

Низкомолекулярная ДНК плазмы крови у больных хронической обструктивной болезнью легких

И.Н. ВАСИЛЬЕВА^{1, 2}, В.Г. БЕСПАЛОВ^{1, 2}

¹ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия; ²Международный научный центр «Биотехнологии третьего тысячелетия», Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Цель исследования. Определение внеклеточной низкомолекулярной ДНК (внмДНК) в плазме крови как показателя апоптоза у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) в состоянии ремиссии по сравнению со здоровыми донорами, больными хроническим необструктивным бронхитом (ХНБ), и их родственниками первой линии родства (РПЛР).

Материалы и методы. В исследование набрали 110 участников: 17 здоровых доноров, 31 больной ХОБЛ и 20 больных ХНБ в состоянии ремиссии, 19 здоровых РПЛР больных ХОБЛ, 23 здоровых родственника первой линии больных ХНБ. У участников исследования определяли в плазме крови содержание мДНК. Нуклеиновые кислоты выделяли путем экстракции фенолом/хлороформом и осаждали этанолом, обрабатывали РНКазой, внмДНК анализировали электрофоретически.

Результаты. У больных ХОБЛ среднее содержание внмДНК составляло $7,8 \pm 2,0$ нг/мл, что статистически значимо в 3,9 и 3,0 раза меньше, чем соответственно у здоровых доноров и больных ХНБ; причем содержание внмДНК у больных ХНБ не отличалось статистически значимо от такового у здоровых доноров. У кровных родственников больных ХОБЛ, как и у РПЛР больных ХНБ, среднее содержание внмДНК статистически значимо не отличалось от такового у здоровых доноров. У больных ХОБЛ 60–80 лет по сравнению с больными ХОБЛ 45–59 лет наблюдалась тенденция к увеличению содержания внмДНК, однако уровень внмДНК в обеих возрастных группах оказался статистически значимо ниже, чем у здоровых доноров того же возраста.

Заключение. У больных ХОБЛ в состоянии ремиссии содержание мДНК в плазме крови и соответственно процессы апоптоза в легких снижены, тогда как у больных ХНБ содержание внмДНК не меняется. Выделение внмДНК в кровь у больных ХОБЛ не связано с наследственностью и мало меняется с возрастом. Определение внмДНК рекомендуется использовать у больных ХОБЛ для оценки апоптоза.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, хронический необструктивный бронхит, внеклеточная низкомолекулярная ДНК, плазма крови, апоптоз, наследственность, возраст.

Plasma low-molecular-weight DNA in patients with chronic obstructive pulmonary disease

I.N. VASILYEVA^{1, 2}, V.G. BESPALOV^{1, 2}

¹N.N. Petrov Research Institute of Oncology, Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg, Russia; ²International Research Center «Biotechnologies of the Third Millennium», University of Information Technologies, Mechanics, and Optics, Saint Petersburg, Russia

Aim. To determine plasma extracellular low-molecular-weight DNA (elmwDNA) as an indicator of apoptosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in remission versus healthy donors, patients with chronic non-obstructive bronchitis (CNOB), and their first-degree relatives (FDRs).

Subjects and methods. The investigation recruited 110 participants, including 17 healthy donors, 31 patients with COPD, and 20 patients with CNOB in remission, 19 healthy FDRs of patients with COPD, and 23 healthy FDRs of those with SNOB. The plasma levels of elmwDNA were determined in the study participants. Nucleic acids were isolated by phenol/chloroform extraction, precipitated with ethanol, and treated with RNase; elmwDNA was analyzed by electrophoresis.

Results. In patients with COPD, the mean level of elmwDNA was 7.8 ± 2.0 ng/ml, which was 3.9 and 3.0 times statistically significantly lower than that in healthy donors and patients with SNOB, respectively; while the level of elmwDNA in the latter did not differ statistically significantly from that in healthy donors. In both the blood relatives of patients with COPD and FDRs of those with SNOB, the mean level of elmwDNA was not significantly different from that in healthy donors. The content of elmwDNA tended to increase in COPD patients aged 60–80 years as compared to those aged 45–59 years; that in both age groups was, however, significantly lower than in healthy donors of the same age.

