

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2023.05.40-53>

Влияние антипсихотической терапии на вариацию числа копий рибосомного повтора в составе циркулирующей ДНК плазмы крови больных шизофренией

Ершова Е.С.¹, Жесткова Е.М.², Мартынов А.В.¹, Захарова Н.В.³, Бравве Л.В.³, Костюк Г.П.³, Вейко Н.Н.¹, Костюк С.В.¹

1 – ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115478, г. Москва, ул. Москворечье д.1

2 – ГБУЗ города Москвы «Психиатрическая клиническая больница № 4 им. П.Б. Ганнушкина Департамента здравоохранения города Москвы»
107076, г. Москва, ул. Потешная, д.3

3 – ГБУЗ города Москвы «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы»
117152, г. Москва, Загородное шоссе, д. 2

Циркулирующая внеклеточная ДНК (вкДНК) при патологии оказывает негативное действие на клетки организма, поддерживая системное воспаление. Фрагменты рибосомного повтора (рДНК), которые накапливаются в составе вкДНК, активируют транскрипционный фактор NF-κB, который регулирует транскрипцию генов провоспалительных цитокинов. В работе показано, что антипсихотическая терапия ассоциирована со значительным снижением концентрации биологически активных фрагментов рДНК в плазме крови больных. Поиск малотоксичных синтетических и природных соединений на основе молекулярных структур, входящих в состав антипсихотиков, может привести к появлению лекарств, изменяющих биологическую активность вкДНК.

Ключевые слова: шизофрения; внеклеточная ДНК (вкДНК); рибосомный повтор.

Для цитирования: Ершова Е.С., Жесткова Е.М., Мартынов А.В., Захарова Н.В., Бравве Л.В., Костюк Г.П., Вейко Н.Н., Костюк С.В. Влияние антипсихотической терапии на вариацию числа копий рибосомного повтора в составе циркулирующей ДНК плазмы крови больных шизофренией. *Медицинская генетика* 2023; 22(5): 40-53.

Автор для корреспонденции: Ершова Е.С.; **e-mail:** es-ershova@rambler.ru

Финансирование. Государственное задание Министерства науки и высшего образования для ФГБНУ МГНЦ.

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 04.05.2023

The effect of antipsychotic therapy to the ribosomal repeat copy number variation in the the composition of plasma circulating DNA in patients with schizophrenia

Ershova E.S.¹, Jestkova E.M.², Martynov A.V.¹, Zakharova N.V.³, Bravve L.V.³, Kostyuk G.P.³, Veiko N.N.¹, Kostyuk S.V.¹

1 – Research Centre for Medical Genetics
1, Moskvorechye st., Moscow, 115522, Russian Federation

2 – Psychiatric Hospital No. 4 of Moscow City Health Department
3, Poteshnaya st., Moscow, 115447, Russian Federation

3 – Psychiatric Hospital no. 1 Named after N.A. Alexeev of the Department of Health of Moscow 2, Zagorodnoye shosse,
Moscow, 115447, Russian Federation

Circulating extracellular DNA (cfDNA) in pathology has a negative effect on the cells of the body, supporting systemic inflammation. Ribosomal repeat fragments (rDNA), which accumulate in cfDNA, activate the transcription factor NF-κB, which regulates the transcription of pro-inflammatory cytokine genes. The work shows that antipsychotic therapy is associated with a significant decrease in the concentration of biologically active rDNA fragments in the blood plasma of patients. The search for low-toxic synthetic and natural compounds based on the molecular structures that make up antipsychotics may lead to the emergence of drugs that change the biological activity of cfDNA.

Keywords: Circulating free DNA (cfDNA), ribosomal repeat, Schizophrenia.

For citation: Ershova E.S., Jestkova E.M., Martynov A.V., Zakharova N.V., Bravve L.V., Kostyuk G.P., Veiko N.N., Kostyuk S.V. The effect of antipsychotic therapy to the ribosomal repeat copy number variation in the the composition of plasma circulating DNA in patients with schizophrenia. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2023; 22(5): 40-53. (In Russ.)

Corresponding author: Ershova E.S., **e-mail:** es-ershova@rambler.ru

Funding: The work was supported by the state task of the Ministry of Science and Higher Education for Research Centre for Medical Genetics.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest

Accepted: 04.05.2023

Введение

Циркулирующая внеклеточная ДНК (вкДНК) плазмы крови в последние десятилетия широко используется в качестве маркера «жидкостной биопсии» [1-7]. Источником вкДНК являются преимущественно клетки крови, а также клетки других тканей организма [3]. В литературе появляется все больше данных, говорящих о том, что циркулирующая ДНК не является инертным продуктом гибели клеток, но задействована в патогенезе ряда заболеваний, а также может выполнять функциональную роль в здоровом организме [5]. ВкДНК относят к классу «молекул, ассоциированных с повреждением клеток» (damage associated molecular patterns, DAMPs). GC-богатые фрагменты вкДНК обладают провоспалительным действием, стимулируя сигнальный путь рецепторы TLR9 – фактор транскрипции NF- κ B – провоспалительные цитокины – воспаление [8-10]. Повышенные концентрации вкДНК ассоциированы с плохим прогнозом при сепсисе, аутоиммунной и сердечно-сосудистой патологии [11-14].

Поскольку вкДНК является биологически активной молекулой, то клиренс фрагментов вкДНК из кровотока имеет большое значение для нормального функционирования организма и снижения воспалительной реакции. Гидролиз вкДНК эндонуклеазами является одним из основных компонентов системы элиминации вкДНК из организма [5, 15]. Эндонуклеазная активность плазмы возрастает при патологии, ассоциированной с гибелью клеток, например, при инфаркте и ишемии миокарда [16, 17], при патологии беременности [18] а также при значительной физической нагрузке [19].

Появление биологической активности у вкДНК связано со значительным изменением ее характеристик по сравнению с клеточной ДНК. ВкДНК и ДНК клеток различаются по содержанию повторяющихся и уникальных последовательностей [20-24], уровню окислительной модификации оснований [25] и степени метилирования [26].

Психические заболевания, в частности шизофрения, также сопровождаются изменением характеристик вкДНК. В плазме крови нелеченых больных шизофренией возрастает концентрация вкДНК на фоне значительного увеличения эндонуклеазной активности плазмы, увеличивается содержание GC-богатых фрагментов рибосомного повтора, мтДНК и Alu-повтора [24, 27-29]. В опытах *in vitro* продемонстрирована способность вкДНК нелеченых больных шизофренией стимулировать сигнальный путь TLR9–NF- κ B–провоспалительные цитоки-

ны [30]. Циркулирующая вкДНК может быть одним из факторов, которые поддерживают системное воспаление при шизофрении [25].

В литературе мало данных о влиянии антипсихотической терапии на характеристики вкДНК, обуславливающие ее биологическую активность. Имеется только одна работа, в которой авторы обнаружили снижение содержания провоспалительных фрагментов мтДНК в циркулирующей ДНК больных шизофренией после курса терапии [29]. Вместе с тем вопрос об изменении свойств вкДНК в сторону уменьшения ее провоспалительной активности является актуальным не только для шизофрении, но и для других заболеваний, которые сопровождаются системным воспалением неинфекционной природы.

Цель этого исследования: определить влияние антипсихотической терапии на содержание иммуностимулирующих фрагментов рибосомных генов в составе циркулирующей вкДНК больных параноидной шизофренией.

Методы

1. Пациенты

Исследование выполнено в соответствии с последней версией Хельсинкского соглашения и входит в программу: «Молекулярные и нейрофизиологические маркеры эндогенных психозов человека», которая была одобрена независимым междисциплинарным Комитетом по этической экспертизе клинических исследований (протокол от 26 марта 2019 года). Все больные дали информированное согласие на участие в исследовании.

Выборка больных включала 334 человека (240 мужчин, 94 женщины, средний возраст 34 ± 19 лет) с диагнозом (по МКБ-10) параноидная (F20.0) шизофрения, проживающих в г. Москве и Московской области. Больные проходили лечение в связи с обострением заболевания в «Психиатрической клинической больнице № 1 имени Н.А. Алексеева» Департамента здравоохранения города Москвы и в филиалах больницы № 1. Для постановки диагноза проводили первичное анкетирование, психометрическое обследование (шкалы PANSS, HAM-D, CGI, UKU, шкала мании Янга), регистрировали социально-демографические данные. Оценку когнитивных функций проводили после стабилизации психического состояния с использованием стандартных когнитивных тестов. Критерии исключения: наличие зависимости от наркотиков, органические психические расстройства любого генеза,

умственная отсталость, хроническое неврологическое заболевание, острое и хроническое тяжелое соматическое заболевание, отказ от исследования.

При поступлении в стационар больного условно относили к одной из трех групп в соответствии с данными о приеме антипсихотических препаратов накануне госпитализации.

I. Группа SZ(M-). Больные не принимали антипсихотические препараты, как минимум, четыре недели на момент госпитализации (N=147). Эта группа включала первичных больных (82%) и хронических больных, которые не принимали препараты в силу различных причин.

