

# Внеклеточная ДНК в медицине неотложных состояний

А.Д. Филев<sup>1,2</sup>, В.М. Писарев<sup>1\*</sup>

Лаборатория молекулярных механизмов критических состояний

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии»

Российская Федерация, 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

<sup>2</sup> «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова»

Российская Федерация, 115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

\* Контактная информация: Писарев Владимир Митрофанович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярных механизмов критических состояний НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНЦ РР.  
Email: [vpisarev@gmail.com](mailto:vpisarev@gmail.com)

## РЕЗЮМЕ

Для медицины неотложных состояний является актуальным поиск молекул с высокой прогностической ценностью для определения течения и исходов жизнеугрожающих состояний — сепсиса, тяжелых травм, сосудистых катастроф. Одним из перспективных биомаркеров-кандидатов (с англ.: *candidate biomarkers* — кандидатные биомаркеры) с высоким потенциалом применения в медицине неотложных и критических состояний является содержание внеклеточной ДНК (вкДНК) в плазме крови. Цель данного обзора — выявить перспективы внедрения вкДНК в клиническую медицину и трудности, возникающие на этом пути. Уровень и изменения в динамике концентрации фрагментов циркулирующей ДНК, в том числе органоспецифической фракции вкДНК, на сегодняшний день могут иметь значение для оценки степени повреждения интересующего органа, вероятности осложненного течения и прогноза исходов неотложного/критического состояния у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии. Источниками вкДНК, циркулирующих в кровотоке, могут быть ядра погибающих клеток органов и тканей, поврежденные митохондрии, пул которых обновляется в результате митофагии, а также микроорганизмы. Как патоген-ассоциированные молекулы (*PAMP*), представленные фрагментами бактериальной и вирусной ДНК, молекулы собственной ДНК, ассоциированные с повреждением (*DAMP*), связываются с толл-подобными рецепторами (*TLR9*) и внутриклеточными ДНК-сенсорами (*cGAS-STING*, *NLRP3*), инициируя запуск воспалительных процессов в тканях и нарушения гемостаза. Эти процессы носят характер и адаптивных реакций, защищающих от микроорганизмов, и дезадаптивных реакций, потенцирующих повреждения клеток органов. Происходящее усиление экспрессии генов провоспалительных сигнальных путей, ассоциированных с транскрипционным *NF-κB* и интерферон-регулирующими факторами, в свою очередь способствует продукции цитокинов и других факторов, которые усиливают стресс-реакции, нарушающие функциональную активность клеток в разных органах. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о том, что определение количественного содержания в плазме вкДНК, играющей существенную роль в патогенезе критических/неотложных состояний в качестве *PAMP* и *DAMP*, может помочь при обосновании прогноза и своевременной персонализации лечения пациентов с жизнеугрожающими состояниями и недавно их перенесших.

## Ключевые слова:

внеклеточная ДНК, критические состояния, воспаление, нарушение гемостаза

## Ссылка для цитирования

Филев А.Д., Писарев В.М. Внеклеточная ДНК в медицине неотложных состояний. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2020;9(1):96–107. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-1-96-107>

## Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов

## Благодарность, финансирование

Работа частично выполнена при поддержке Гранта РФФИ № 19-34-90072 и госзадания АААА-А19-119032090049-0 Минобрнауки РФ

АФК — активные формы кислорода  
вкДНК — внеклеточная ДНК  
ГЭБ — гемато-энцефалический барьер  
ГАМФ — циклический гуанинмонофосфат-аденинмонофосфат  
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота  
ИЛ — интерлейкин  
ИРФ — интерферон регулирующий фактор  
ИФ — интерферон  
КС — критические состояния  
СрG — динуклеотид  
мтДНК — митохондриальная ДНК  
мтДНК окси — окисленная митохондриальная ДНК  
ОИМ — острый инфаркт миокарда  
ОРИТ — отделение реанимации и интенсивной терапии

п.н. — пары нуклеотидов  
ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания  
цАМФ — циклический аденозинмонофосфат  
цГАС — циклическая гуанинмонофосфат-аденинмонофосфатсингетазы  
цГМФ — циклический гуанозинмонофосфат  
ЭР — эндоплазматический ретикулум  
8-oxodG — 8-оксо-2'-дезоксигуанозин  
DAMPs — молекулярные структуры, ассоциированные с повреждением  
NLRP3 — Nod-подобный рецептор семейства NALP  
PAMPs — патоген-ассоциированные молекулы  
STING — стимулятор генов интерферона  
TLR9 — toll-подобный рецептор 9

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на технический прогресс и модернизацию медицинского оборудования, успехи в антибиотикотерапии и применении других современных средств лечения, летальность при критических состояниях (КС) — тяжелых травмах, инсультах, остром инфаркте миокарда, остром респираторном дистресс-синдроме и других остается высокой [1–3]. Частота инфекционных осложнений КС, включая сепсис и пневмонию, по-прежнему высока, а летальность в результате их развития достигает 30–50% [4]. Исследования показывают, что значительная часть пациентов, перенесших сепсис, характеризуется различными формами неврологического дефицита, нарушениями со стороны иммунной системы и снижением продолжительности жизни [5, 6]. Для улучшения исходов критических состояний ведется поиск биомаркеров, которые позволили бы уже в ранние сроки нахождения пациента в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) выбирать оптимальные методы терапии, по возможности персонализируя лечение [7–11]. Одним из перспективных в этом отношении биомаркеров является циркулирующая в крови внеклеточная ДНК (вкДНК) [12–16].

Термин «вкДНК» включает в себя весь спектр циркулирующих фрагментов ДНК. Входящие в пул вкДНК молекулы различаются по: (1) источникам, (2) механизмам образования, (3) длине фрагментов, (4) формам циркуляции и (5) модификациям (изменениям в химической структуре вкДНК).

### ИСТОЧНИКИ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

До недавнего времени оставалось неизвестным, какие же клетки формируют пул вкДНК. Определение его источников стало возможным благодаря исследованию профиля метилирования вкДНК. Метилирование — это пострепликационное (эпигенетическое) изменение ДНК с целью блокирования или активации транскрипции генов [17]. Это достигается путем присоединения к атому углерода метильной группы в положении 5 цитозина в участках, богатых последовательностями цитозин-гуанозин (*CpG*-сайтах). Метилирование играет ключевую роль в процессах клеточной дифференцировки, определяя специфичность последней для каждого типа клеток и создавая специфическую картину метилома (совокупность метилированных по цитозину участков ДНК в геноме) [18]. Именно специфический профиль метилирования ДНК в основном и определяет набор транскрибируемых, экспрессируемых генов (то есть профиль транскриптома) в клетках данного гистологического типа или линии дифференцировки. Вследствие доступности циркулирующая ДНК представляет собой заманчивой объект для анализа. Проводятся исследования метилирования вкДНК в крови человека для определения основных тканевых (клеточных) источников ее происхождения [19–20]. Методика заключается в секвенировании фрагментов вкДНК для анализа профиля метилирования участков генов в сравнении с тканеспецифическим метиломом. По данным пилотного исследования, у здоровых людей источниками вкДНК в плазме являются лейкоциты (всего 55%, из них 32% гранулоциты, 12% лимфоциты, 11% моноциты), предшественники эритроцитов (30%), эндотелиоциты (9%), гепатоциты (1%), нейроны (1%) и другие (4%) [20]. Авторы обнаружили, что при критических состояниях, таких как сепсис, именно лейкоциты (гранулоциты) в большинстве случаев так

же вносят наибольший вклад в пул вкДНК (более 90%). При тяжелых нарушениях функций органов количество вкДНК клеток этих органов увеличивается. Была обнаружена неожиданная закономерность: при тяжелом повреждении печени возрастает количество вкДНК нейронального происхождения.

Определение содержания молекул вкДНК в плазме крови пациентов с характерной для клеток определенного гистотипа картиной метилирования несет явный потенциал характеристики локализации и оценки выраженности повреждений органов. Не исключено, что такие анализы сигнатур метилома циркулирующей ДНК в недалеком будущем станут молекулярной основой разработки ранних тестов органной недостаточности, более информативных для оценки критического состояния и прогноза его течения, чем показатели *SOFA* или другие клинические тесты, основанные на мониторинге клинических признаков нарушений функции органа или системы. Пока же лишь количественные показатели вкДНК используются в качестве перспективного кандидатного биомаркера патологических состояний организма человека [12–16].

### МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

Существует несколько точек зрения по поводу происхождения вкДНК. Основные из них — это образование пула вкДНК в результате гибели клеток (теория «клеточной гибели путем апоптоза и/или некроза»), активная секреция клетками (теория «метаболической ДНК») [21–25] и нетоз (протрузия крупных фрагментов ДНК через мембрану нейтрофилов с образованием «облака» ДНК вокруг лейкоцита, последующим отщеплением фрагментов ДНК и их высвобождением в циркулирующую кровь в результате воздействия нуклеаз) [26]. От механизма образования вкДНК, по-видимому, зависит длина образующихся фрагментов вкДНК [27]. При тяжелой травме, которая сопровождается интенсивными некротическими процессами, выделяется ДНК, практически не подвергаясь действию нуклеаз, и, таким образом, представляющая собой крупномолекулярные соединения [28, 29]. Появление таких фрагментов размером более 10 000 пар нуклеотидов (п.н.) подтверждается при электрофорезе выделенной из крови ДНК [27, 28]. Одновременно с крупномолекулярными фрагментами ДНК обнаруживаются и более короткие фракции, характерные для апоптотической гибели клеток. Апоптоз сопровождается активным процессом нуклеазного гидролиза, что приводит к накоплению в крови фрагментов ДНК длиной около 150–180 п.н., что соответствует межнуклеосомным участкам [30]. Однако показано, что существуют и промежуточные длины фрагментов ДНК от 200 до 10 000 п.н., что, вероятно, связано с действием макрофагов [27]. Показано, что апоптотические и некротические клетки захватываются макрофагами, которые переваривают погибшие и погибающие в результате некроза и апоптоза клетки; внутриклеточно их ДНК расщепляется на фрагменты с более низкой молекулярной массой, характерной для апоптоза [31]. При чрезмерной нагрузке на макрофаги может происходить их истощение, гибель и выделение в кровь фрагментов как собственной ДНК, так и частично гидролизованной ДНК фагоцитированных клеток [32].

### ФОРМА ЦИРКУЛЯЦИИ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

Внеклеточная ДНК в циркуляции может быть в свободном виде, в апоптотических тельцах и в экзосомах [33]. Экзосомы представляют особый интерес при изучении роли вкДНК. Они имеют вид везикул диаметром 0,03–0,1 мкм, которые образуются из эндоплазматического ретикула и внутриклеточно существуют в виде эндосом. Их состав может сильно варьироваться в зависимости от типа клеток и их состояния, обуславливая разнообразие функций. Ведущей функцией эндосом считается доставка веществ от одной клетки другой [34–36]. С целью чрезуточной транспортировки в состав экзосом входят белки проникновения, инвазии и слияния (*CD81*, *CD63* и *CD9*) [37]. Известно, что экзосомы переносят и нуклеиновые кислоты, в том числе и фрагменты ДНК, при этом в норме циркулирующая вкДНК преимущественно (до 93%) находится именно в ассоциированной с экзосомами форме [33].

### ИЗМЕНЕНИЯ В ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

Структурные изменения вкДНК могут иметь значение как источник дополнительной информации как для прогноза, так и для текущего состояния пациента. Изучены модификации структуры ДНК — метилирование и окисление. Известно также, что циркулирующие фрагменты вкДНК могут иметь ядерное или митохондриальное происхождение. При этом метилирование характерно только для ядерной ДНК, и именно последняя, как отмечалось, несет потенциал выявления деструктивных процессов в органах и оценки их выраженности по особенностям (сигнатурам) циркулирующего метилома ДНК [18–20]. ДНК же митохондрий остается преимущественно неметилированной [38–40].

