (2007) Circulating mitochondrial nucleic acids have prognostic value for survival in patients with advanced prostate cancer, *Clin. Cancer Res.*, vol. 13, pp.421-426.
- Murtaza M., Dawson S.-J., Tsui D.W.Y., Gale D., Forshever T., Piskorz A.M., Rosenfeld N. (2013) Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA, *Nature*, vol. 497(7447), pp.108-112.
- Nakahira K., Hisata S., Choi A.M.K. (2015) The Roles of Mitochondrial Damage-Associated Molecular Patterns in Diseases, *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 23(17), pp. 1329-1350.
- Petrovic N., Ergun S. (2018) miRNAs as Potential Treatment Targets and Treatment Options in Cancer, *Mol. Diagn. Ther.*, DOI: 10.1007/s40291-017-0314-8.
- Pelosi G., Schianchi E., Dell'orto P., Veronesi G., Spaggiari L., Pasini F., Sozzi G., Brambilla E., Griso C., Viale G. (2006) Detecting cell-free circulating hTERT mRNA in the plasma may identify a subset of nonsmall cell lung cancer patients, *Virchows Arch.*, vol. 448, no 1, pp.7-15.
- Sansone P., Savini C., Kurelac I., Chang Q., Amato L. B., Strillacci A., Bromberg J. (2017) Packaging and transfer of mitochondrial DNA via exosomes regulate escape from dormancy in hormonal therapy-resistant breast cancer, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 114(43), pp.E9066-E9075.
- Sorenson G.D., Pribish D.M., Valone F.H., Memoli V.A., Bzik D.J., Yao S. (1994) Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 3, pp.67-71.
- Stroun M., Anker P., Lyautey J., Lederrey C., Maurice P.A. (1987) Isolation and characterization of DNA from the plasma of cancer patients, *European Journal of Cancer & Clinical Oncology*, vol. 23, no 6, pp. 707-712
- Sudakov N.P., Apartsin K.A., Lepekhova S.A., Nikiforov S.B., Katyshev A. Lifshits G. I., Lifshits G.I., Vybivantseva A.V., Konstantinov Y.M. (2017) The level of free circulating mitochondrial DNA in blood as predictor of death in case of acute coronary syndrome, *European Journal of Medical Research*, vol. 22, pp. 1-6.
- Snyder M.W., Kircher M., Hill A.J., Daza R.M., Shendure J. (2016) Cell-free DNA Comprises an In Vivo Nucleosome Footprint that Informs Its Tissues-Of-Origin, *Cell*, vol. 164(1-2), pp.57-68.
- Tamkovich SN, Vlasov VV, Laktionov PP (2008) Cirkuliruyushchie DNK krovi i ih ispol'zovanie v medicinskoj diagnostike [Circulating blood DNA and their use in medical diagnostics], *Molekulyarnaya biologiya*, vol.42(1), pp.12-23.
- Vasioukhin V., Anker P., Maurice P., Lyautey J., Lederrey C., Stroun M. (1994) Point mutations of the N-ras gene in the blood plasma DNA of patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukaemia, *Br. J. Haematol.*, vol. 86, pp.774- 779.
- Weerasinghe P., Buja L.M. (2012) Oncosis: an important non-apoptotic mode of cell death, *Experimental and Molecular Pathology*, vol. 93(3), pp.302-308.
- Wong B.C., Chan K.C., Chan A.T., Leung S.F., Chan L.Y., Chow K.C. and Lo Y.M. (2006) Reduced plasma RNA integrity in nasopharyngeal carcinoma patients, *Clin. Cancer. Res.*, vol. 12, pp. 2512-2516.
- Xing J., Chen M., Wood C.G., Lin J., Spitz M.R., Ma J., Amos C.I., Shields P.G., Benowitz N.L., Gu J., de Andrade M., Swan G.E., Wu X. (2008) Mitochondrial DNA content: Its genetic heritability and association with renal cell carcinoma, *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 100, pp.1104-1112.
- Yu M. (2012) Circulating cell-free mitochondrial DNA as a novel cancer biomarker: opportunities and challenges, *Mitochondrial DNA*, vol.23, no 5, pp.329-332.
- Zhang Q., Itagaki K., and Hauser C.J. (2010) Mitochondrial DNA is released by shock and activates neutrophils via p38 map kinase, *Shock*, vol. 34, pp.55-59.