II. Группа SZ(M-)*. В группе SZ(M-) выделили подгруппу первичных больных из 44 человек (мужчины), которые никогда ранее не лечились и не принимали антипсихотики. У этих больных кровь отбирали два раза: при поступлении в стационар [группа SZ(M-)*] и после курса терапии в течение нескольких недель [группа SZ(M+)*]. Терапия этих больных проходила в 2 этапа: (1) типичные нейролептики (хлорпромазин, сульпирид, галоперидол) применялись в качестве купирующих галлюцинаторно- и аффективно-бредовую симптоматику в первые дни лечения; (2) атипичные нейролептики (рисперидон, кветиапин, оланзапин) применяли для поддерживающей терапии. Для блокирования побочных эффектов назначали корректирующие препараты (циклодол и акинетон).

III. Группа SZ(M+). Эти больные (N = 187) регулярно наблюдались в психоневрологическом диспансере на базе «Психиатрической клинической больницы № 1 имени Н.А. Алексеева» и принимали атипичные антипсихотики (рисперидон, кветиапин, оланзапин, zipразидон, палиперидон, арипипразол, амисульпирид, клозапин) на момент обострения заболевания и госпитализации. Для блокирования побочных эффектов в диспансере назначали корректирующие препараты (циклодол и акинетон).

Группа контроля К. Группа включала добровольцев (75 мужчин и 20 женщин, средний возраст 37 ± 15 лет), которые не страдали психическими расстройствами, не состояли в родстве с пациентами и не имели семейной отягощенности шизофренией.

2. Определение содержания рДНК в ДНК, выделенной из клеток и плазмы крови

Количественный анализ содержания рДНК в ДНК включал три этапа, которые подробно были описаны ранее с изложением соответствующих методик [24,31]: (1) выделение ДНК из плазмы и лейкоцитов крови;

(2) определение концентрации вкДНК и клДНК в растворе и (3) проведение нерадиоактивной количественной гибридизации (NQН).

ДНК выделяли из биожидкостей методом экстракции органическими растворителями. Перед экстракцией лизаты клеток и плазмы обрабатывали РНКазой А и протеиназой К. Концентрацию ДНК в растворе определяли с использованием набора реагентов Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Invitrogen) на приборе EnSpire (Finland) при длине возбуждения 488 нм и длине эмиссии 528 нм.

Для NQH применили мембраны (Optitran BA-S85, GE Healthcare). ДНК-мишень денатурировали 0,1 NaOH. Для каждого образца ДНК наносили по 4 параллельных пятна. Одновременно на фильтр наносили несколько образцов ДНК с известным содержанием рДНК (калибровка). Для гибридизации применили зонд-плазмиду pBR322-rDNA. Вектор pBR322 содержит вставку – EcoR1 фрагмент рДНК (длина 5,8 т.п.н. – от -515 до 5321 нуклеотидов относительно начала транскрипции). Плазмиду-зонд метили биотинном путём ник-трансляции (нуклеотид bio-11-dUTP). После гибридизации фильтры сушили, сканировали, и их изображение анализировали, используя специально написанную для данной технологии программу «Imager ба», с использованием которой вычисляли интегральную интенсивность и площадь каждого пятна, среднее значение и стандартное отклонение для пятен, соответствующих каждому образцу ДНК. Учитывали также возможный фоновый сигнал. Калибровочная зависимость связывает содержание рДНК в ДНК и интегральную интенсивность пятен. Средняя относительная стандартная ошибка метода, который включает все три стадии (выделение ДНК, определение концентрации и NQH) составила 11 %.

3. Определение активности ДНКазы 1

Активность ДНКазы 1 плазмы крови определяли методом радиальной диффузии в агарозном геле. Образцы плазмы по 2 мкл наносили в точечные лунки 1% агарозного геля, содержащего 0,05М Трис рН 7,6, 10 мМ хлорида магния, 1мМ хлорида кальция, 25 мкг/мл бромистого этидия и 0,5 мг/мл ДНК цыпленка, и инкубировали 16 ч во влажной камере при температуре 37°C. Гель визуализировали в ультрафиолетовом освещении, и ферментативную активность рассчитывали по калибровочной кривой, построенной по скорости гидролиза ДНК цыпленка бычьей панкреатической ДНКазой I (Sigma) известных концентраций.

4. Статистические методы

Каждый опыт был проведен не менее двух раз. Значимость различий полученных в работе результатов анализировали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (вероятность p). Распределения значений параметров сравнивали с помощью непараметрического критерия Колмогорова-Смирнова (D и α). Анализ данных проводился в программе StatPlus2007 Professional software и Statgraphics Centurion 17 (Statgraphics, США).

Результаты и обсуждение

вкДНК выделили из плазмы крови нелеченых больных (группа SZ(M-), $N=147$), хронических больных шизофренией, которые на момент обострения заболевания принимали антипсихотические препараты (группа SZ(M+), $N=187$) и здоровых добровольцев (группа К, $N=95$). Концентрации вкДНК в анализируемых группах были определены и подробно обсуждены в нашем предыдущем исследовании [32]. Результаты предыдущей работы кратко суммированы на

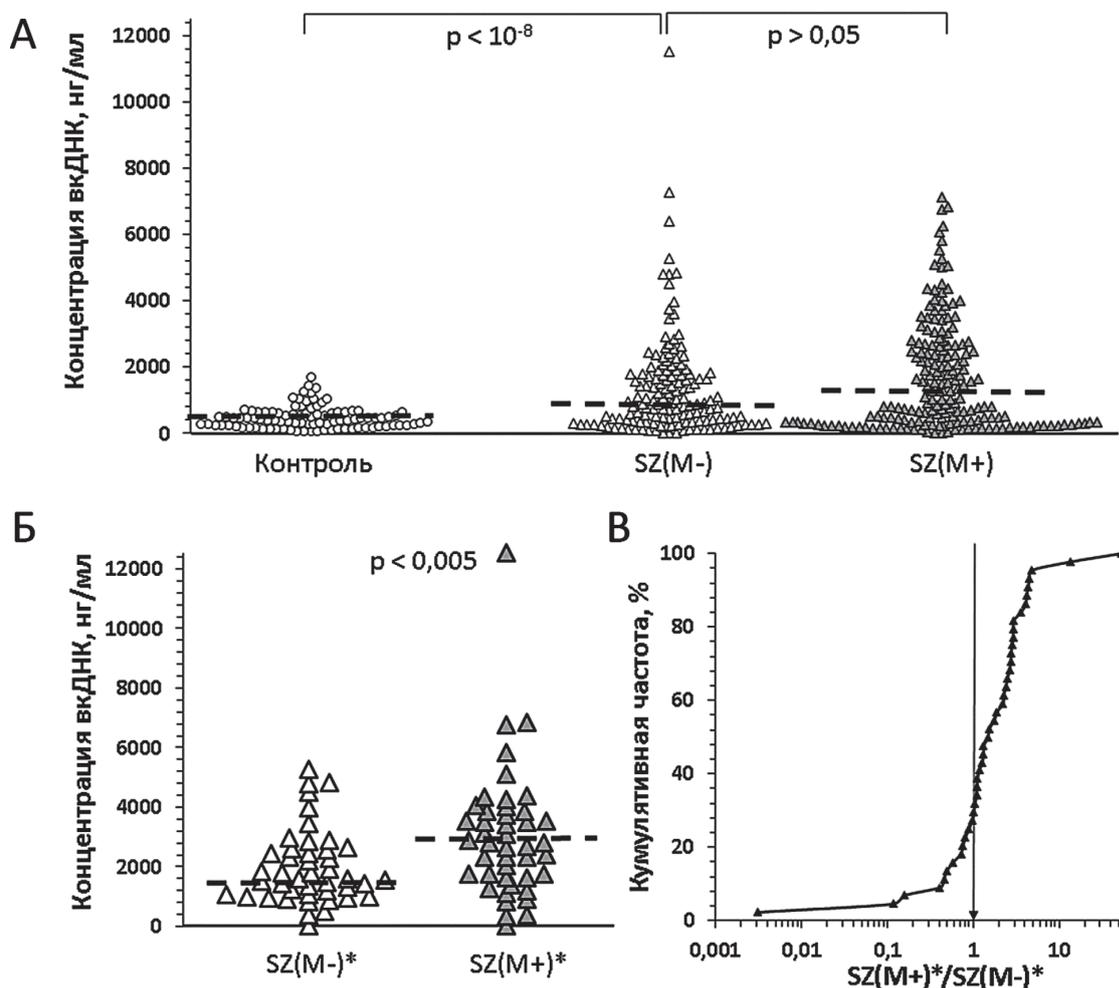


Рис. 1. А. Концентрация вкДНК в плазме крови исследуемых групп (суммированы данные предыдущего исследования [32]). Приведены медианы концентраций (пунктирные линии). Группы сравнивали с использованием критерия Манна-Уитни. Б и В. Изменение концентрации вкДНК в плазме крови первичных больных подгруппы SZ(M-)* в процессе антипсихотической терапии.

Fig. 1. A. Concentration of cfDNA in the blood plasma of the studied groups (data from a previous study [32] are summarized). Median concentrations are shown (dashed lines). Groups were compared using the Mann-Whitney test. Б and В. Changes in the concentration of cfDNA in the blood plasma of primary patients of the SZ(M-)* subgroup during antipsychotic therapy.