Другие изменения характерны для обоих типов ДНК. Как ядерная, так и митохондриальная ДНК подвержены окислительным повреждениям, приводящим к образованию различных окисленных нуклеозидов. Одним из наиболее распространенных и изученных структурных повреждений вкДНК является образование 8-оксо-2'-дезоксигуанозина (8-oxodG), количественное содержание которого в циркуляции обнаруживают либо как отдельные молекулы, либо в составе вкДНК с помощью анти-8-oxodG-антител или жидкостной хроматографии высокого давления, ассоциированной с масс-спектрометрией [41–43]. Считается, что в окисленной форме вкДНК приобретает особые биологические свойства, которые способствуют активации воспалительных процессов [42, 43]. Ряд веществ может приводить к увеличению продукции активных форм кислорода и повышению окисления ДНК. К ним относят алкоголь, тяжелые и переходные металлы, органические растворители, пестициды, лекарственные препараты, например, парацетамол, ингаляционный анестетик фторотан [44, 45].

Изменения ДНК, возникающие под действием активных форм кислорода (АФК), естественно продуцируемых митохондриями и продуктами их метаболизма в ходе жизнедеятельности клетки и повышению образующихся при окислительном стрессе, включают окисление азотистых оснований, рибозы/дезоксирибозы, апуринизацию или апириимидизацию, однонитевые и двунитевые разрывы ДНК [46, 47]. Часть из них исследуется в качестве биомаркеров патологических состояний, однако сведения об информативности таких маркеров пока единичны [48, 49]. Можно

полагать, что изучение характеристик модификации вкДНК даст новую ценную информацию о состоянии пациента, поможет своевременно локализовать и оценить повреждение органов, повысит прогностическую ценность молекул вкДНК и уточнит их значение в патогенезе критических состояний.

### вкДНК – ЗВЕНО В ЦЕПИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Фрагменты вкДНК, играя роль сигнальных молекул, могут являться звеньями патогенеза критических состояний, взаимодействуя с ДНК-сенсорами — рецептором *TLR9* и молекулярными комплексами *NLRP3* и *STING* [12] (схема).

### TLR9 – ОСНОВНОЙ ДНК-СЕНСОР

Клетки системы врожденного иммунитета с помощью специфических рецепторов распознают патоген-ассоциированные молекулы (*pathogen-associated molecular patterns*, *PAMPs*), образующиеся в процессе жизнедеятельности микроорганизмов или высвобождающиеся при их гибели. Это приводит и к активации клеток, и к запуску молекулярных механизмов, направленных на гибель инфекционного агента. Подобные процессы инициируются в клетках иммунной системы и под воздействием структурно иных молекул — неинфекционной природы, которые образуются при нарушении целостности эукариотических клеток или их структур. Такие молекулы получили название молекулярных структур, ассоциированных с повреждением (*damage-associated molecular patterns*, *DAMPs*). Значительным источником таких структур — *DAMPs* — при нарушениях функций органа являются митохондрии. К ним относят *N*-формил пептиды, *TFAM*, липиды, кардиолипиды, сукцинаты, АТФ и фрагменты митохондриальной ДНК [50]. Такие молекулы способны, аналогично *PAMPs*, связываться с рецепторами из семейства толл-подобных рецепторов (*toll-like receptors*, *TLR*) и инициировать иммунный ответ. Обилие стимулирующих клетки иммунной системы молекул митохондриального происхождения и их функциональная схожесть с молекулами *PAMP*, возможно, обусловлены бактериальным происхождением митохондрий [51].

Основная функция митохондрий — это синтез значительного количества энергетически емких молекул АТФ для обеспечения необходимых в данный временной интервал и в данном микроокружении метаболических процессов клетки. Дополнительно эти органеллы участвуют в регуляции программируемой клеточной гибели, обмене кальция, образовании и контроле продукции активных форм кислорода [38, 52, 53]. Другими словами, митохондрии способствуют поддержанию гомеостаза всей клетки.

Поэтому не удивительно, что митохондрии обладают еще и сигнальной функцией — высвобождать при собственном повреждении в цитозоль и межклеточное пространство сигналы для окружающих клеток о потенциальной опасности распространения повреждения. Такие сигналы носят не столько информативный, а, скорее, инструктивный характер, способствуя активации механизмов, направленных на устранение структурных и функциональных дефектов клеток и восстановление гомеостаза [54]. Как это осуществляется?

Известно, что молекулы ДНК способны связываться с рецепторами ДНК — молекулами *TLR9* — участками, содержащими многочисленные неметилированные CpG мотивы [55]. Митохондриальная ДНК (мтДНК), а также бактериальная и вирусная ДНК, в отличие от ядерной, неметилирована или гипометилирована [39, 40, 56–58]. Таким образом, в качестве основного собственного лиганда для рецепторов *TLR9* должна выступать мтДНК. *L. Zhang et al.* (2016) решили проверить, различаются ли у мышей эффекты от введения мтДНК от ядерной ДНК [50]. Авторы показали, что ядерная ДНК практически не обладала провоспалительным действием, в то время как мтДНК способствовала развитию воспаления и острого повреждения легких [50]. Различия в провоспалительных эффектах метилированных и неметилированных фрагментов ДНК могли заключаться не в избирательности связывания с рецептором *TLR9*, а в отсутствие возможности метилированных фрагментов вступать во взаимодействие с рецептором [55]. Авторы показали, что захват обоих молекул в эндосомы идет одинаково, однако лишь неметилированные фрагменты вкДНК способны обеспечить эффективный перенос рецептора *TLR9* из эндоплазматического ретикулума в поздние эндосомы.

#### МАСТЕР-РЕГУЛЯТОР ВОСПАЛЕНИЯ *NLRP3* ИНФЛАММАСОМЫ

Инфламмосома — это комплекс белков, участвующий в процессе апоптоза и воспаления [59]. Показана ее активация при травме головного мозга, нейроинфекции, инсульте и нейродегенерации [50–54, 60–62]. В недавно опубликованной работе авторы провели серию

экспериментов по изучению роли *NLRP3*-инфламмосомы при действии вкДНК как *in vitro*, так и *in vivo* [43]. В качестве животной модели выбраны мыши (дикого типа и нокаутных по ряду генов) и макрофаги костного мозга мышей (также дикого типа и с дефектными генами). По результатам можно выстроить сигнальный путь, в котором ключевую роль играют фрагменты окисленной митохондриальной ДНК (схема).

1. Активация рецепторов *TLR2*, *TLR3* и *TLR4* приводит к активации интерферон-регулирующего фактора 1 (ИРФ1).

2. ИРФ1, являясь фактором транскрипции, активирует экспрессию белка *СМРК2* (цитозинмонофосфаткиназа 2). Это единственный фермент из группы катализирующих фосфорилирование нуклеотидмоно- и дифосфатов до нуклеотидтрифосфатов — субстрата для синтеза мтДНК.

3. При участии белка *TFAM* происходит синтез мтДНК полимеразой гамма. Далее также при участии белка *TFAM* увеличивается продукция АФК митохондрией (мтАФК), приводящее к окислению мтДНК (мтДНКокси). Далее под действием эндонуклеазы мтДНКокси фрагментируется и выходит из митохондрии в цитозоль.

4. мтДНКокси связывается с *NLRP3* инфламмосомами.

5. Комплекс мтДНКокси и *NLRP3* инфламмосомы активирует каспазу 1.

6. Каспаза 1 гидролизует про-ИЛ1β до ИЛ1β, запуская воспалительный ответ.

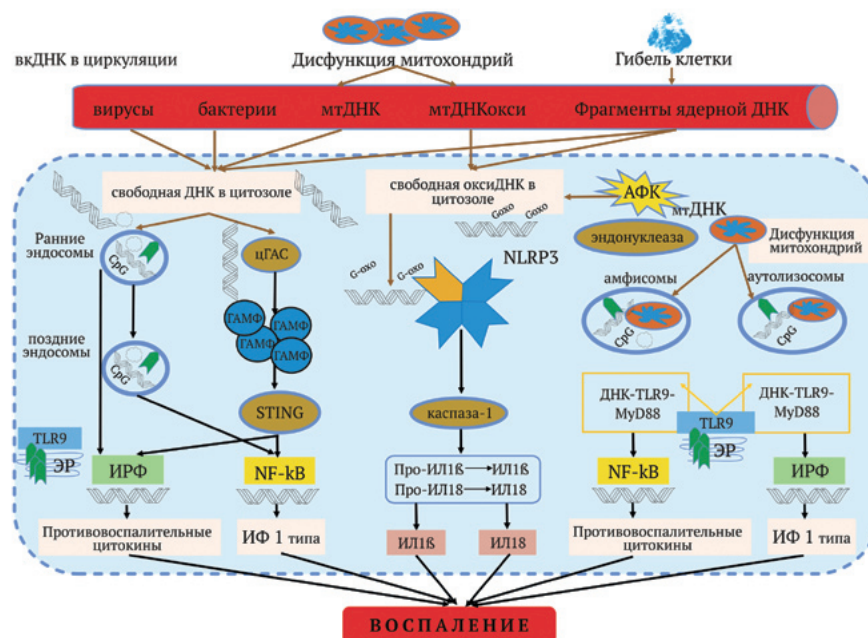


Схема. Активация системы воспаления фрагментами свободных (внеядерных) молекул ДНК в цитозоле. Коричневыми стрелками показано перемещение фрагментов ДНК; черными стрелками показаны сигнальные пути; желтыми стрелками показано перемещение рецептора *TLR9*. вкДНК — внеклеточная ДНК; мтДНК — митохондриальная ДНК; мтДНКокси — окисленная митохондриальная ДНК; ИЛ — интерлейкин; ИРФ — интерферон-регулирующий фактор; цГАС — циклическая гуанинмонофосфат-аденинмонофосфатсинтетаза; ГАМФ — циклический гуанинмонофосфат-аденинмонофосфат; *NLRP3* — *Nod*-подобный рецептор семейства *NALP*; АФК — активные формы кислорода; *TLR9* — *toll*-подобный рецептор 9; ИФ — интерферон; ЭР — эндоплазматический ретикулум; *STING* — стимулятор генов интерферона. Brown arrows indicate the movement of DNA fragments; black arrows show signaling paths; yellow arrows indicate *TLR9* receptor movement; cfDNA, cell-free DNA; mtDNA, mitochondrial DNA; ox-mtDNA, oxidized mitochondrial DNA; IL, interleukin; IRF, interferon regulatory factor; cGAS, cyclic guanine monophosphate adenine monophosphate synthetase; GAMP, cyclic guanine monophosphate-adenine monophosphate; *NLRP3*, Nod-like receptor of the *NALP* family; ROS, reactive oxygen species; *TLR9*, toll-like receptor 9; IF, interferon; ER, endoplasmic reticulum; *STING*, interferon gene stimulator

Показано, что окисленные фрагменты ядерной или искусственно синтезированной ДНК тоже способны активировать белок *NLRP3* инфламмосомы.

### СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ *cGAS-STING*

Собственные или попавшие извне (бактериальные или вирусные) свободные фрагменты ДНК в цитозоле способны связываться с еще одним ДНК-сенсором — *cGAS* (циклический аденозинмонофосфат – циклический гуанозинмонофосфат (цАМФ-цГМФ) синтетаза) [63]. После взаимодействия фермент изменяет свою конформацию и активируется, что приводит к синтезу циклических цАМФ-цГМФ, лиганда белка эндоплазматического ретикулума *STING* (белок, стимулирующий экспрессию генов интерферона) через интерферон регулирующий фактор 3 (ИРФ3) и *NF-κB*. ИРФ3 и *NF-κB*, связываясь с определенными участками ядерной ДНК, стимулируют транскрипцию генов интерферона 1-го типа провоспалительных интерлейкинов соответственно (см. схему).

### ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК ПРИ КРИТИЧЕСКИХ И НЕОТЛОЖНЫХ СОСТОЯНИЯХ

Внеклеточная ДНК является биомаркером клеточного повреждения при различных состояниях, при которых может происходить многократное увеличение ее концентрации в плазме относительно здоровых доноров. Такое повышение наблюдается при критических состояниях, таких как тяжелая травма, сепсис, при сосудистых катастрофах, а также физиологических и пограничных состояниях, в том числе при физической нагрузке и остром и хроническом психоэмоциональном стрессе [49, 64–70].

### СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ (ССЗ)

Сердечно-сосудистые заболевания по данным ВОЗ стоят на первом месте по причине смертности в мире. Ежегодно они уносят 17,7 млн жизней, что составляет 31% от общей смертности. Наиболее распространенными причинами гибели пациентов при ССЗ являются болезнь коронарных артерий (7,4 млн) и ишемический инсульт (6,7 млн).

### ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ

Ишемический инсульт — это острое прекращение или значительное уменьшение кровообращения головного мозга, сопровождающееся внезапным расстройством функций головного мозга [69]. Причинами могут быть образование тромба в артерии, эмболия и тяжелые гемодинамические нарушения [72–73]. Зона поражения развивается постепенно. Быстро формируется ядро очага поражения (некроза), что соответствует зоне кровоснабжения поврежденной артерии. Постепенно зона поражения расширяется с образованием «полутени», пенумбры. Продукты повреждения клеток выделяются в межклеточное пространство. Далее, для поступления в кровоток вещества должны пройти через труднопроницаемый гемато-энцефалический барьер (ГЭБ). ГЭБ состоит из клеток эндотелия, перicyтов, астроцитов, нейронов и внеклеточного матрикса. Клетки эндотелия плотно прилегают друг к другу, обладая минимальной способностью к пиноцитозу, и способствуют избирательному транспорту веществ в микроокружение клеток головного мозга [74–75]. При ишемии клетки ГЭБ подвергаются воздействию гипоксии, лактатацидоза, гипогликемии, что запускает каскад процессов, приводящих к разрушению связей между компонентами нейрососудистой

единицы за счет дисфункции клеток эндотелия и повышению проницаемости ГЭБ [75–78]. Нарушение целостности ГЭБ ведет к увеличенному транспорту веществ и клеток как к веществу головного мозга, так и от него в кровь. Поступающие в циркуляцию вещества исследуются как биомаркеры тяжести и прогноза исходов ишемического инсульта, но их чувствительность и специфичность остаются недостаточными [7]. Принимая во внимание происходящую гибель клеток в зоне ишемии и выделение ими молекул и фрагментов ДНК в интерстиций, вкДНК может использоваться в качестве биомаркера инсульта. Показано, что концентрация вкДНК при ишемическом инсульте статистически значимо возрастает в день сосудистой катастрофы и у относительно здоровых доноров остается повышенной до 30 дней ( $p < 0,001$ ) [64, 65, 67]. Изменения концентрации циркулирующих фрагментов ДНК позволяют со статистической значимостью дифференцировать ишемический инсульт с инсультоподобными состояниями (судороги, осложненные мигрени и другие состояния, вызывающие патологические неврологические симптомы) ( $AUC = 0,857$ ,  $p < 0,001$ ) [66]. Авторы указывают на статистическую значимую связь количества циркулирующей ДНК с объемом повреждения головного мозга, установленную в экспериментальных моделях ( $R = 0,78$ ,  $p < 0,0001$ ) [80].

Для улучшения прогноза пациентов с ишемическим инсультом проводится восстановление проходимости окклюзированной артерии с целью уменьшения зоны некроза и пенумбры [81]. При этом отдаленные (более 3 месяцев) неврологические исходы неоднозначны и коррелируют с концентрацией вкДНК после реканализации [82]. Возобновление кровотока может приводить к реперфузионному синдрому, что способствует дополнительному повреждению ткани головного мозга, а также структур ГЭБ [76–79], а это может в свою очередь потенцировать увеличение содержания вкДНК в плазме. Дополнительно выяснено, что проведение реперфузии сопряжено с рядом противопоказаний, таких как позднее прибытие в стационар (пациенты вне терапевтического окна), судороги в дебюте ишемического инсульта, гипертонический криз, низкие баллы по шкале *NIHSS*, недавние оперативные вмешательства и пожилой возраст [8, 81, 83]. С наличием таких критериев (основной из которых — поздние сроки начала терапии) связана низкая доля проведения реперфузии в развитых странах — менее 15% [83]. В отсутствие восстановления кровотока в ишемизированной области развивается классическая картина инсульта, описанная ранее. Клетки в зоне ядра и пенумбры погибают, выбрасывая фрагменты ДНК в окружение. Считается, что механизмы клеточной гибели при инсульте различны. Так, для первой зоны характерен некроз, а для зоны «тени» — апоптоз [74]. При некрозе образуются высокомолекулярные фрагменты ДНК, содержащие более 10 000 п.н., тогда как при апоптозе образуются значительно меньшие фрагменты (□150 п.н.) [28–30]. Накопление в крови высокомолекулярных молекул ДНК может влиять на реологические свойства крови и нарушать процессы тромболизиса [8, 65].

### ОСТРЫЙ ИНФАРКТ МИОКАРДА

Острый инфаркт миокарда (ОИМ) — это критическое состояние, возникающее вследствие острого нарушения кровообращения в сердечной мышце в результате критического сужения просвета сосуда в бассейне коронарных артерий [84]. В настоящее

время в качестве золотого стандарта для диагностики ОИМ используется определение концентрации в крови кардиоспецифического тропонина [85]. Однако у некоторых пациентов, в том числе реаниматологического профиля, чувствительность тропонинового теста может быть снижена. Ложноположительный тест возможен при физической нагрузке, сепсисе, почечной недостаточности (в связи с нарушением клиренса) и приеме кардиотоксичных препаратов [9, 85–88]. Другим недостатком метода является короткий период информативности тропонина после сосудистой катастрофы, в связи с чем необходим поиск дополнительных биомаркеров ОИМ [85]. *Jin Xie et al.* (2018) проследили динамику концентрации вкДНК у пациентов с ОИМ в течение двух периодов: первых 5 дней и далее до 5 месяцев [89]. В качестве контрольной группы были выбраны здоровые доноры, а групп сравнения — пациенты с хроническими сердечно-сосудистыми заболеваниями. По наличию осложнений всех пациентов разделили на 2 группы: с осложнениями — стенокардия, аритмия, повторный инфаркт миокарда (группа 1) и без осложнений (группа 2). В первые 5 суток у всех пациентов с ОИМ наблюдалось 5–10-кратное увеличение концентрации вкДНК относительно таковой у здоровых доноров (группа сравнения), при этом в первой группе значение содержания вкДНК оказалось статистически значимо выше в 1,8 раза ( $p < 0,001$ ). Результаты определения концентрации вкДНК в последующие 5 месяцев авторы соотносили в группах 1 и 2 между собой и к значениям, полученным в контрольной группе. В последних на протяжении 5 месяцев наблюдались лишь незначительные колебания уровня вкДНК ( $p > 0,05$ ). У пациентов, перенесших ОИМ, динамика вкДНК оказалась различна. Так, в группе 1 концентрация вкДНК оставалась повышенной относительно ее значения в группе сравнения и выше относительно группы 2 ( $p = 0,001$ ), в которой она за 3 месяца снижалась до уровня, выявляемого у пациентов с хроническими заболеваниями сердца. Таким образом, данные этой работы указывают на возможность использования вкДНК для прогнозирования исходов ОИМ с более широким временным интервалом. *Hai Zemmour et al.* (2018) подтверждают, что ОИМ сопровождается повышением концентрации в крови общей вкДНК, но чувствительность этого теста по сравнению с тропониновым оказалась ниже [85]. Для увеличения специфичности определения вкДНК при ОИМ авторы по разработанной ими ранее технологии оценили вклад фрагментов ДНК погибших кардиомиоцитов в общий пул вкДНК в первые 56 часов после возникновения ОИМ [85]. Определение концентрации вкДНК кардиомиоцитов при ОИМ обладало высокой чувствительностью и специфичностью ( $AUC = 0,94$ ,  $p < 0,0001$ ) и сходно с данными тропонинового теста ( $r = 0,79$ ,  $p < 0,0001$ ) (статистически значимо в обоих случаях). Вероятно, что определение концентрации не только общей вкДНК у пациентов, перенесших ОИМ, но и специфической ДНК кардиомиоцитов в постинфарктном периоде даст дополнительную информацию о клеточных процессах, происходящих в сердечной мышце и организме в целом.

### СЕПСИС

Сепсис является жизнеугрожающим состоянием, возникающим в результате нарушения функции

органов вследствие дезадаптации ответа организма на инфекционный процесс (Сепсис-3). При развитии нарушений циркуляции, клеточной или метаболической дисфункции возникает септический шок, который еще более увеличивает риск смертельного исхода — до 60% и более [5, 90, 91]. Исследования показывают, что у значительной части выписанных пациентов, перенесших сепсис, отмечается снижение качества жизни, они страдают неврологическими расстройствами и обладают иммуносупрессорным статусом [6]. Фрагменты вкДНК в настоящее время рассматриваются с двух сторон: (1) как биомаркер и (2) как элемент патогенеза сепсиса.

*Rannikko et al.* (2018) была определена прогностическая значимость циркулирующей в плазме ДНК при сепсисе [69]. В исследование вошли 469 пациентов с сепсисом. Так, уровень вкДНК пациентов, умерших к 7-м суткам, был статистически значимо выше в течение этого времени ( $p < 0,001$ ,  $p = 0,017$ ). Авторами выявлена статистически значимая ассоциация между концентрацией вкДНК и летальностью к 7-м ( $OR = 7,7$  (95%  $CI$  3,9–15,3),  $AUC = 0,73$  (95%  $CI$  0,65–0,82,  $p < 0,001$ ) и 28-м суткам ( $OR = 6,8$  (95%  $CI$  3,9–11,8),  $AUC = 0,721$  (0,65–0,79)  $p < 0,001$ ). Полученные результаты были подтверждены в других исследованиях [92–93]. Механизмы такой корреляции до настоящего времени точно не установлены, однако предполагается, что они представляют собой отражение патогенетических закономерностей развития сепсиса как инфекционного жизнеугрожающего системного состояния.