рис. 1, что необходимо для дальнейшего изложения. В группе SZ(M+) медианные значения концентрации вкДНК были несколько выше, однако группы SZ(M+) и SZ(M-) достоверно не различались по концентрации вкДНК ($p > 0,05$).

В подгруппе первичных больных, которые ранее никогда не лечились (группа SZ(M-)*, N=44, мужчины), концентрацию вкДНК определили дважды: в плазме крови, полученной в день госпитализации и после месячного курса антипсихотической терапии (**рис. 1Б**). Терапия сопровождалась снижением концентрации вкДНК в плазме крови 20% больных группы SZ(M-)* и увеличением концентрации вкДНК в плазме крови 50% больных (**рис. 1В**). У 30% пациентов этой группы концентрации не изменялись (с учетом ошибки эксперимента, см. [32]).

Содержание рДНК было определено в ДНК, выделенной из лейкоцитов (кл-рДНК) и плазмы крови (вк-рДНК) всех участников исследования. На **рис. 2А** приводятся экспериментальные значения, в **табл. 1** – данные описательной статистики. На **рис. 2Б** приведены кумулятивные распределения параметра, отражающего изменение в числе копий рДНК в циркулирующей ДНК по сравнению с клеточной ДНК. Геномы больных шизофренией, независимо от терапии, содержат достоверно больше копий рДНК, чем геномы здоровых людей (**рис. 1А**). Этот результат полностью согласуется с ранее опубликованными для других выборок больных SZ данными [31].

В 80% образцов крови группы контроля и в 95% образцов группы SZ(M-) содержание рДНК в со-

ставе вкДНК превышает содержание рДНК в составе ДНК, выделенной из лейкоцитов того же образца крови (**рис. 2Б** и **табл. 1**). В группе SZ(M+) только 30% образцов крови содержат больше рДНК в составе вкДНК, чем в составе клДНК. Сравнение групп по содержанию вк-рДНК позволяет предположить, что терапия ассоциирована со снижением содержания рДНК в составе вкДНК (**рис. 2В**). ВкДНК леченых больных содержит меньше копий рДНК, чем вкДНК контрольной группы. Чтобы подтвердить факт снижения числа копий рДНК в вкДНК леченых больных, мы проанализировали изменения в числе копий вк-рДНК в группе нелеченых первичных больных SZ(M-)* в ходе терапии (**рис. 2Г** и **Д**). Число копий кл-рДНК в лейкоцитах этих больных не изменялось в процессе терапии с учетом ошибки измерения. Число копий вк-рДНК напротив значительно снижалось у 75% больных и повышалось только у 5% больных.

Биологическое действие вкДНК определяется концентрацией активных фрагментов в плазме крови [33]. Концентрация вк-рДНК в плазме крови нелеченых больных группы SZ(M-) значительно превышала концентрацию вк-рДНК в плазме крови больных группы SZ(M+) и контроля (**рис. 3**). Терапия больных группы SZ(M-)* сопровождалась снижением концентрации вк-рДНК в плазме крови 70% больных. Таким образом, прием антипсихотических препаратов сопровождается снижением концентрации биологически активных фрагментов вк-рДНК в плазме крови. Следует отме-

Таблица 1. Данные описательной статистики параметров, отражающих содержание рДНК в клеточной ДНК и внеклеточной ДНК и концентрацию рДНК в плазме крови

Table 1. Descriptive statistics of parameters of rDNA content in cellular DNA and extracellular DNA and rDNA concentration in blood plasma

Параметр	Группа	Интервал	m (m/m _c)	Kv
Число копий кл-рДНК	Контроль	266 – 731	428 (1,00)	0,26
	SZ (M-)	270 – 892	532 (1,24)	0,23
	SZ (M+)	211 – 1049	499 (1,17)	0,24
Число копий вк-рДНК	Контроль	168 – 2078	717(1,00)	0,48
	SZ (M-)	185 – 3036	1491(2,1)	0,36
	SZ (M+)	37 – 4987	347(0,49)	1,28
Концентрация вк-рДНК, нг/мл плазмы	Контроль	0,16 – 3,38	1,18(1,00)	0,62
	SZ (M-)	0,04 – 53,7	4,31(3,71)	1,16
	SZ (M+)	0,07 – 23,9	1,51(1,32)	1,33

Примечание: m – медиана; Kv – коэффициент вариации

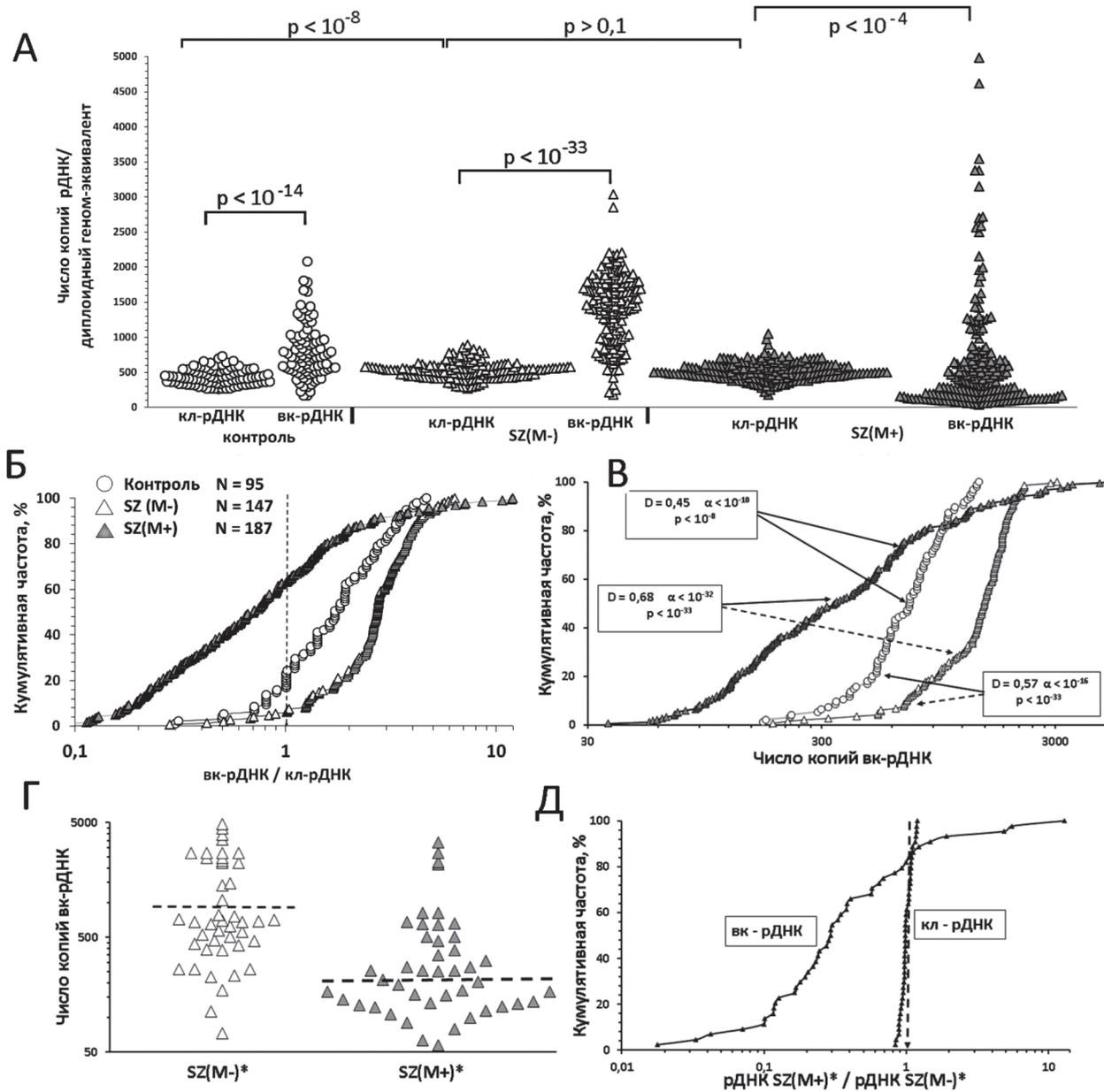


Рис. 2. А. Содержание рДНК в составе вкДНК и клДНК исследуемых групп. Б. Кумулятивные распределения отношения содержания рДНК в вкДНК к содержанию рДНК в клДНК для одних и тех же людей. В. Кумулятивные распределения содержания рДНК в составе вкДНК. Сравнимые распределения обозначены стрелками. В рамках приводятся данные непараметрической статистики сравнения распределений (метод Колмогорова-Смирнова: D, α) и групп (метод Мана-Уитни: p). Г и Д. Изменение содержания рДНК в составе вкДНК первичных больных шизофренией в процессе антипсихотической терапии.

Fig. 2. А. The amount of rDNA in cfDNA and cDNA of the studied groups. Б. Cumulative distributions of the ratio of rDNA in cfDNA to rDNA in cDNA for the same individuals. В. Cumulative distributions of rDNA content in cfDNA. The compared distributions are indicated by arrows. Boxes show data of nonparametric statistics comparing distributions (Kolmogorov-Smirnov test: D, α) and groups (Mann-Whitney test: p). Г and Д. Changes in the amount of rDNA in the cfDNA of primary patients with schizophrenia during antipsychotic therapy.

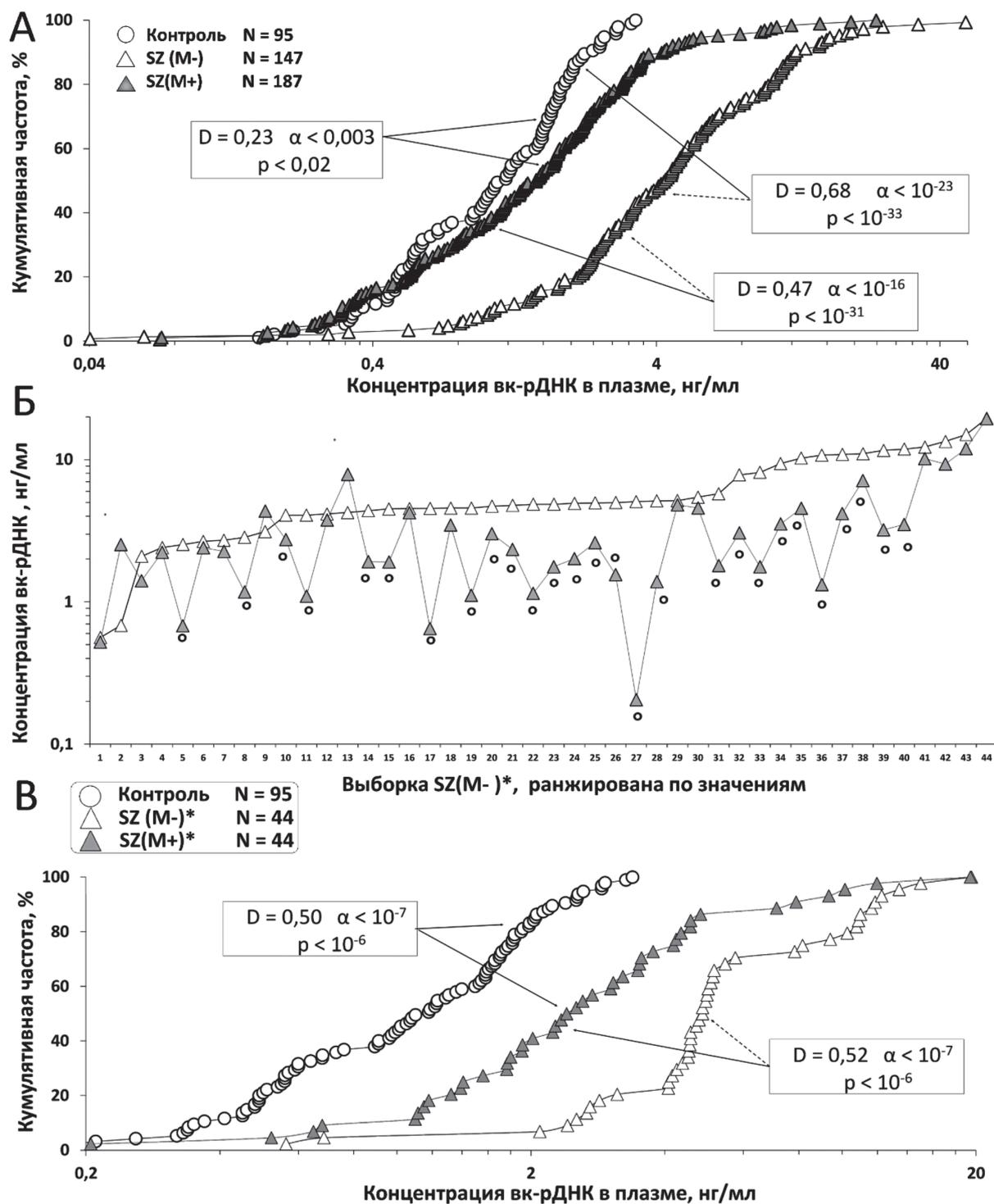


Рис. 3. А. Кумулятивные распределения концентрации вк-рДНК в плазме крови людей исследуемых групп. Б и В. Изменение концентрации вк-рДНК в плазме крови первичных больных шизофренией в процессе антипсихотической терапии.

Fig. 3. А. Cumulative distributions of cf-rDNA concentration in the blood plasma of people in the studied groups. Б and В. Changes in the concentration of cf-rDNA in the blood plasma of primary patients with schizophrenia during antipsychotic therapy.

туть, что мы не обнаружили ассоциации концентрации вк-рДНК с каким-либо конкретным типом препарата. Группы SZ(M+) и SZ(M+)* были очень гетерогенны с точки зрения используемой терапии. Кроме того, у каждого больного в процессе лечения одновременно или последовательно использовали не один антипсихотический препарат.

Концентрация биологически активных фрагментов вк-рДНК в плазме крови определяется двумя основными процессами: (1) гибелью клеток и поступлением различных фрагментов ДНК погибших клеток в циркуляцию и (2) элиминацией фрагментов вкДНК из кровотока (рис. 4). Для перевода высокомолекулярных фрагментов хроматина в низкомолекулярные, которые фильтруются почками, в крови возрастает активность ряда ферментов-эндонуклеаз, которые вносят односторонние разрывы в двуспиральную молекулу ДНК. Накопление односторонних разрывов приводит к фрагментации хроматина. GC-богатые фрагменты вкДНК более устойчивы к фрагментации при накоплении односторонних разрывов в цепях ДНК, поэтому остаются относительно высокомолекулярными и со временем накапливаются в составе вкДНК [22]. Значительное снижение содержания рДНК в составе

вкДНК больных, принимающих антипсихотики, могло быть обусловлено резким возрастанием эндонуклеазной активности. Чтобы проверить это предположение, мы определили уровень нуклеазной активности (НА) в исследуемых группах (рис. 5). Оказалось, что уровень НА в группе SZ(M+) существенно не отличается от уровня в группе SZ(M-) и значительно превосходит уровень НА в контроле. Исследование влияния терапии на НА в группе SZ(M-)* показало индивидуальный ответ на терапию (рис. 5Б). В целом группы SZ(M-)* и SZ(M+)* не различались по уровню НА (рис. 5В). Таким образом, изменениями в НА нельзя объяснить значительное снижение концентрации рДНК в плазме крови леченых больных на фоне мало изменяющейся общей концентрации фрагментов вкДНК (рис. 1).

В табл. 2 приводятся данные корреляционного анализа описанных выше параметров. Достоверная отрицательная корреляция между уровнем эндонуклеазной активности и концентрацией вкДНК обнаружена только для группы контроля. У здоровых людей уровень вкДНК напрямую зависит от эндонуклеазной активности плазмы: чем выше эндонуклеазная активность, тем ниже концентрация вкДНК. У больных та-

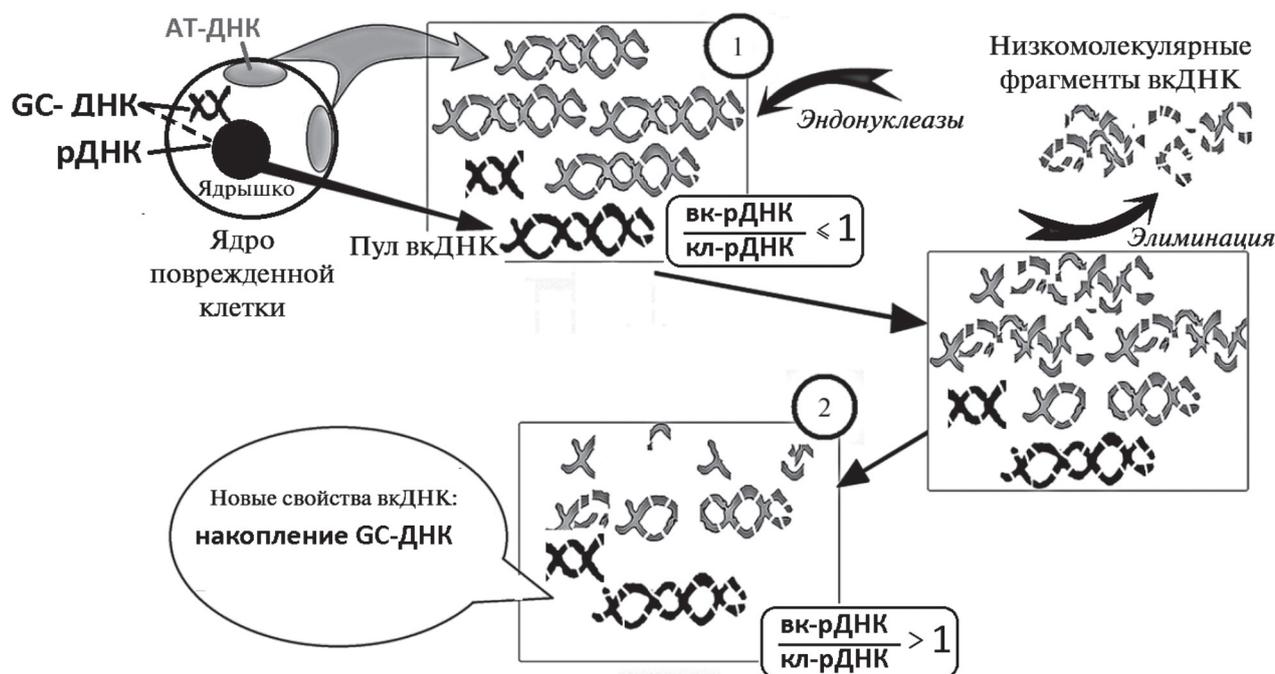


Рис. 4. Схема, описывающая вариации в содержании рДНК в составе вкДНК плазмы крови. Пояснения см. в тексте.