Причиной развития сепсиса является поступление микроорганизмов и их токсинов в кровоток. Под действием чужеродных веществ запускается неконтролируемый процесс воспаления и коагулопатии. Нарушение свертываемости крови приводит к тромбозу сосудов микроциркуляторного русла, полиорганной недостаточности, что ассоциировано с высокой летальностью [94–95]. Другое патогенетическое звено сепсиса связано с действием активированных продуктами бактерий лейкоцитов, их адгезией на эндотелии сосудов, продуцированием ими АФК, повреждающих структуру эндотелия и вызывающих расстройства микроциркуляции с развитием перфузионных нарушений и вторичным окислительным стрессом в клетках, страдающих от недостатка кислорода. Для поиска места вкДНК в путях патогенеза сепсиса *Schneck et al.* (2017) рассмотрели ее влияние на систему гемостаза [70]. Оказалось, что при повышении концентрации вкДНК сокращается время свертывания и нарушается процесс фибринолиза. Есть данные, уточняющие молекулярные механизмы вкДНК, которые приводят к коагулопатии при сепсисе [96]. Под действием ДНКазы 1 нейтрофильные внеклеточные ловушки, образованные благодаря протрузии ДНК сквозь мембрану лейкоцитов, разрушаются (нетоз), и фрагменты вкДНК и гистонов высвобождаются, попадая в циркулирующую кровь. Последние, в свою очередь, активируют синтез тромбина тромбоцитами. В последующей работе тем же коллективом авторов исследовано влияние вкДНК на противосвертывающее звено гемостаза [60]. Выяснилось, что высокий уровень вкДНК приводит к снижению активности фибринолиза. Так, в эксперименте *in vitro* в присутствии высокой концентрации вкДНК (30–40 мкг/мл) продолжительность лизиса тромба статистически значимо увеличивалась в 5 раз ( $p < 0,001$ ). При этом, по данным электронной микроскопии, тромб, пронизанный нитями вкДНК, уплотняется. Учитывая, что

размеры вкДНК могут сильно варьировать — от 150 п. н. (при апоптозе) до более 10 000 п.н. (при нетозе и некрозе), исследовали влияние длины фрагментов на длительность лизиса тромба. Получили, что короткие фрагменты (менее 150 п.н.) на тромболитический не влияют. Только длинные (более 10 000 п.н.) фрагменты вкДНК были способны связываться с плазмином и фибрином, препятствуя тромболитическому. Так, длительность лизиса тромба, опосредованного тканевым активатором плазминогена, увеличивалась в 2 раза ( $p=0,002$ ), плазмином — в 1,7 раза ( $p<0,001$ ), а разрушение альфа-цепи фибрина замедлялось в 3 раза ( $p<0,001$ ). При обработке кровяного сгустка ДНКазой *in vitro* скорость разрушения тромба восстанавливалась. В другой работе при исследовании терапевтического применения ДНКазы 1 в модели абдоминального сепсиса *in vivo* ожидалось, что ферментативное расщепление избыточного количества вкДНК будет иметь положительный эффект. Это оказалось справедливым при отсроченном — на 4–6 часов — введении фермента [61]. Увеличение этого промежутка до 24 часов, однако, не оказывало положительного эффекта на выживание [62]. Терапия ДНКазой в первые 2 часа приводила к повышению содержания в крови провоспалительных интерлейкинов (*IL6* и *IL10*) и большей гибели животных. Таким образом, повышение концентрации вкДНК при сепсисе, в том числе длинных фрагментов и гистонов, выделяющихся при нетозе, оказывает прокоагуляционный эффект, что может способствовать неблагоприятному исходу сепсиса. Гидролиз же вкДНК у таких пациентов, скорее всего, несет терапевтический потенциал, возможностям которого еще предстоит верификация в клинических исследованиях.

#### ПРОБЛЕМЫ НА ПУТИ ПРИМЕНЕНИЯ вкДНК В КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

Несмотря на наличие ассоциаций между концентрацией общей вкДНК и исходом патологических состояний количественное определение вкДНК в качестве полноценного диагностического и прогностического биомаркера таких состояний в клинической медицине пока не используется. Имеющиеся результаты исследований позволяют полагать, что вкДНК является все еще биомаркером-кандидатом («кандидатным биомаркером»). Этому статусу в большей мере способствуют переменные данные о «нормальной» концентрации вкДНК. Авторы различных публикаций приводят цифры, характеризующие содержание вкДНК в отношении «нормы», которые составляют от нескольких до ~1200 нг/мл [13, 14, 49, 64–71, 89, 97]. Источников такой вариативности можно выделить несколько. (1) Содержание вкДНК может в несколько раз повыситься

у здорового человека в зависимости от физической или эмоциональной нагрузки, а через короткое время (около 60 минут) вернуться к исходному значению [68]. В таких случаях авторы методично подходят к набору контрольной группы, минимизируя стрессовое воздействие на доноров перед забором крови (использование заранее установленного венозного катетера, физический и эмоциональный покой за 30 минут и т.п.). (2) В настоящее время существует многообразие (при отсутствии стандартных методов) подходов к количественному определению и выделению вкДНК: количественная полимеразная цепная реакция, спектрофотометрическое или флуориметрическое определение ее концентрации, экстракция вкДНК из плазмы колоночным методом или органическими растворителями [97]. (3) Образцы, из которых выделяется ДНК, — плазма или сыворотка, особенность забора, длительность и условия хранения — все это вносит свой вклад в вариативность концентрации вкДНК [97]. Поэтому при анализе результатов авторы используют данные собственной контрольной группы, которые соотносят с испытываемой. Целесообразность разработки и введения обоснованного стандарта (стандартов) для анализа вкДНК в настоящее время является несомненной.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Благодаря своей способности накапливаться в кровотоке при повреждениях клеток организма и инициировать рецептор-опосредованные сигнальные процессы, вкДНК может выступать в качестве **патогенетически значимого биомаркера критических и неотложных состояний в медицине** и являться ключевым звеном в развитии и защитных, и повреждающих воспалительных реакций у пациентов реаниматологического профиля. Исследование характеристик вкДНК, таких как первичная структура (последовательность нуклеотидов), специфический профиль метилирования, динамика накопления в циркуляции и наличие окислительных модификаций могут позволить оценить выраженность повреждений интересующего органа и осуществить прогноз заболевания. Получение новых данных о сигнальных функциях молекул вкДНК, включая ее структурно-модифицированные варианты, и влиянии вкДНК на систему гемостаза имеет существенный потенциал в плане выяснения ключевых механизмов развития неотложных состояний и разработки новых подходов к персонализированному лечению пациентов. Верификация прогностической ценности вкДНК при различных критических состояниях, включая жизнеугрожающие инфекционные осложнения, позволит своевременно решить эту задачу.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Кузовлев А.Н., Гречко А.В. Ингаляционные антибиотики в реаниматологии: состояние проблемы и перспективы развития. *Общая реаниматология*. 2017;13(5):69–84. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2017-5-69-84>
- Востриков В.А., Кузовлев А.Н. Общедоступная дефибрилляция при внезапной остановке сердца. *Общая реаниматология*. 2018;14(1):58–67. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2018-1-58-67>
- Jabaley CS, Blum JM, Groff RF, O'Reilly-Shah VN. Global trends in the awareness of sepsis: insights from search engine data between 2012 and 2017. *Crit Care*. 2018;22(1):7. PMID: 29343292 <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1914-8>
- Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term Cognitive Impairment and Functional Disability Among Survivors of Severe Sepsis. *JAMA*. 2010; 304(16):1787–1794. PMID: 20978258 <https://doi.org/10.1001/jama.2010.1555>
- Gaudry S, Messika J, Ricard JD, Guillo S, Pasquet B, Dubief E, et al. Patient-important outcomes in randomized controlled trials in critically ill patients: a systematic review. *Ann Intensive Care*. 2017;7(1):28. PMID: 28271450 <https://doi.org/10.1186/s13613-017-0243-z>
- Jickling GC, Sharp FR. Blood biomarkers of ischemic stroke. *Neurotherapeutics*. 2011;8(3):349–360. PMID: 21671123 <https://doi.org/10.1007/s15311-011-0050-4>
- Писарев В.М., Чумаченко А.Г., Филев А.Д., Ершова Е.С., Костюк С.В., Вейко Н.Н., и др. Комбинация молекулярных биомаркеров ДНК в прогнозе исхода критических состояний. *Общая реаниматология*. 2019;15(3):31–47. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-3-31-47>
- Roca E, Nescolarde L, Lupón J, Barallat J, Januzzi JL, Liu P, et al. The Dynamics of Cardiovascular Biomarkers in non-Elite Marathon Runners. *J Cardiovasc Transl Res*. 2017;10(2):206–208. PMID: 28382580 <https://doi.org/10.1007/s12265-017-9744-2>
- Дмитриева И.Б., Белобородова Н.В., Черневская Е.А. Биомаркеры прокальцитонин и белок S100β в клинико-лабораторном мониторинге при критических состояниях новорожденных. *Общая реаниматология*. 2019;15(3):31–47. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-3-31-47>