Fig. 4. Scheme describing variations in the content of rDNA in cfDNA in blood plasma. See text for explanations.

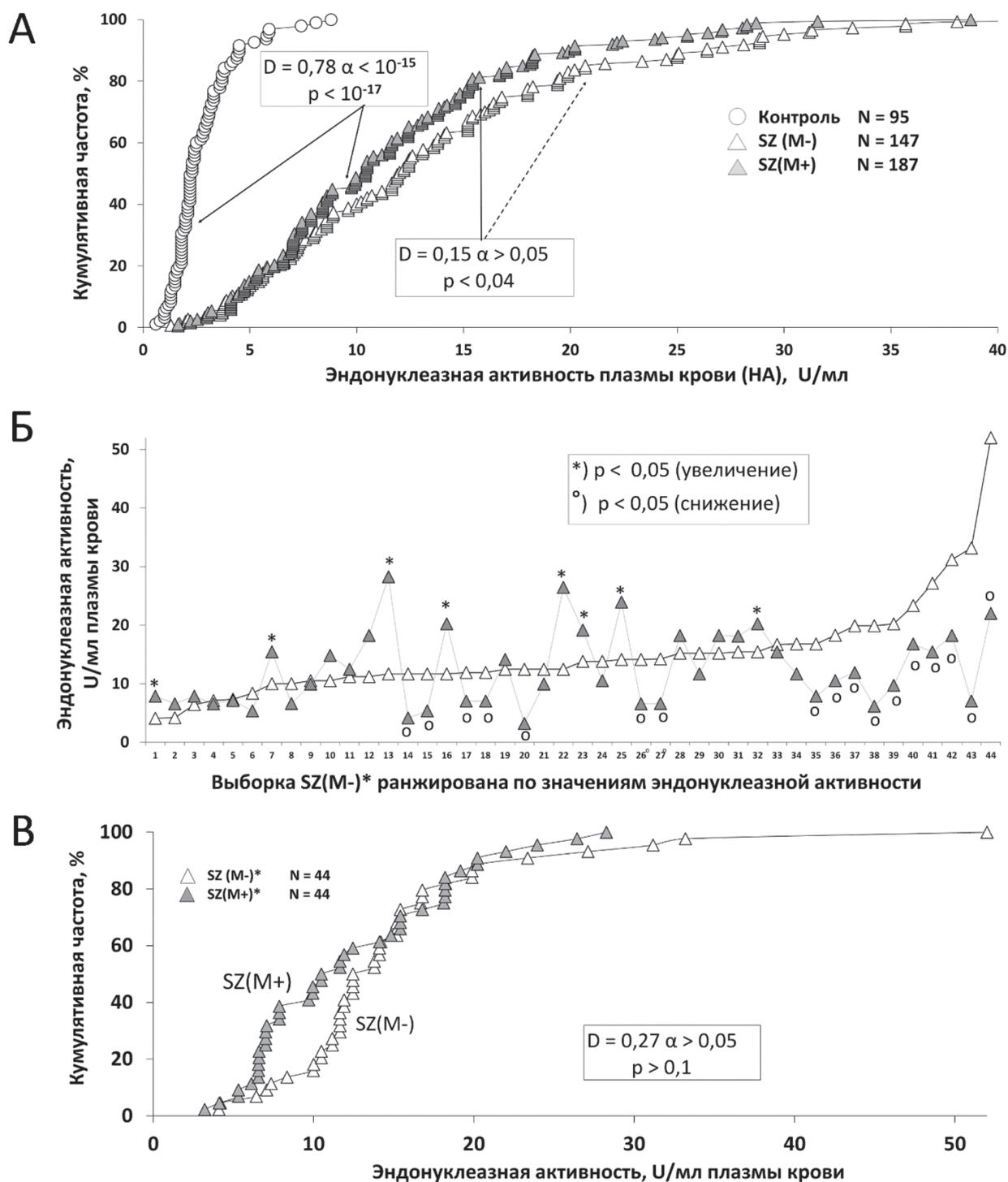


Рис. 5. А. Кумулятивные распределения значений эндонуклеазной активности в плазме крови людей исследуемых групп. **Б и В.** Изменение эндонуклеазной активности плазмы крови первичных больных шизофренией в процессе антипсихотической терапии.

Fig. 5. A. Cumulative distributions of endonuclease activity values in the blood plasma of people in the studied groups. **Б and В.** Changes in plasma endonuclease activity in primary patients with schizophrenia during antipsychotic therapy.

кой зависимости не наблюдается. По-видимому, значения НА достигают максимальных и не изменяются при увеличении количества фрагментов вкДНК вследствие повышенного уровня гибели клеток.

Во всех группах обнаружена закономерность: чем выше общая концентрация фрагментов вкДНК, тем ниже содержание рибосомного повтора во вкДНК. На схеме (рис. 4) низкое содержание вк-рДНК в вкДНК соответствует состоянию 1, когда процессы гибели клеток происходят на фоне недостаточно активированных процессов элиминации вкДНК из кровотока. Концентрация активных фрагментов вк-рДНК в плазме положительно коррелирует с об-

щей концентрацией вкДНК. Коэффициенты корреляции максимальны для группы нелеченых больных SZ(M-) и для группы контроля. В контроле также обнаружена отрицательная корреляция между концентрацией вк-рДНК и НА: чем выше активность эндонуклеаз, тем эффективнее снижается концентрация провоспалительных фрагментов вк-рДНК. В группе SZ(M+) концентрация вк-рДНК зависит в равной степени от двух параметров: общей концентрации вкДНК и от содержания рДНК в составе вкДНК. Этот факт говорит о несколько иных механизмах формирования характеристик вкДНК в присутствии антипсихотиков в организме.

Таблица 2. Корреляционный анализ исследуемых параметров.

Table 2. Correlation analysis of the studied parameters.

Группа	Параметр	НА	Число копий кл-рДНК	Число копий вк-рДНК	С вк-рДНК
Контроль N=95	С вкДНК	-0,29	0,17	-0,45	0,72
		0,005	0,1	0	0
	НА		0,02	-0,03	-0,32
			0,87	0,77	0,001
	Число копий кл-рДНК			-0,08	-0,08
				0,41	0,46
Число копий вк-рДНК				0,06	
				0,54	
SZ(M-) N = 147	С вкДНК	-0,04	0,06	-0,42	0,82
		0,64	0,46	0	0
	НА		-0,04	-0,01	-0,03
			0,63	0,93	0,69
	Число копий кл-рДНК			0,01	0,06
				0,89	0,44
Число копий вк-рДНК				-0,03	
				0,75	
SZ(M+) N = 187	С вкДНК	0,08	-0,21	-0,37	0,34
		0,30	0,005	0	0
	НА		-0,09	-0,02	0,05
			0,23	0,79	0,50
	Число копий кл-рДНК			0,09	-0,17
				0,20	0,02
Число копий вк-рДНК				0,30	
				0	

Примечание: Приводятся коэффициенты корреляции и вероятности. Серым цветом обозначены достоверные корреляции.

В качестве возможной причины значительного снижения провоспалительных фрагментов вк-рДНК в кровотоке больных шизофренией в курсе антипсихотической терапии можно предположить влияние антипсихотиков на процессы выхода ДНК из структур ядрышка погибших клеток в кровотоки. Ядрышко – это обособленная и относительно закрытая структура ядра. Возможно, антипсихотики стабилизируют хроматин ядрышка, блокируя выход рДНК. Практически все используемые для лечения шизофрении химические соединения содержат атомы азота с повышенным уровнем электронной плотности в виде первичных, вторичных и третичных алифатических аминогрупп. Положительный заряд этих молекул может приводить к их взаимодействию с отрицательно заряженными группами ДНК и к стабилизации двойной спирали ДНК. Можно также предположить блокирование в клетке GC-специфичных эндонуклеаз, которые активированы в ядрышке в процессе апоптоза. В пользу этого предположения говорит и ранее описанный факт снижения концентрации провоспалительных фрагментов вк-мтДНК в плазме крови больных шизофренией в процессе применения нейролептиков [29]. Для выявления реальных механизмов снижения концентрации вк-рДНК в крови леченых антипсихотиками больных требуются отдельные исследования. Эти исследования должны включать анализ влияния монотерапии определенным антипсихотиком на концентрацию биологически активных фрагментов вкДНК и опыты *in vitro* по исследованию влияния конкретных соединений на уровень фрагментации рДНК в составе ядрышка в условиях стресса.

Ценностью данного исследования является тот факт, что подтверждена принципиальная возможность модулирования состава вкДНК с точки зрения снижения биологически активных фрагментов, которые стимулируют сигнальные пути, ассоциированные с системным воспалением и старением организма. Ранее для изменения свойств вкДНК предлагали применение препаратов ДНКазы 1, которые снижают общую концентрацию фрагментов вкДНК [33]. Снижение концентрации вкДНК с целью уменьшения воспаления при тяжелых состояниях (сепсис, ревматоидный артрит, системная красная волчанка) предлагается также осуществлять путем введения в кровотоки наночастиц, которые связывают вкДНК, блокируя ее провоспалительную активность [34–38].

Поиск малотоксичных синтетических и природных соединений на основе молекулярных структур, входя-

щих в состав антипсихотиков, может привести к появлению лекарств, снижающих системное неинфекционное воспаление в организме человека. Это является принципиально новым подходом к изменению характеристик циркулирующей вкДНК.

Литература

1. Wan J.C.M., Massie C., Garcia-Corbacho J., Mouliere F., Brenton J.D., Caldas C., Pacey S., Baird R., Rosenfeld N. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(4):223-238. doi: 10.1038/nrc.2017.7.
2. Heitzer E., Haque I.S., Roberts C.E.S., Speicher M.R. Current and future perspectives of liquid biopsies in genomics-driven oncology. *Nat Rev Genet*. 2019;20(2):71-88. doi: 10.1038/s41576-018-0071-5.
3. Kustanovich A., Schwartz R., Peretz T., Grinshpun A. Life and death of circulating cell-free DNA. *Cancer Biol Ther*. 2019;20(8):1057-1067. doi: 10.1080/15384047.2019.1598759.
4. Duvvuri B., Lood C. Cell-Free DNA as a Biomarker in Autoimmune Rheumatic Diseases. *Front Immunol*. 2019;10:502. doi: 10.3389/fimmu.2019.00502.
5. Han D.S.C., Lo Y.M.D. The Nexus of cfDNA and Nuclease Biology. *Trends Genet*. 2021;37(8):758-770. doi: 10.1016/j.tig.2021.04.005.
6. Knight SR, Thorne A, Lo Faro ML. Donor-specific Cell-free DNA as a Biomarker in Solid Organ Transplantation. A Systematic Review. *Transplantation*. 2019;103(2):273-283. doi: 10.1097/TP.0000000000002482.
7. Meddeb R., Dache Z.A.A., Thezenas S., Otandault A., Tanos R., Pastor B., Sanchez C., Azzi J., Tusch G., Azan S., Mollevi C., Adenis A., El Mersaoudi S., Blache P., Thierry A.R. Quantifying circulating cell-free DNA in humans. *Sci Rep*. 2019;9(1):5220. doi: 10.1038/s41598-019-41593-4.
8. Marsman G., Zeerleder S., Luken B.M. Extracellular histones, cell-free DNA, or nucleosomes: differences in immunostimulation. *Cell Death Dis*. 2016;7(12):e2518. doi: 10.1038/cddis.2016.410.
9. Nie L., Cai S.Y., Shao J.Z., Chen J. Toll-Like Receptors, Associated Biological Roles, and Signaling Networks in Non-Mammals. *Front Immunol*. 2018;9:1523. doi: 10.3389/fimmu.2018.01523.
10. Zhang Q., Raoof M., Chen Y., Sumi Y., Sursal T., Junger W., Brohi K., Itagaki K., Hauser C.J. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010;464(7285):104-7. doi: 10.1038/nature08780.
11. Dwivedi D.J., Toltil L.J., Swystun L.L., Pogue J., Liaw K.L., Weitz J.I., Cook D.J., Fox-Robichaud A.E., Liaw P.C.; 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. doi: 10.1186/cc11466.
12. Weber C., Jenke A., Chobanova V., Yazdanyar M., Chekhoeva A., Eghbalzadeh K., Lichtenberg A, Wahlers T, Akhyari P, Paunel-Görgülü A. Targeting of cell-free DNA by DNase I diminishes endothelial dysfunction and inflammation in a rat model of cardiopulmonary bypass. *Sci Rep*. 2019;9(1):19249. doi: 10.1038/s41598-019-55863-8.
13. Soni C., Reizis B. DNA as a self-antigen: nature and regulation. *Curr Opin Immunol*. 2018;55:31-37. doi: 10.1016/j.coi.2018.09.009.
14. Chan R.W., Jiang P., Peng X., Tam L.S., Liao G.J., Li E.K., Wong P.C., Sun H., Chan K.C., Chiu R.W., Lo Y.M. Plasma DNA aberrations in systemic lupus erythematosus revealed by genomic and methylomic sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(49):E5302-11. doi: 10.1073/pnas.1421126111.
15. Tamkovich S.N., Cherepanova A.V., Kolesnikova E.V., Rykova E.Y., Pysnyi D.V., Vlassov V.V., Laktionov P.P. Circulating DNA and