- ниматология. 2013;9(3):58–65. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-58>
10. Boyapati RK, Tamborska A, Dorward DA, Ho GT. Advances in the understanding of mitochondrial DNA as a pathogenic factor in inflammatory diseases. *F1000Res*. 2017;6:169. PMID: 28299196 <https://doi.org/10.12688/f1000research.10397.1>
  11. Тамакович С.Н., Власов В.В., Лактионов П.П. Циркулирующие дезоксирибонуклеиновые кислоты крови и их использование в медицинской диагностике. *Молекулярная биология*. 2008;42(1):12–23.
  12. Хубутия М.Ш., Шабанов А.К., Скулачев М.В., Булава Г.В., Савченко И.М., Гребенников О.А. и др. Митохондриальная и ядерная ДНК у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой. *Общая реаниматология*. 2013;9(6):24–35. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-24>
  13. Мороз В.В., Мягкова Е.А., Жанатаев А.К., Рябов Г.А., Остапченко Д.А., Дурнев А.Д., и др. Повреждения ДНК и процессы клеточной гибели лейкоцитов у пострадавших с тяжелой травмой. *Общая реаниматология*. 2014;10(4):11–36. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2014-4-11-36>
  14. Козлов В.А. Свободная внеклеточная ДНК в норме и при патологии. *Медицинская иммунология*. 2013;15(5):399–412. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2013-5-399-412>
  15. Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38(1):23–38. PMID: 22781841 <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>
  16. Suelves M, Carrió E, Núñez-Álvarez Y, Peinado MA. DNA methylation dynamics in cellular commitment and differentiation. *Brief Funct Genomics*. 2016;15(6):443–453. PMID: 27416614 <https://doi.org/10.1093/bfpg/elw017>
  17. Lehmann-Werman R, Neiman D, Zemmour H, Moss J, Magenheim J, Vaknin-Dembinsky A, et al. Identification of tissue-specific cell death using methylation patterns of circulating DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113(13):E1826–54. PMID: 26976580 <https://doi.org/10.1073/pnas.1519286113>
  18. Moss J, Magenheim J, Neiman D, Zemmour H, Loyfer N, Korach A, et al. Comprehensive human cell-type methylation atlas reveals origins of circulating cell-free DNA in health and disease. *Nat Commun*. 2018;9(1):5068. PMID: 30498206 <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07466-6>
  19. Pisetsky DS. The origin and properties of extracellular DNA: from PAMP to DAMP. *Clin Immunol*. 2012;144(1):32–40. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2012.04.006>
  20. Peters DL, Pretorius PJ. Origin, translocation and destination of extracellular occurring DNA — a new paradigm in genetic behavior. *Clin Chim Acta*. 2011;412(11–12):806–11. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.01.026>
  21. Gahan PB, Anker P, Stroun M. Metabolic DNA as the origin of spontaneously released DNA? *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1137:7–17. <https://doi.org/10.1196/annals.1448.046>
  22. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532–1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
  23. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*. 2007;176(2):231–41. <https://doi.org/10.1083/jcb.200606027>
  24. Jorch SK, Kubers P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med*. 2017;23(5):279–287. PMID: 28267716 <https://doi.org/10.1038/nm.4294>
  25. Ermakov AV, Kostyuk SV, Konkova MS, Egorina NA, Malinovskaya EM, et al. Extracellular DNA fragments. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1137:41–46. PMID: 18837923 <https://doi.org/10.1196/annals.1448.024>
  26. Vander Vaart M, Pretorius PJ. The origin of circulating free DNA. *Clin Chem*. 2007;53(12):2215. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.092734>
  27. Swarup V, Rajeswari MR. Circulating (cell-free) nucleic acids—a promising, non-invasive tool for early detection of several human diseases. *FEBS Lett*. 2007;581(5):795–799. PMID: 17289032 <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.01.051>
  28. Zhivotosky B, Orrenius S. Assessment of apoptosis and necrosis by DNA fragmentation and morphological criteria. *Curr Protoc Cell Biol*. 2001;Ch18:18.3.1–18.3.23. PMID:18228342 <https://doi.org/10.1002/0471143030.cb1803s12>
  29. Verhoven B, Schlegel RA, Williamson P. Mechanisms of phosphatidylserine exposure, a phagocyte recognition signal, on apoptotic T lymphocytes. *J Exp Med*. 1995;182(5):1597–1601. PMID: 7595231 <https://doi.org/10.1084/jem.182.5.1597>
  30. Radic M, Marion TN. Neutrophil extracellular chromatin traps connect innate immune response to autoimmunity. *Semin Immunopathol*. 2013;35(4):465–480. PMID: 23595413 <https://doi.org/10.1007/s00281-013-0376-6>
  31. Fernando MR, Jiang C, Krzyzanowski GD, Ryan WL. New evidence that a large proportion of human blood plasma cell-free DNA is localized in exosomes. *PLoS One*. 2017; 12(8):e0183915. PMID: 28850588 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183915>
  32. Anitei M, Wassmer T, Stange C, Hoflack B. Bidirectional transport between the trans-Golgi network and the endosomal system. *Mol Membr Biol*. 2010;27(8):445–456. PMID: 21054155 <https://doi.org/10.3109/09687688.2010.522601>
  33. Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, Liejendekker R, Harding CV, Melief CJ, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med*. 1996;183(3):1161–1172. PMID: 8642258 <https://doi.org/10.1084/jem.183.3.1161>
  34. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*. 2007;9(6):654–659. PMID: 17486113 <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
  35. MacKenzie A, Wilson HL, Kiss-Toth E, Dower SK, North RA, Surprenant A, et al. Rapid secretion of interleukin-1beta by microvesicle shedding. *Immunity*. 2001;15(5):825–835. PMID: 11728343 [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(01\)00229-1](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(01)00229-1)
  36. Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health. *Cell*. 2012;148(6):1145–1159. PMID: 22424226 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.035>
  37. Hong EE, Okitsu CY, Smith AD, Hsieh CL. Regionally specific and genome-wide analyses conclusively demonstrate the absence of CpG methylation in human mitochondrial DNA. *Mol Cell Biol*. 2013;33(14):2683–2690. PMID: 23671186 <https://doi.org/10.1128/MCB.00220-13>
  38. Shock LS, Thakkar PV, Peterson EJ, Moran RG, Taylor SM, et al. DNA methyltransferase 1, cytosine methylation, and cytosine hydroxymethylation in mammalian mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(9):3630–3635. PMID: 21321201 <https://doi.org/10.1073/pnas.1012311108>
  39. Di Carlo M, Giacomazza D, Picone P, Nuzzo D, San Biagio PL. Are oxidative stress and mitochondrial dysfunction the key players in the neurodegenerative diseases? *Free Radic Res*. 2012;46(11):1327–1338. PMID: 22817279 <https://doi.org/10.3109/10715762.2012.714466>
  40. Shimada K, Crother TR, Karlin J, Dagvadorj J, Chiba N, Chen S, et al. Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis. *Immunity*. 2012;36(3):401–414. PMID: 22342844 <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.01.009>
  41. Zhong Z, Liang S, Sanchez-Lopez E, He F, Shalpour S, Lin XJ, et al. New mitochondrial DNA synthesis enables NLRP3 inflammasome activation. *Nature*. 2018;560(7717):198–203. PMID: 30046112 <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0372-z>
  42. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem*. 2015;30(1):11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
  43. Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*. 2009;461(7267):1071–1078. PMID: 19847258 <https://doi.org/10.1038/nature08467>
  44. Hegde ML, Hazra TK, Mitra S. Early Steps in the DNA Base Excision/Single-Strand Interruption Repair Pathway in Mammalian Cells. *Cell Res*. 2008;18(1):27–47. PMID: 18166975 <https://doi.org/10.1038/cr.2008.8>
  45. Hegde ML, Izumi T, Mitra S. Oxidized Base Damage and Single-Strand Break Repair in Mammalian Genomes: Role of Disordered Regions and Posttranslational Modifications in Early Enzymes. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2012;110:123–153. PMID: 22749145 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387665-2.00006-7>
  46. Jaruga P, Rozalski R, Jawien A, Migdalski A, Olinski R, Dizdaroğlu M. DNA damage products (5'R)- and (5'S)-8,5'-cyclo-2'-deoxyadenosines as potential biomarkers in human urine for atherosclerosis. *Biochemistry*. 2012;51(9):1822–1824. PMID: 22360777 <https://doi.org/10.1021/bi201912c>
  47. Filev AD, Shmarina GV, Ershova E, Veiko NN, Martynov AV, Borzikova MA, et al. Oxidized Cell-Free DNA Role in the Antioxidant Defense Mechanisms under Stress. *Hindawi. Oxid Med Cell Longev*. 2019(4):1–13. PMID: 31360293 <https://doi.org/10.1155/2019/1245749>
  48. Zhang L, Deng S, Ai Y, Zhang L, Pan P, et al. Intra-Peritoneal Administration of Mitochondrial DNA Provokes Acute Lung Injury and Systemic Inflammation via Toll-Like Receptor 9. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9). pii: E1425. PMID: 27589725 <https://doi.org/10.3390/ijms17091425>
  49. Pallen MJ. Time to recognise that mitochondria are bacteria? *Trends Microbiol*. 2011;19(2):58–64. PMID: 21123072 <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.11.001>
  50. Gunter TE, Buntinas L, Sparagna GC, Gunter KK. The Ca<sup>2+</sup> transport mechanisms of mitochondria and Ca<sup>2+</sup> uptake from physiological-type Ca<sup>2+</sup> transients. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1366(1–2):5–15. PMID: 9714709 [https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(98\)00117-0](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(98)00117-0)
  51. Hockenbery D, Nuñez G, Millman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ, et al. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature*. 1990;348(6299):334–336. PMID: 2250705 <https://doi.org/10.1038/348334a0>
  52. Rodríguez-Nuevo A, Zorzano A. The sensing of mitochondrial DAMPs by non-immune cells. *Cell Stress*. 2019;3(6):195–207. PMID:31225514 <https://doi.org/10.15698/cst2019.06.190>
  53. de Jong SD, Basha G, Wilson KD, Kazem M, Cullis P, Jefferies W, et al. The immunostimulatory activity of unmethylated and methylated CpG oligodeoxynucleotide is dependent on their ability to colocalize with TLR9 in late endosomes. *J Immunol*. 2010;184(11):6092–6102. PMID: 20427776 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802442>



54. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, et al. Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000;408(6813):740–745. PMID: 11130078 <https://doi.org/10.1038/35047123>
55. Lund J, Sato A, Akira S, Medzhitov R, Iwasaki A, et al. Toll-like receptor 9-mediated recognition of Herpes simplex virus-2 by plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med*. 2003;198(3):513–520. PMID: 12900525 <https://doi.org/10.1084/jem.20030162>
56. Bird AP, Taggart MH, Nicholls RD, Higgs DR. Non-methylated CpG-rich islands at the human alpha-globin locus: implications for evolution of the alpha-globin pseudogene. *EMBO J*. 1987;6(4):999–1004. PMID: 3595568
57. Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(7):407–420. PMID: 27291964 <https://doi.org/10.1038/nri.2016.58>
58. Gould TJ, Vu TT, Stafford AR, Dwivedi DJ, Kim PY, Fox-Robichaud AE, et al. Cell-Free DNA Modulates Clot Structure and Impairs Fibrinolysis in Sepsis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(12):2544–2553. PMID: 26494232 <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.306035>
59. Mai SH, Khan M, Dwivedi DJ, Ross CA, Zhou J, Gould TJ, et al. Canadian Critical Care Translational Biology Group. Delayed but not Early Treatment with DNase Reduces Organ Damage and Improves Outcome in a Murine Model of Sepsis. *Shock*. 2015;44(2):166–172. PMID: 26009820 <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000396>
60. Meng W, Paunel-Görgülü A, Flohé S, Hoffmann A, Witte I, MacKenzie C, et al. Depletion of neutrophil extracellular traps in vivo results in hypersusceptibility to polymicrobial sepsis in mice. *Crit Care*. 2012;16(4):R137. PMID: 22852777 <https://doi.org/10.1186/cc11442>
61. Motwani M, Pesiridis S, Fitzgerald KA. DNA sensing by the cGAS-STING pathway in health and disease. *Nat Rev Genet*. 2019;20(11):657–674. PMID: 31358977 <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0151-1>
62. Tsai NW, Lin TK, Chen SD, Chang WN, Wang HC, Yang TM, et al. The value of serial plasma nuclear and mitochondrial DNA levels in patients with acute ischemic stroke. *Clin Chim Acta*. 2011;412(5–6):476–479. PMID: 21130757 <https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.11.036>
63. Которова И.Л., Максимова М.Ю., Смирнова И.Н., Болотова Т.А., Ершова Е.С., Вейко Н.Н., и др. Циркулирующая в плазме крови внеклеточная ДНК в патогенезе ишемического инсульта: роль транскрибируемой области рибосомного повтора. *Патологическая физиология и экспериментальная медицина*. 2014;(2):13–23.
64. O'Connell GC, Petrone AB, Tennant CS, Lucke-Wold N, Kabbani Y, Tarabishy AR, et al. Circulating extracellular DNA levels are acutely elevated in ischaemic stroke and associated with innate immune system activation. *Brain Inj*. 2017;31(10):1369–1375. PMID: 28585898 <https://doi.org/10.1080/02699052.2017.1312018>
65. Glebova KV, Veiko NN, Nikonov AA, Porokhovnik LN, Kostuyk SV, et al. Cell-free DNA as a biomarker in stroke: Current status, problems and perspectives. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2018;55(1):55–70. PMID: 29303618 <https://doi.org/10.1080/10408363.2017.1420032>
66. Hummel EM, Hesses E, Müller S, Beiter T, Fisch M, Eibl A, et al. Cell-free DNA release under psychosocial and physical stress conditions. *Transl Psychiatry*. 2018;8(1):236. PMID: 30374018 <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0264-x>
67. Rannikko J, Seiskari T, Huttunen R, Tarkiainen I, Jylhävä J, Hurme M, et al. Plasma cell-free DNA and qSOFA score predict 7-day mortality in 481 emergency department bacteraemia patients. *J Intern Med*. 2018;284(4):418–426. PMID: 29687943 <https://doi.org/10.1111/joim.12766>
68. Schneck E, Samara O, Koch C, Hecker A, Padberg W, Lichtenstern C, et al. Plasma DNA and RNA differentially impact coagulation during abdominal sepsis-an explorative study. *J Surg Res*. 2017;210:231–243. PMID: 28457334 <https://doi.org/10.1016/j.jss.2016.11.044>
69. Jackson Chornenki NL, Coke R, Kwong AC, Dwivedi DJ, Xu MK, McDonald E, et al. Comparison of the source and prognostic utility of cfDNA in trauma and sepsis. *Intensive Care Med Exp*. 2019;7(1):29. PMID: 31119471 <https://doi.org/10.1186/s40635-019-0251-4>
70. Базеко Н.П., Алексеенко Ю.В. ; Всемирная Организация Здравоохранения. *Инсульт: программа возврата к активной жизни*. Москва: Медицинская литература; 2004.
71. Silva GS, Koroshetz WJ, González RG, Schwamm LH. Causes of Ischemic Stroke. In: González R, Hirsch J, Lev M, Schaefer P, Schwamm L (eds.) *Acute Ischemic Stroke. Imaging and Intervention*. Springer, Berlin, Heidelberg; 2011. p.25–42.
72. Arai K, Lok J, Guo S, Hayakawa K, Xing C, Lo EH. Cellular mechanisms of neurovascular damage and repair after stroke. *J Child Neurol*. 2011; 6(9):1193–1198. PMID: 21628695 <https://doi.org/10.1177/0883073811408610>
73. Oldendorf WH, Cornford ME, Brown WJ. The large apparent work capability of the blood-brain barrier: a study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells in brain and other tissues of the rat. *Ann Neurol*. 1977;1(5):409–17. PMID: 617259 <https://doi.org/10.1002/ana.410010502>
74. Khatri R, McKinney AM, Swenson B, Janardhan V. Blood-brain barrier, reperfusion injury, and haemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. *Neurology*. 2012;79(13 Suppl 1):S52–57. PMID: 23008413 <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182697e70>
75. del Zoppo GJ. The neurovascular unit, matrix proteases, and innate inflammation. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1207:46–49. PMID: 20955425 <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05760.x>
76. Kago T, Takagi N, Date I, Takenaga Y, Takagi K, Takeo S. Cerebral ischemia enhances tyrosine phosphorylation of occludin in brain capillaries. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;339(4):1197–1203. PMID: 16338221 DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.11.133
77. Grossmann J. Molecular mechanisms of «detachment-induced apoptosis – Anoikis». *Apoptosis*. 2002;7(3):247–260. PMID: 11997669
78. Boyko M, Ohayon S, Goldsmith T, Douvdevani A, Gruenbaum BF, Melamed I, et al. Cell-free DNA-a marker to predict ischemic brain damage in a rat stroke experimental model. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2011;23(3):222–228. PMID: 21593692 <https://doi.org/10.1097/ANA.0b013e31821b536a>
79. Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: 2019 Update to the 2018 Guidelines for the Early Management of Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2019;50(12):e440–e441. PMID: 3176529 <https://doi.org/10.1161/STR.0000000000000215>
80. Vajpeyee A, Wijatmiko T, Vajpeyee M, Taywade O. Cell free DNA: A Novel Predictor of Neurological Outcome after Intravenous Thrombolysis and/or Mechanical Thrombectomy in Acute Ischemic Stroke Patients. *Neurointervention*. 2018;13(1):13–19. PMID: 29535894 <https://doi.org/10.5469/neuroint.2018.13.1.13>
81. Bhaskar S, Stanwell P, Cordato D, Attia J, Levi C, et al. Reperfusion therapy in acute ischemic stroke: dawn of a new era? *BMC Neurol*. 2018;18(1):8. PMID: 29338750 <https://doi.org/10.1186/s12883-017-1007-y>
82. Wang L, Xie L, Zhang Q, Cai X, Tang Y, Wang L, et al. Plasma nuclear and mitochondrial DNA levels in acute myocardial infarction patients. *Coron Artery Dis*. 2015; 26(4):296–300. PMID: 25714070 <https://doi.org/10.1097/MCA.0000000000000231>
83. Zemmour H, Planer D, Magenheimer J, Moss J, Neiman D, Gilon D, et al. Non-invasive detection of human cardiomyocyte death using methylation patterns of circulating DNA. *Nat Commun*. 2018;9(1):1443. PMID: 29691597 <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03961-y>
84. Omar AS, Mahmoud K, Hanoura S, Osman H, Sivadasan P, Sudarsanan S, et al. Acute kidney injury induces high-sensitivity troponin measurement changes after cardiac surgery. *BMC Anesthesiol*. 2017;17(1):15. PMID: 28143401 <https://doi.org/10.1186/s12871-017-0307-5>
85. Vallabhajosyula S, Sakhuja A, Geske JB, Kumar M, Poterucha JT, Kashyap R, et al. Role of Admission Troponin-T and Serial Troponin-T Testing in Predicting Outcomes in Severe Sepsis and Septic Shock. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(9):pii: e005930. PMID: 28889100 <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.005930>
86. Herman DS, Kavsak PA, Greene DN. Variability and Error in Cardiac Troponin Testing: An ACLPS Review. *Am J Clin Patol*. 2017;148(4):281–295. PMID: 28967956 DOI: 10.1095/ajcp/axq066
87. Xie J, Yang J, Hu P. Correlations of Circulating Cell-Free DNA With Clinical Manifestations in Acute Myocardial Infarction. *Am J Med Sci*. 2018;356(2):121–129. PMID: 30219153 <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2018.04.007>
88. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8):801–810. PMID: 26903338 <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>
89. Angus DC, Seymour CW, Coopersmith CM, Deutschman CS, Klompas M, Levy MM, et al. A framework for the development and interpretation of different sepsis definitions and clinical criteria. *Crit Care Med*. 2016;44(3):e113–e121. PMID: 26901559 <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000001730>
90. Avriel A, Paryente Wiessman M, Almog Y, Perl Y, Novack V, Galante O, et al. Admission cell free DNA levels predict 28-day mortality in patients with severe sepsis in intensive care. *PLoS One*. 2014;9(6):e100514. PMID: 24955978 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100514>
91. Dwivedi DJ, Toltl LJ, Swystun LL, Pogue J, Liaw KL, Weitz JJ, et al. Canadian Critical Care Translational Biology Group. Prognostic utility and characterization of cell-free DNA in patients with severe sepsis. *Crit Care*. 2012;16(4):R151. PMID: 22889177 <https://doi.org/10.1186/cc11466>
92. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med*. 1999;340(3):207–214. PMID: 9895401 <https://doi.org/10.1056/NEJM199901213400307>
93. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*. 2003;348(2):138–150. PMID: 12519925 <https://doi.org/10.1056/NEJMra021333>
94. Gould TJ, Vu TT, Swystun LL, Dwivedi DJ, Mai SH, Weitz JJ, et al. Neutrophil extracellular traps promote thrombin generation through platelet-dependent and platelet-independent mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(9):1977–1984. PMID: 25012129 <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304114>
95. Trigg RM, Martinson LJ, Parpart-Li S, Shaw JA. Factors that influence quality and yield of circulating-free DNA: A systematic review of the methodology literature. *Heliyon*. 2018;4(7):e00699. PMID: 30094369 <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00699>