- DNase activity in human blood. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1075:191-6. doi: 10.1196/annals.1368.026.
16. Kawai Y., Yoshida M., Arakawa K., Kumamoto T., Morikawa N., Masamura K., Tada H., Ito S., Hoshizaki H., Oshima S., Taniguchi K., Terasawa H., Miyamori I., Kishi K., Yasuda T. Diagnostic use of serum deoxyribonuclease I activity as a novel early-phase marker in acute myocardial infarction. *Circulation.* 2004;109(20):2398-400. doi: 10.1161/01.CIR.0000129232.61483.43.
 17. Yasuda T., Iida R., Kawai Y., Nakajima T., Kominato Y., Fujihara J., Takeshita H. Serum deoxyribonuclease I can be used as a useful marker for diagnosis of death due to ischemic heart disease. *Leg Med (Tokyo).* 2009;11 Suppl 1:S213-5. doi: 10.1016/j.legalmed.2009.01.092.
 18. Ershova E., Sergeeva V., Klimenko M., Avetisova K., Klimenko P., Kostyuk E., Veiko N., Veiko R., Izevskaya V., Kutsev S., Kostyuk S. Circulating cell-free DNA concentration and DNase I activity of peripheral blood plasma change in case of pregnancy with intrauterine growth restriction compared to normal pregnancy. *Biomed Rep.* 2017;7(4):319-324. doi: 10.3892/br.2017.968.
 19. Velders M., Treff G., Machus K., Bosnyák E., Steinacker J., Schumann U. Exercise is a potent stimulus for enhancing circulating DNase activity. *Clin Biochem.* 2014;47(6):471-4. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.12.017.
 20. Вейко Н.Н., Шубаева Н.О., Иванова С.М., Сперанский А.И., Ляпунова Н.А., Спитковский Д.М. ДНК сыворотки крови больных ревматоидным артритом значительно обогащена фрагментами рибосомных повторов, содержащих иммуностимулирующие CpG-мотивы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2006; 9: 282-285.
 21. Korzeneva I.B., Kostyuk S.V., Ershova E.S., Skorodumova E.N., Zhuravleva V.F., Pankratova G.V., Volkova I.V., Stepanova E.V., Porokhovnik L.N., Veiko N.N. Human circulating ribosomal DNA content significantly increases while circulating satellite III (1q12) content decreases under chronic occupational exposure to low-dose gamma-neutron and tritium beta-radiation. *Mutat Res.* 2016;791-792:49-60. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2016.09.001.
 22. Вейко Н.Н., Булычева Н.В., Рогинко О.А., Вейко Р.В., Ершова Е.С., Коздоба О.А., Кузьмин В.А., Виноградов А.М., Юдин А.А., Сперанский А.И. Фрагменты транскрибируемой области рибосомного повтора в составе внеклеточной ДНК — маркер гибели клеток организма. *Биомедицинская химия.* 2008; 54(1):78-93.
 23. Aswani A., Manson J., Itagaki K., Chiazza F., Collino M., Wupeng W.L., Chan T.K., Wong W.S.F., Hauser C.J., Thiemermann C., Brohi K. Scavenging Circulating Mitochondrial DNA as a Potential Therapeutic Option for Multiple Organ Dysfunction in Trauma Hemorrhage. *Front Immunol.* 2018;9:891. doi: 10.3389/fimmu.2018.00891.
 24. Ershova E.S., Jestkova E.M., Martynov A.V., Shmarina G.V., Umriukhin P.E., Bravve L.V., Zakharova N.V., Kostyuk G.P., Saveliev D.V., Orlova M.D., Bogush M., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V. Accumulation of Circulating Cell-Free CpG-Enriched Ribosomal DNA Fragments on the Background of High Endonuclease Activity of Blood Plasma in Schizophrenic Patients. *Int J Genomics.* 2019;2019:8390585. doi: 10.1155/2019/8390585.
 25. Ershova E.S., Jestkova E.M., Chestkov I.V., Porokhovnik L.N., Izevskaya V.L., Kutsev S.I., Veiko N.N., Shmarina G., Dolgikh O., Kostyuk S.V. Quantification of cell-free DNA in blood plasma and DNA damage degree in lymphocytes to evaluate dysregulation of apoptosis in schizophrenia patients. *J Psychiatr Res.* 2017;87:15-22. doi: 10.1016/j.jpsychires.2016.12.006.
 26. Jung M., Kristiansen G., Dietrich D. DNA Methylation Analysis of Free-Circulating DNA in Body Fluids. *Methods Mol Biol.* 2018;1708:621-641. doi: 10.1007/978-1-4939-7481-8_32.
 27. Jiang J., Chen X., Sun L., Qing Y., Yang X., Hu X., Yang C., Xu T., Wang J., Wang P., He L., Dong C., Wan C. Analysis of the concentrations and size distributions of cell-free DNA in schizophrenia using fluorescence correlation spectroscopy. *Transl Psychiatry.* 2018;8(1):104. doi: 10.1038/s41398-018-0153-3.
 28. Qi J., Chen L.Y., Shen X.J., Ju S.Q. Analytical Value of Cell-Free DNA Based on Alu in Psychiatric Disorders. *Front Psychiatry.* 2020;10:992. doi: 10.3389/fpsy.2019.00992.
 29. Ouyang H., Huang M., Xu Y., Yao Q., Wu X., Zhou D. Reduced Cell-Free Mitochondrial DNA Levels Were Induced by Antipsychotics Treatment in First-Episode Patients With Schizophrenia. *Front Psychiatry.* 2021;12:652314. doi: 10.3389/fpsy.2021.652314.
 30. Ershova E.S., Shmarina G.V., Porokhovnik L.N., Zakharova N.V., Kostyuk G.P., Umriukhin P.E., Kutsev S.I., Sergeeva V.A., Veiko N.N., Kostyuk S.V. In Vitro Analysis of Biological Activity of Circulating Cell-Free DNA Isolated from Blood Plasma of Schizophrenic Patients and Healthy Controls. *Genes (Basel).* 2022;13(3):551. doi: 10.3390/genes13030551.
 31. Chestkov I.V., Jestkova E.M., Ershova E.S., Golimbet V.E., Lezheiko T.V., Kolesina N.Y., Porokhovnik L.N., Lyapunova N.A., Izevskaya V.L., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V. Abundance of ribosomal RNA gene copies in the genomes of schizophrenia patients. *Schizophr Res.* 2018;197:305-314. doi: 10.1016/j.schres.2018.01.001.
 32. Жесткова Е.М., Ершова Е.С., Мартынов А.В., Захарова Н.В., Костюк Г.П., Вейко Н.Н., Костюк С.В. Концентрация циркулирующей внеклеточной ДНК в плазме периферической крови больных с острыми психозами эндогенной и экзогенной этиологии. *Психиатрия.* 2021; 19(3): 6-14.
 33. Костюк С.В. Роль внеклеточной ДНК в функциональной активности генома человека. Диссертация доктора биологических наук. Москва, 2014. - 450 с.
 34. Kumar R., Sonkar V.K., Swamy J., Ahmed A., Sharathkumar A.A., Pierce G.L., Dayal S. DNase 1 Protects From Increased Thrombin Generation and Venous Thrombosis During Aging: Cross-Sectional Study in Mice and Humans. *J Am Heart Assoc.* 2022;11(2):e021188. doi: 10.1161/JAHA.121.021188.
 35. Dawulieti J., Sun M., Zhao Y., Shao D., Yan H., Lao Y.H., Hu H., Cui L., Lv X., Liu F., Chi C.W., Zhang Y., Li M., Zhang M., Tian H., Chen X., Leong K.W., Chen L. Treatment of severe sepsis with nanoparticulate cell-free DNA scavengers. *Sci Adv.* 2020;6(22):eaay7148. doi: 10.1126/sciadv.aay7148.
 36. Liang H., Peng B., Dong C., Liu L., Mao J., Wei S., Wang X., Xu H., Shen J., Mao H.Q., Gao X., Leong K.W., Chen Y. Cationic nanoparticle as an inhibitor of cell-free DNA-induced inflammation. *Nat Commun.* 2018;9(1):4291. doi: 10.1038/s41467-018-06603-5.
 37. Liu F., Sheng S., Shao D., Xiao Y., Zhong Y., Zhou J., Quek C.H., Wang Y., Hu Z., Liu H., Li Y., Tian H., Leong K.W., Chen X. A Cationic Metal-Organic Framework to Scavenge Cell-Free DNA for Severe Sepsis Management. *Nano Lett.* 2021;21(6):2461-2469. doi: 10.1021/acs.nanolett.0c04759.
 38. Chen Y., Wang Y., Jiang X., Cai J., Chen Y., Huang H., Yang Y., Zheng L., Zhao J., Gao M. Dimethylamino group modified polydopamine nanoparticles with positive charges to scavenge cell-free DNA for rheumatoid arthritis therapy. *Bioact Mater.* 2022;18:409-420. doi: 10.1016/j.bioactmat.2022.03.028.

References

1. Wan J.C.M., Massie C., Garcia-Corbacho J., Mouliere F., Brenton J.D., Caldas C., Pacey S., Baird R., Rosenfeld N. Liquid biopsies

- come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(4):223-238. doi: 10.1038/nrc.2017.7.
2. Heitzer E., Haque I.S., Roberts C.E.S., Speicher M.R. Current and future perspectives of liquid biopsies in genomics-driven oncology. *Nat Rev Genet*. 2019;20(2):71-88. doi: 10.1038/s41576-018-0071-5.
 3. Kustanovich A., Schwartz R., Peretz T., Grinshpun A. Life and death of circulating cell-free DNA. *Cancer Biol Ther*. 2019;20(8):1057-1067. doi: 10.1080/15384047.2019.1598759.
 4. Duvvuri B., Lood C. Cell-Free DNA as a Biomarker in Autoimmune Rheumatic Diseases. *Front Immunol*. 2019;10:502. doi: 10.3389/fimmu.2019.00502.
 5. Han D.S.C., Lo Y.M.D. The Nexus of cfDNA and Nuclease Biology. *Trends Genet*. 2021;37(8):758-770. doi: 10.1016/j.tig.2021.04.005.
 6. Knight SR, Thorne A, Lo Faro ML. Donor-specific Cell-free DNA as a Biomarker in Solid Organ Transplantation. A Systematic Review. *Transplantation*. 2019;103(2):273-283. doi: 10.1097/TP.0000000000002482.
 7. Meddeb R., Dache Z.A.A., Thezenas S., Otandault A., Tanos R., Pastor B., Sanchez C., Azzi J., Tousch G., Azan S., Mollevi C., Adenis A., El Messaoudi S., Blache P., Thierry A.R. Quantifying circulating cell-free DNA in humans. *Sci Rep*. 2019;9(1):5220. doi: 10.1038/s41598-019-41593-4.
 8. Marsman G., Zeerleder S., Luken B.M. Extracellular histones, cell-free DNA, or nucleosomes: differences in immunostimulation. *Cell Death Dis*. 2016;7(12):e2518. doi: 10.1038/cddis.2016.410.
 9. Nie L., Cai S.Y., Shao J.Z., Chen J. Toll-Like Receptors, Associated Biological Roles, and Signaling Networks in Non-Mammals. *Front Immunol*. 2018;9:1523. doi: 10.3389/fimmu.2018.01523.
 10. Zhang Q., Raoof M., Chen Y., Sumi Y., Sursal T., Junger W., Brohi K., Itagaki K., Hauser C.J. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010;464(7285):104-7. doi: 10.1038/nature08780.
 11. Dwivedi D.J., Totl L.J., Swystun L.L., Pogue J., Liaw K.L., Weitz J.I., Cook D.J., Fox-Robichaud A.E., Liaw P.C.; 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. doi: 10.1186/cc11466.
 12. Weber C., Jenke A., Chobanova V., Yazdanyar M., Chekhoeva A., Eghbalzadeh K., Lichtenberg A., Wahlers T, Akhyari P, Paunel-Görgülü A. Targeting of cell-free DNA by DNase I diminishes endothelial dysfunction and inflammation in a rat model of cardiopulmonary bypass. *Sci Rep*. 2019;9(1):19249. doi: 10.1038/s41598-019-55863-8.
 13. Soni C., Reizis B. DNA as a self-antigen: nature and regulation. *Curr Opin Immunol*. 2018;55:31-37. doi: 10.1016/j.coi.2018.09.009.
 14. Chan R.W., Jiang P., Peng X., Tam L.S., Liao G.J., Li E.K., Wong P.C., Sun H., Chan K.C., Chiu R.W., Lo Y.M. Plasma DNA aberrations in systemic lupus erythematosus revealed by genomic and methylomic sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(49):E5302-11. doi: 10.1073/pnas.1421126111.
 15. Tamkovich S.N., Cherepanova A.V., Kolesnikova E.V., Rykova E.Y., Pyshnyi D.V., Vlassov V.V., Laktionov P.P. Circulating DNA and DNase activity in human blood. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1075:191-6. doi: 10.1196/annals.1368.026.
 16. Kawai Y., Yoshida M., Arakawa K., Kumamoto T., Morikawa N., Masamura K., Tada H., Ito S., Hoshizaki H., Oshima S., Taniguchi K., Terasawa H., Miyamori I., Kishi K., Yasuda T. Diagnostic use of serum deoxyribonuclease I activity as a novel early-phase marker in acute myocardial infarction. *Circulation*. 2004;109(20):2398-400. doi: 10.1161/01.CIR.0000129232.61483.43.
 17. Yasuda T., Iida R., Kawai Y., Nakajima T., Kominato Y., Fujihara J., Takeshita H. Serum deoxyribonuclease I can be used as a useful marker for diagnosis of death due to ischemic heart disease. *Leg Med (Tokyo)*. 2009;11 Suppl 1:S213-5. doi: 10.1016/j.legalmed.2009.01.092.
 18. Ershova E., Sergeeva V., Klimenko M., Avetisova K., Klimenko P., Kostyuk E., Veiko N., Veiko R., Izevskaya V., Kutsev S., Kostyuk S. Circulating cell-free DNA concentration and DNase I activity of peripheral blood plasma change in case of pregnancy with intrauterine growth restriction compared to normal pregnancy. *Biomed Rep*. 2017;7(4):319-324. doi: 10.3892/br.2017.968.
 19. Velders M., Treff G., Machus K., Bosnyák E., Steinacker J., Schumann U. Exercise is a potent stimulus for enhancing circulating DNase activity. *Clin Biochem*. 2014;47(6):471-4. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.12.017.
 20. Veiko N.N., Shubaeva N.O., Ivanova S.M., Speransky A.I., Lyapunova N.A., Spitkovsky D.M. DNK syvorotki krovi bol'nykh revmatoidnym artritom znachitel'no obogashchena fragmentami ribosomnykh povtorov, sodержashchikh immunostimuliruyushchiye CpG-motiv [Serum DNA of patients with rheumatoid arthritis is significantly enriched in fragments of ribosomal repeats containing immunostimulatory CpG motifs]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2006; 9:282-285. (In Russ.)
 21. Korzeneva I.B., Kostuyk S.V., Ershova E.S., Skorodumova E.N., Zhuravleva V.F., Pankratova G.V., Volkova IV, Stepanova E.V., Porokhovnik LN, Veiko NN. Human circulating ribosomal DNA content significantly increases while circulating satellite III (1q12) content decreases under chronic occupational exposure to low-dose gamma- neutron and tritium beta-radiation. *Mutat Res*. 2016;791-792:49-60. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2016.09.001.
 22. Veiko N.N., Bulycheva N.A., Roginko O.A., Veiko R.V., Ershova E.S., Kozdoba O.A., Kuzmin V.A., Vinogradov A.M., Yudin A.A., Speransky A.I. Fragmenty transkribiruyemoy oblasti ribosomnogo povtora v sostave vnekletochnoy DNK — marker gibeli kletok organizma [Ribosomal repeat in the cell free DNA as a marker for cell death]. *Biomeditsinskaya Khimiya [Biomedical Chemistry]*. 2008; 54(1):78-93. (In Russ.)
 23. Aswani A., Manson J., Itagaki K., Chiazza F., Collino M., Wupeng W.L., Chan T.K., Wong W.S.F., Hauser C.J., Thiemeermann C., Brohi K. Scavenging Circulating Mitochondrial DNA as a Potential Therapeutic Option for Multiple Organ Dysfunction in Trauma Hemorrhage. *Front Immunol*. 2018;9:891. doi: 10.3389/fimmu.2018.00891.
 24. Ershova E.S., Jestkova E.M., Martynov A.V., Shmarina G.V., Umrjukhin P.E., Bravre L.V., Zakharova N.V., Kostyuk G.P., Saveliev D.V., Orlova M.D., Bogush M., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V. Accumulation of Circulating Cell-Free CpG-Enriched Ribosomal DNA Fragments on the Background of High Endonuclease Activity of Blood Plasma in Schizophrenic Patients. *Int J Genomics*. 2019;2019:8390585. doi: 10.1155/2019/8390585.
 25. Ershova E.S., Jestkova E.M., Chestkov I.V., Porokhovnik L.N., Izevskaya V.L., Kutsev S.I., Veiko N.N., Shmarina G., Dolgikh O., Kostyuk S.V. Quantification of cell-free DNA in blood plasma and DNA damage degree in lymphocytes to evaluate dysregulation of apoptosis in schizophrenia patients. *J Psychiatr Res*. 2017;87:15-22. doi: 10.1016/j.jpsychires.2016.12.006.
 26. Jung M., Kristiansen G., Dietrich D. DNA Methylation Analysis of Free-Circulating DNA in Body Fluids. *Methods Mol Biol*. 2018;1708:621-641. doi: 10.1007/978-1-4939-7481-8_32.
 27. Jiang J., Chen X., Sun L., Qing Y., Yang X., Hu X., Yang C., Xu T., Wang J., Wang .P, He L., Dong C., Wan C. Analysis of the concentrations and size distributions of cell-free DNA in schizophrenia using fluorescence correlation spectroscopy. *Transl Psychiatry*. 2018;8(1):104. doi: 10.1038/s41398-018-0153-3.

28. Qi J., Chen L.Y., Shen X.J., Ju .SQ. Analytical Value of Cell-Free DNA Based on Alu in Psychiatric Disorders. *Front Psychiatry*. 2020;10:992. doi: 10.3389/fpsy.2019.00992.
29. Ouyang H., Huang M., Xu Y., Yao Q., Wu X., Zhou D. Reduced Cell-Free Mitochondrial DNA Levels Were Induced by Antipsychotics Treatment in First-Episode Patients With Schizophrenia. *Front Psychiatry*. 2021;12:652314. doi: 10.3389/fpsy.2021.652314.
30. Ershova E.S., Shmarina G.V., Porokhovnik L.N., Zakharova N.V., Kostyuk G.P., Umriukhin P.E., Kutsev S.I., Sergeeva V.A., Veiko N.N., Kostyuk S.V. In Vitro Analysis of Biological Activity of Circulating Cell-Free DNA Isolated from Blood Plasma of Schizophrenic Patients and Healthy Controls. *Genes (Basel)*. 2022;13(3):551. doi: 10.3390/genes13030551.
31. Chestkov I.V., Jestkova E.M., Ershova E.S., Golimbet V.E., Lezheiko T.V., Kolesina N.Y., Porokhovnik L.N., Lyapunova N.A., Izhevskaya V.L., Kutsev .SI., Veiko N.N., Kostyuk S.V. Abundance of ribosomal RNA gene copies in the genomes of schizophrenia patients. *Schizophr Res*. 2018;197:305-314. doi: 10.1016/j.schres.2018.01.001.
32. Jestkova E.M., Ershova E.S., Martynov A.V., Zakharova N.V., Kostyuk G.P., Veiko N.N., Kostyuk S.V. Kонтентсiя tsirkuliruyushchey vnekletochnoy DNK v plazme perifericheskoy krovi bol'nykh s ostrymi psikhozami endogennoy i ekzogennoy etiologii [Concentration of Circulating Cell-Free DNA in the Peripheral Blood Plasma of Patients with Acute Endogenous and Exogenous Etiology Psychoses]. *Psikhiatriya [Psikhiatriya]*. 2021;19(3):6-14. (In Russ.) <https://doi.org/10.30629/2618-6667-2021-19-3-6-14>
33. Kostyuk S.V. Rol' vnekletochnoy DNK v funktsional'noy aktivnosti genoma cheloveka. Dissertatsiya doktora biologicheskikh nauk [The role of extracellular DNA in the functional activity of the human genome. Thesis.... Doctor of Biological Sciences]. Moscow, 2014.- 450 p. (In Russ.)
34. Kumar R., Sonkar V.K., Swamy J., Ahmed A., Sharathkumar A.A., Pierce G.L., Dayal S. DNase 1 Protects From Increased Thrombin Generation and Venous Thrombosis During Aging: Cross-Sectional Study in Mice and Humans. *J Am Heart Assoc*. 2022;11(2):e021188. doi: 10.1161/JAHA.121.021188.
35. Dawulieti J., Sun M., Zhao Y., Shao D., Yan H., Lao Y.H., Hu H., Cui L., Lv X., Liu F., Chi C.W., Zhang Y., Li M., Zhang M., Tian H., Chen X., Leong K.W., Chen L. Treatment of severe sepsis with nanoparticulate cell-free DNA scavengers. *Sci Adv*. 2020;6(22):eaay7148. doi: 10.1126/sciadv.aay7148.
36. Liang H., Peng B., Dong C., Liu L., Mao J., Wei S., Wang X., Xu H., Shen J., Mao H.Q., Gao X., Leong K.W., Chen Y. Cationic nanoparticle as an inhibitor of cell-free DNA-induced inflammation. *Nat Commun*. 2018;9(1):4291. doi: 10.1038/s41467-018-06603-5.
37. Liu F., Sheng S., Shao D., Xiao Y., Zhong Y., Zhou J., Quek C.H., Wang Y., Hu Z., Liu H., Li Y., Tian H., Leong K.W., Chen X. A Cationic Metal-Organic Framework to Scavenge Cell-Free DNA for Severe Sepsis Management. *Nano Lett*. 2021;21(6):2461-2469. doi: 10.1021/acs.nanolett.0c04759.
38. Chen Y., Wang Y., Jiang X., Cai J., Chen Y., Huang H., Yang Y., Zheng L., Zhao J., Gao M. Dimethylamino group modified polydopamine nanoparticles with positive charges to scavenge cell-free DNA for rheumatoid arthritis therapy. *Bioact Mater*. 2022;18:409-420. doi: 10.1016/j.bioactmat.2022.03.028.