## REFERENCES

- Kuzovlev AN, Grechko AV. Inhaled Antibiotics in Reanimatology: Problem State and Development Prospects (Review). *General Reanimatology*. 2017;13(5):69–84. (In Russ.) <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2017-5-69-84>
- Vostrikov VA, Kuzovlev AN. Public-Access Defibrillation in Sudden Cardiac Arrest (Short Review). *General Reanimatology*. 2018;14(1):58–67. (In Russ.) <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2018-1-58-67>
- Jabaley CS, Blum JM, Groff RF, O'Reilly-Shah VN. Global trends in the awareness of sepsis: insights from search engine data between 2012 and 2017. *Crit Care*. 2018;22:7. <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1914-8> PMID: 29543292
- Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term Cognitive Impairment and Functional Disability Among Survivors of Severe Sepsis. *JAMA*. 2010;304(16): 1787–1794. <https://doi.org/10.1001/jama.2010.1553> PMID: 20978258
- Gaudry S, Messika J, Ricard JD, Guillo S, Pasquet B, Dubief E, et al. Patient-important outcomes in randomized controlled trials in critically ill patients: a systematic review. *Ann Intensive Care*. 2017;7(1):28. PMID: 28271450. PMCID: PMC5340787. <https://doi.org/10.1186/s13613-017-0243-z>
- Jickling GC, Sharp FR. Blood biomarkers of ischemic stroke. *Neurotherapeutics*. 2011;8(3):349–360. PMID: 21671123. PMCID: PMC3250275. <https://doi.org/10.1007/s13311-011-0050-4>
- Pisarev VM, Chumachenko AG, Filev AD, Ershova ES, Kostyuk SV, Veyko NN, et al. Combination of DNA Molecular Biomarkers in the Prediction of Critical Illness Outcome. *General Reanimatology*. 2019;15(3):31–47. (In Russ.) <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-3-31-47>
- Roca E, Nescolarde L, Lupón J, Barallat J, Januzzi JL, Liu P, et al. The Dynamics of Cardiovascular Biomarkers in non-Elite Marathon Runners. *J Cardiovasc Transl Res*. 2017;10(2):206–208. PMID: 28382580. <https://doi.org/10.1007/s12265-017-9744-2>
- Dmitriyeva IB, Beloborodova NV, Chernevskaia EA. The Biomarkers Procalcitonin and S100 $\beta$  Ptoein in the Clinical and Laboratory Monitoring of Neonatal Critical Conditions. *General Reanimatology*. 2013;9(3):58. (In Russ.) <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-58>
- Boyapati RK, Tamborska A, Dorward DA, Ho GT. Advances in the understanding of mitochondrial DNA as a pathogenic factor in inflammatory diseases. *F1000Res*. 2017;6:169. PMID: 28299196. PMCID: PMC5321122. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10397.1>
- Tamkovich SN, Vlassov VV, Laktionov PP. Circulating DNA in the blood and its application in medical diagnosis. *Molecular Biology*. 2008;42(1):12–25. PMID: 18389615 (In Russ.)
- Khubutiya MSh, Shabanov AK, Skulachev MV, Bulava GV, Savchenko IM, Grebennikov O.A., et al. Mitochondrial and Nuclear DNA in Patients with Severe Polytrauma. *General Reanimatology*. 2013;9(6):24. (In Russ.) <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-24>
- Moroz VV, Myagkova EA, Zhanataev AK, Ryabov GA, Ostapchenko DA, Durnev AD, et al. DNA Damages and White Blood Cell Death Processes in Victims with Severe Injury. *General Reanimatology*. 2014;10(4):11–36. (In Russ.) <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2014-4-11-36>
- Kozlov VA. Free Extracellular DNA i Normal State and Under Pathological Conditions. *Medical Immunology (Russia)*. 2013;15(5):399–412. (In Russ.) <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2013-5-399-412>
- Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38(1):23–38. PMID: 22781841 PMCID: PMC3521964 <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>
- Suelves M, Carrió E, Núñez-Álvarez Y, Peinado MA. DNA methylation dynamics in cellular commitment and differentiation. *Brief Funct Genomics*. 2016;15(6):443–453. PMID: 27416614 <https://doi.org/10.1093/bfpg/elw017>
- Lehmann-Werman R, Neiman D, Zemmour H. Moss J, Magenheim J, Vaknin-Dembinsky A, et al. Identification of tissue-specific cell death using methylation patterns of circulating DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(13):E1826–1834. PMID: 26976580. PMCID: PMC4822610. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519286113>
- Moss J, Magenheim J, Neiman D, Zemmour H, Loyfer N, Korach A, et al. Comprehensive human cell-type methylation atlas reveals origins of circulating cell-free DNA in health and disease. *Nat Commun*. 2018;9:5068. PMCID: PMC6265251. PMID: 30498206. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07466-6>
- Pisetsky DS. The origin and properties of extracellular DNA: from PAMP to DAMP. *Clin Immunol*. 2012 Jul;144(1):32–40. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2012.04.006>
- Peters DL, Pretorius PJ. Origin, translocation and destination of extracellular occurring DNA—a new paradigm in genetic behavior. *Clin Chim Acta*. 2011;412(11–12):806–11. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.01.026>
- Gahan PB, Anker P, Stroum M. Metabolic DNA as the origin of spontaneously released DNA? *Ann N Y Acad Sci*. 2008 Aug;1137:7–17. <https://doi.org/10.1196/annals.1448.046>
- Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532–1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
- Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*. 2007;176(2):231–241. <https://doi.org/10.1083/jcb.200606027>
- Jorch SK, Kubers P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med*. 2017;23(3):279–287. PMID: 28267716 <https://doi.org/10.1038/nm.4294>
- Ermakov AV, Kostyuk SV, Konkova MS Egolina NA, Malinovskaya EM, et al. Extracellular DNA fragments. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1137:41–46. PMID: 18837923 <https://doi.org/10.1196/annals.1448.024>
- Vander Vaart M, Pretorius PJ. The origin of circulating free DNA. *Clin Chem*. 2007;53(12):2215. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.092734>
- Swarup V, Rajeswari MR. Circulating (cell-free) nucleic acids—a promising, non-invasive tool for early detection of several human diseases. *FEBS Lett*. 2007;581(5):795–799. PMID: 17289032 <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.01.051>
- Zhivotosky B, Orrenius S. Assessment of apoptosis and necrosis by DNA fragmentation and morphological criteria. *Curr Protoc Cell Biol*. 2001; Ch18:18.3.1–18.3.23. PMID: 18228342 <https://doi.org/10.1002/0471143030.cb1803s12>
- Verhoven B, Schlegel RA, Williamson P. Mechanisms of phosphatidylserine exposure, a phagocyte recognition signal, on apoptotic T lymphocytes. *J Exp Med*. 1995;182(5):1597–1601. PMID: 7595231 <https://doi.org/10.1084/jem.182.5.1597>
- Radic M, Marion TN. Neutrophil extracellular chromatin traps connect innate immune response to autoimmunity. *Semin Immunopathol*. 2013;35(4):465–480. PMID: 23595413 <https://doi.org/10.1007/s00281-013-0376-6>
- Fernando MR, Jiang C, Krzyzanowski GD, Ryan WL. New evidence that a large proportion of human blood plasma cell-free DNA is localized in exosomes. *PLoS One*. 2017;12(8):e0183915. PMID: 28850588 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183915>
- Anitei M, Wassmer T, Stange C, Hoflack B. Bidirectional transport between the trans-Golgi network and the endosomal system. *Mol Membr Biol*. 2010;27(8):443–456. PMID: 21054155 <https://doi.org/10.3109/09687688.2010.522601>
- Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, Liejendekker R, Harding CV, Melief CJ, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med*. 1996;183(3):1161–1172. PMID: 8642258 <https://doi.org/10.1084/jem.183.3.1161>
- Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*. 2007;9(6):654–659. PMID: 17486113 <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
- MacKenzie A, Wilson HL, Kiss-Toth E, Dower SK, North RA, Surprenant A, et al. Rapid secretion of interleukin-1 $\beta$  by microvesicle shedding. *Immunity*. 2001;15(5):825–835. PMID: 11728343 [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(01\)00229-1](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(01)00229-1)
- Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health. *Cell*. 2012;148(6):1145–1159. PMID: 22424226 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.035>
- Hong EE, Okitsu CY, Smith AD, Hsieh CL. Regionally specific and genome-wide analyses conclusively demonstrate the absence of CpG methylation in human mitochondrial DNA. *Mol Cell Biol*. 2013;33(14):2683–2690. PMID: 23671186 <https://doi.org/10.1128/MCB.00220-13>
- Shock LS, Thakkar PV, Peterson EJ, Moran RG, Taylor SM, et al. DNA methyltransferase 1, cytosine methylation, and cytosine hydroxymethylation in mammalian mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(9):3630–3635. PMID: 21321201 <https://doi.org/10.1073/pnas.1012311108>
- Di Carlo M, Giacomazza D, Picone P, Nuzzo D, San Biagio PL. Are oxidative stress and mitochondrial dysfunction the key players in the neurodegenerative diseases? *Free Radic Res*. 2012;46(11):1327–1338. PMID: 22817279 <https://doi.org/10.3109/10715762.2012.714466>
- Shimada K, Crother TR, Karlin J, Dagvadorj J, Chiba N, Chen S, et al. Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis. *Immunity*. 2012;36(5):401–414. PMID: 22342844 <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.01.009>
- Zhong Z, Liang S, Sanchez-Lopez E, He F, Shalpour S, Lin XJ, et al. New mitochondrial DNA synthesis enables NLRP3 inflammasome activation. *Nature*. 2018;560(7717):198–203. PMID: 30046112 <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0372-z>
- Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem*. 2015;30(1):11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*. 2009;461(7267):1071–1078. PMID: 19847258 <https://doi.org/10.1038/nature08467>
- Hegde ML, Hazra TK, Mitra S. Early Steps in the DNA Base Excision/Single-Strand Interruption Repair Pathway in Mammalian Cells. *Cell Res*. 2008;18(1):27–47. PMID: 18166975 <https://doi.org/10.1038/cr.2008.8>
- Hegde ML, Izumi T, Mitra S. Oxidized Base Damage and Single-Strand Break Repair in Mammalian Genomes: Role of Disordered Regions and Posttranslational Modifications in Early Enzymes. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2012;110:123–153. PMID: 22749145 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387665-2.00006-7>
- Jaruga P, Rozalski R, Jawien A, Migdalski A, Oliński R, Dizdaroğlu M. DNA damage products (5'R)- and (5'S)-8,5'-cyclo-2'-deoxyadenosines as

- potential biomarkers in human urine for atherosclerosis. *Biochemistry*. 2012;51(9):1822–1824. PMID: 22360777 <https://doi.org/10.1021/bi201912c>
47. Filev AD, Shmarina GV, Ershova E, Veiko NN, Martynov AV, Borzikova MA, et al. Oxidized Cell-Free DNA Role in the Antioxidant Defense Mechanisms under Stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2019(4):1–15. PMID: 31360293 <https://doi.org/10.1155/2019/1245749>
  48. Zhang L, Deng S, Zhao S, Ai Y, Zhang L, Pan P, et al. Intra-Peritoneal Administration of Mitochondrial DNA Provokes Acute Lung Injury and Systemic Inflammation via Toll-Like Receptor 9. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):pii: E1425. PMID: 27589725 <https://doi.org/10.3390/ijms17091425>
  49. Pallen MJ. Time to recognise that mitochondria are bacteria? *Trends Microbiol*. 2011;19(2):58–64. PMID: 21123072 <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.11.001>
  50. Gunter TE, Buntinas L, Sparagna GC, Gunter KK. The Ca<sup>2+</sup> transport mechanisms of mitochondria and Ca<sup>2+</sup> uptake from physiological-type Ca<sup>2+</sup> transients. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1366(1–2):5–15. PMID: 9714709 [https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(98\)00117-0](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(98)00117-0)
  51. Hockenbery D, Nuñez G, Millman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ, et al. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature*. 1990;348(6299):334–336. PMID: 2250705 <https://doi.org/10.1038/348334a0>
  52. Rodríguez-Nuevo A, Zorzano A. The sensing of mitochondrial DAMPs by non-immune cells. *Cell Stress*. 2019;3(6):195–207. PMID: 31225514 <https://doi.org/10.15698/cst2019.06.190>
  53. de Jong SD, Basha G, Wilson KD, Kazem M, Cullis P, Jefferies W, et al. The immunostimulatory activity of unmethylated and methylated CpG oligodeoxynucleotide is dependent on their ability to colocalize with TLR9 in late endosomes. *J Immunol*. 2010;184(11):6092–6102. PMID: 20427776 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802442>
  54. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000;408(6813):740–745. PMID:11130078 <https://doi.org/10.1038/35047123>
  55. Lund J, Sato A, Akira S, Medzhitov R, Iwasaki A, et al. Toll-like receptor 9-mediated recognition of Herpes simplex virus-2 by plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med*. 2005;198(3):513–520. PMID: 12900525 <https://doi.org/10.1084/jem.20030162>
  56. Bird AP, Taggart MH, Nicholls RD, Higgs DR. Non-methylated CpG-rich islands at the human alpha-globin locus: implications for evolution of the alpha-globin pseudogene. *EMBO J*. 1987;6(4):999–1004. PMID: 3595568
  57. Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(7):407–420. PMID: 27291964 <https://doi.org/10.1038/nri.2016.58>
  58. Gould TJ, Vu TT, Stafford AR Dwivedi DJ, Kim PY, Fox-Robichaud AE, et al. Cell-Free DNA Modulates Clot Structure and Impairs Fibrinolysis in Sepsis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(12):2544–2555. PMID: 26494232 <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.306035>
  59. Mai SH, Khan M, Dwivedi DJ, Ross CA, Zhou J, Gould TJ, et al. Delayed but not Early Treatment with DNase Reduces Organ Damage and Improves Outcome in a Murine Model of Sepsis. *Shock*. 2015;44(2):166–172. PMID: 26009820 <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000596>
  60. Meng W, Paunel-Görgülü A, Flohé S, Hoffmann A, Witte I, MacKenzie C, et al. Depletion of neutrophil extracellular traps in vivo results in hypersusceptibility to polymicrobial sepsis in mice. *Crit Care*. 2012;16(4):R137. PMID: 22835277 <https://doi.org/10.1186/cc11442>
  61. Motwani M, Pesiridis S, Fitzgerald KA. DNA sensing by the cGAS-STING pathway in health and disease. *Nat Rev Genet*. 2019;20(11):657–674. PMID: 31358977 <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0151-1>
  62. Tsai NW, Lin TK, Chen SD, Chang WN, Wang HC, Yang TM, et al. The value of serial plasma nuclear and mitochondrial DNA levels in patients with acute ischemic stroke. *Clin Chim Acta*. 2011;412(5–6):476–479. PMID: 21130757 <https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.11.036>
  63. Konorova IL, Maximova M, Smirnova IN, Bolotova TA, Ershova ES, Veiko NN, et al. Circulating in blood plasma cell-free DNA in the pathogenesis of ischemic stroke: the role of the transcribed region of ribosomal repeat. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2014;(2):13–23. (in Russ.)
  64. O'Connell GC, Petrone AB, Tennant CS, Lucke-Wold N, Kabbani Y, Tarabishy AR, et al. Circulating extracellular DNA levels are acutely elevated in ischaemic stroke and associated with innate immune system activation. *Brain Inj*. 2017;31(10):1369–1375. PMID: 28585898 <https://doi.org/10.1080/02699052.2017.1312018>
  65. Glebova KV, Veiko NN, Nikonov AA, Porokhovnik LN, Kostuyk SV. Cell-free DNA as a biomarker in stroke: Current status, problems and perspectives. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2018;55(1):55–70. PMID: 29303618 <https://doi.org/10.1080/10408363.2017.1420032>
  66. Hummel EM, Hessas E, Müller S, Beiter T, Fisch M, Eibl A, et al. Cell-free DNA release under psychosocial and physical stress conditions. *Transl Psychiatry*. 2018;8(1):236. PMID: 30374018 <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0264-x>
  67. Rannikko J, Seiskari T, Huttunen R, Tarkiainen I, Jylhävä J, Hurme M, et al. Plasma cell-free DNA and qSOFA score predict 7-day mortality in 481 emergency department bacteraemia patients. *J Intern Med*. 2018;284(4):418–426. PMID: 29687943 <https://doi.org/10.1111/joim.12766>
  68. Schneck E, Samara O, Koch C, Hecker A, Padberg W, Lichtenstern C, et al. Plasma DNA and RNA differentially impact coagulation during abdominal sepsis-an explorative study. *J Surg Res*. 2017;210:231–243. PMID: 28457334 <https://doi.org/10.1016/j.jss.2016.11.044>
  69. Jackson Chornenki NL, Coke R, Kwong AC, Dwivedi DJ, Xu MK, McDonald E, et al. Comparison of the source and prognostic utility of cfDNA in trauma and sepsis. *Intensive Care Med Exp*. 2019;7(1):29. PMID: 31119471 <https://doi.org/10.1186/s40655-019-0251-4>
  70. Bazeko NP, Alekseenko Yu V. *Vsemirnaya Organizatsiya Zdravookhraneniya. Insul't: programma vozvrata k aktivnoy zhizni*. Moscow: Meditsinskaya literature Publ.; 2004. (In Russ.)
  71. Silva GS, Koroshetz WJ, González RG, Schwamm LH. Causes of Ischemic Stroke. In: González R, Hirsch J, Lev M, Schaefer P, Schwamm L, (eds.) *Acute Ischemic Stroke. Imaging and Intervention*. Springer, Berlin, Heidelberg; 2011. pp.25–42.
  72. Arai K, Lok J, Guo S, Hayakawa K, Xing C, Lo EH. Cellular mechanisms of neurovascular damage and repair after stroke. *J Child Neurol*. 2011; 6(9):1193–1198. PMID: 21628695 <https://doi.org/10.1177/0883073811408610>
  73. Oldendorf WH, Cornford ME, Brown WJ. The large apparent work capability of the blood-brain barrier: a study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells in brain and other tissues of the rat. *Ann Neurol*. 1977;1(5):409–417. PMID: 617259 <https://doi.org/10.1002/ana.410010502>
  74. Khatri R, McKinney AM, Swenson B, Janardhan V. Blood-brain barrier, reperfusion injury, and haemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. *Neurology*. 2012;79(13 Suppl 1):S52–57. PMID: 23008413 <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182697e70>
  75. del Zoppo GJ. The neurovascular unit, matrix proteases, and innate inflammation. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1207:46–49. PMID: 20955425 <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05760.x>
  76. Kago T, Takagi N, Date I, Takenaga Y, Takagi K, Takeo S. Cerebral ischemia enhances tyrosine phosphorylation of occludin in brain capillaries. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;339(4):1197–1203. PMID: 16338221 <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.11.133>
  77. Grossmann J. Molecular mechanisms of «detachment-induced apoptosis–Anoikis». *Apoptosis*. 2002;7(3):247–260. PMID: 11997669
  78. Boyko M, Ohayon S, Goldsmith T, Douvdevani A, Gruenbaum BF, Melamed I, et al. Cell-free DNA-a marker to predict ischemic brain damage in a rat stroke experimental model. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2011;23(3):222–228. PMID: 21593692 <https://doi.org/10.1097/ANA.0b013e31821b536a>
  79. Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: 2019 Update to the 2018 Guidelines for the Early Management of Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2019;50(12):e440–e441. PMID: 3176529 <https://doi.org/10.1161/STR.0000000000000215>
  80. Vajpeyee A, Wijatmiko T, Vajpeyee M, Taywade O. Cell free DNA: A Novel Predictor of Neurological Outcome after Intravenous Thrombolysis and/or Mechanical Thrombectomy in Acute Ischemic Stroke Patients. *Neurointervention*. 2018;13(1):13–19. PMID: 29535894 <https://doi.org/10.5469/neuroint.2018.13.1.13>
  81. Bhaskar S, Stanwell P, Cordato D, Attia J, Levi C, et al. Reperfusion therapy in acute ischemic stroke: dawn of a new era? *BMC Neurol*. 2018;18(1):8. PMID: 29338750 <https://doi.org/10.1186/s12883-017-1007-y>
  82. Wang L, Xie L, Zhang Q, Cai X, Tang Y, Wang L, et al. Plasma nuclear and mitochondrial DNA levels in acute myocardial infarction patients. *Coron Artery Dis*. 2015;26(4):296–300. PMID: 25714070 <https://doi.org/10.1097/MCA.0000000000000231>
  83. Zemmour H, Planer D, Magenheimer J, Moss J, Neiman D, Gilon D, et al. Non-invasive detection of human cardiomyocyte death using methylation patterns of circulating DNA. *Nat Commun*. 2018;9(1):1443. PMID: 29691397 <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03961-y>
  84. Omar AS, Mahmoud K, Hanoura S, Osman H, Sivadasan P, Sudarsanan S, et al. Acute kidney injury induces high-sensitivity troponin measurement changes after cardiac surgery. *BMC Anesthesiol*. 2017;17(1):15. PMID: 28143401 <https://doi.org/10.1186/s12871-017-0307-5>
  85. Vallabhajosyula S, Sakhuja A, Geske JB, Kumar M, Poterucha JT, Kashyap R, et al. Role of Admission Troponin-T and Serial Troponin-T Testing in Predicting Outcomes in Severe Sepsis and Septic Shock. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(9):pii: e005930. PMID: 28889100 <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.005930>
  86. Herman DS, Kavsak PA, Greene DN. Variability and Error in Cardiac Troponin Testing: An ACLPS Critical Review. *Am J Clin Pathol*. 2017; 148(4):281–295. PMID: 28967956. <https://doi.org/10.1093/ajcp/axq066>
  87. Xie J, Yang J, Hu P. Correlations of Circulating Cell-Free DNA With Clinical Manifestations in Acute Myocardial Infarction. *Am J Med Sci*. 2018;356(2):121–129. PMID: 30219153 <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2018.04.007>
  88. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8):801–810. PMID: 26903338 <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>
  89. Angus DC, Seymour CW, Coopersmith CM, Deutschman CS, Klompas M, Levy MM, et al. A framework for the development and interpretation of different sepsis definitions and clinical criteria. *Crit Care Med*. 2016;44(3):e113–e121. PMID: 26901559. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000001730>
  90. Avriel A, Paryente Wiessman M, Almog Y, Perl Y, Novack V, Galante O, et al. Admission cell free DNA levels predict 28-day mortality in patients

- with severe sepsis in intensive care. *PLoS One*. 2014;9(6):e100514. PMID: 24955978. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100514>
91. Dwivedi DJ, Toltl LJ, Swystun LL, Pogue J, Liaw KL, Weitz JI, et al. Canadian Critical Care Translational Biology Group. Prognostic utility and characterization of cell-free DNA in patients with severe sepsis. *Crit Care*. 2012;16(4):R151. PMID:22889177 <https://doi.org/10.1186/cc11466>
92. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med*. 1999;340(3):207–214. PMID: 9895401 <https://doi.org/10.1056/NEJM199901213400307>
93. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*. 2003;348(2):138–150. PMID: 12519925 <https://doi.org/10.1056/NEJMra021333>
94. Gould TJ, Vu TT, Swystun LL, Dwivedi DJ, Mai SH, Weitz JI, et al. Neutrophil extracellular traps promote thrombin generation through platelet-dependent and platelet-independent mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(9):1977–1984. PMID: 25012129 <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304114>
95. Trigg RM, Martinson LJ, Parpart-Li S, Shaw JA. Factors that influence quality and yield of circulating-free DNA: A systematic review of the methodology literature. *Heliyon*. 2018;4(7):e00699. PMID: 30094369 <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00699>

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

### Филев Антон Дмитриевич

научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов критических состояний НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «МГНЦ им. академика Н.П. Бочкова»; <https://orcid.org/0000-0002-5962-0541>, 50%: написание текста статьи

### Писарев Владимир Митрофанович

доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярных механизмов критических состояний НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР; <https://orcid.org/0000-0002-5729-9846>, [vpisarev@gmail.com](mailto:vpisarev@gmail.com); 50%: разработка и обсуждение концепции обзора, подбор литературы, редакционная правка текста, написание части статьи

Received on 19.09.2019

Accepted on 06.12.2019

Поступила в редакцию 19.09.2019

Принята к печати 06.12.2019

## Cell-Free DNA in Emergency Medical Care

A.D. Filev<sup>1,2</sup>, V.M. Pisarev<sup>1\*</sup>

Department of Molecular Biology

<sup>1</sup> V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation 25 Petrovka, Bldg. 2, Moscow 107031, Russian Federation

<sup>2</sup> N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics

1 Moskvorechye, Moscow 115478, Russian Federation

\* **Contacts:** Vladimir M. Pisarev, Professor, Dr. Med. Sci, Head of the Laboratory of Molecular Mechanisms of Critical Illness, V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation. Email: [vpisarev@gmail.com](mailto:vpisarev@gmail.com)

**Abstract** Defining molecules with high prognostic value for predicting the course and outcomes of life-threatening sepsis, severe injuries, vascular accidents remains an urgent problem in emergency medicine. One of the promising candidate biomarkers of emergency states and critical illness is the content of extracellular DNA (exDNA) in blood plasma. The purpose of this review is to identify the prospects for the introduction of cfDNA in clinical medicine and the severities arose along this way. The levels and altered dynamics of the concentration of circulating DNA fragments, including the organ-specific fraction of exDNA seem informative today for assessing the degree of damage to the organ of interest, the probability of a complicated course and the prognosis of outcomes of emergency/critical illness in Intensive Care Unit (ICU) patients. Sources of exDNA circulating in the bloodstream may include the nuclei of dying cells from organs and tissues, damaged mitochondria, the pool of which should be remodeled with mitophagy, as well as microorganisms. Similarly to pathogen-associated molecules (PAMP) represented by fragments of bacterial and viral DNA, native DNA molecules associated with damage (DAMP) bind to toll-like receptors (TLR9) and intracellular DNA sensors (cGAS-STING, NLRP3), initiating the inflammatory processes in tissues and hemostatic disorders. These processes represent natural adaptive responses protecting against microbes, as well as disadaptation responses potentiating cell damage in organs. The increasing expression of genes encoding proinflammatory signaling pathways associated with NF-κB transcription factor and interferon-regulating factors (IRF), in turn, contribute to production of cytokines and other factors enhancing the stress-responses that alter the functional activity of cells in various organs. The available literature data suggest that the quantitative determining plasma exDNA, which serves as PAMP and DAMP to significantly contribute to pathogenesis of emergency states and critical illness, might aid in predicting the outcome and justifying the in-time personalization of treatment of emergency and post-emergency patients.

**Keywords:** cell-free DNA, critical illness, inflammation, impaired hemostasis

**For citation** Filev AD, Pisarev VM. Cell-Free DNA in Emergency Medical Care. *Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care*. 2020;9(1):96–107. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-1-96-107> (in Russ.)

**Conflict of interest** Author declare lack of the conflicts of interests

**Acknowledgments, sponsorship** This work was partially supported by the RFBR Grant No. 19-34-90072 and state assignment AAAA-A19-119032090049-0 of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation

### Affiliations

Anton D. Filev

Researcher, the Laboratory of Molecular Mechanisms of Critical Illness, V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation; Department of Molecular Biology, N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics; <https://orcid.org/0000-0002-5962-0541>, [anton\\_flv@mail.ru](mailto:anton_flv@mail.ru); 50%: writing the text of the article

Vladimir M. Pisarev

Professor, Dr. Med. Sci, Head of the Laboratory of Molecular Mechanisms of Critical Illness, V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation; <https://orcid.org/0000-0002-5729-9846>, [vpisarev@gmail.com](mailto:vpisarev@gmail.com); 50%: development and discussion of the review concept, selection of literature, editing of the text, writing a part of the article