Conclusion. The level of elmwDNA in plasma and, accordingly, apoptosis in the lung are reduced in patients with COPD in remission, whereas that is unchanged in those with SNOB. In patients with COPD, blood elmwDNA release is unrelated to heredity and varies little with age. The determination of elmwDNA is recommended for use in patients with COPD to assess apoptosis.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, chronic non-obstructive bronchitis, extracellular low-molecular-weight DNA, plasma, apoptosis, heredity, age.

внмДНК — внеклеточная низкомолекулярная ДНК
ОФВ₁ — объем форсированного выдоха за 1-ю секунду
РЛ — рак легкого
РПЛР — родственники первой линии родства

ФР — фактор риска
ХНБ — хронический необструктивный бронхит
ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) — заболевание, характеризующееся нарушением вентиляционной функции легких по обструктивному типу, кото-

рое обычно прогрессирует и связано с хроническим воспалительным ответом легких на действие патогенных факторов. По данным ВОЗ, в мире в настоящее время

около 200 млн людей страдают ХОБЛ, данная патология занимает четвертое место среди причин смерти, заболеваемость ХОБЛ растет глобально и в большинстве стран; прогнозируется, что в 2030 г. ХОБЛ может занять третье место среди причин смерти [1]. В связи с этим разработка новых методов профилактики, диагностики и лечения ХОБЛ является крайне актуальной.

ХОБЛ является фактором риска (ФР) развития рака легкого (РЛ). Преобладание ХОБЛ и РЛ у курильщиков старшего и пожилого возраста с длительным периодом курения свидетельствует о связи между этими заболеваниями. Однако вне связи с курением ХОБЛ считают независимым ФР развития РЛ. В ряде проспективных эпидемиологических исследований доказан высокий риск развития РЛ у больных ХОБЛ: в данных исследованиях в когортах пациентов с ХОБЛ смертность от РЛ составляла от 4 до 33% [2]. Механизмами, повышающими риск развития РЛ, у больных ХОБЛ являются задержка вдыхаемых канцерогенов в легких, стимуляция канцерогенеза в результате хронического воспаления, вовлечение стволовых клеток [2].

ХОБЛ развивается в результате сложного взаимодействия генетических факторов и факторов окружающей среды. В настоящее время доказана роль наследственности в развитии ХОБЛ — вероятно, наследуется предрасположенность к ХОБЛ. Идентифицирован ряд генов, нарушения работы которых ассоциированы с ХОБЛ. Наиболее изучен при ХОБЛ ген *SERPINA 1*, нарушения которого вызывают дефицит α_1 -антитрипсина, влияющего на эластазу легких; идентифицированы локусы генов, имеющих отношение к снижению функции внешнего дыхания при ХОБЛ, такие как *TNSI*, *GSTSD*, *AGEF*, *HTR4*, *TNSD4*; ХОБЛ ассоциирована с нарушениями локуса гена *KANSL1*, вызывающего ацетилирование и связанного с эпигенетической регуляцией генома; выявляются и другие генетические дефекты, повышающие риск развития ХОБЛ [3].

Среди экзогенных причин наиболее важным фактором в развитии и прогрессировании ХОБЛ считается курение. В многочисленных исследованиях удельный вес курения как ФР развития ХОБЛ составлял от 9,7 до 97,9% [4]. Показана прямая зависимость влияния курения на усугубление ХОБЛ: например, в группах пациентов с ХОБЛ у курящих частота обострений составила 71,8%, у некурящих — 32,1% [5]. К важным ФР развития ХОБЛ относят воздействие на легкие воздушных поллютантов на производстве, на улице, в быту, таких как угольная пыль, дым, корма для животных, выбросы автотранспорта и тепловых электростанций, кремний, кадмий, диоксид азота, монооксид углерода, сера, формальдегид, летучие органические соединения, биологические аллергены и др. [4, 6]. Риновирусная инфекция и другие респираторные инфекции, бронхиальная астма, пневмония, особенно в детском возрасте, рассматриваются как ФР и причины обострения ХОБЛ [4, 6, 7]. Возраст также считают важным фактором риска развития ХОБЛ, так как данное заболевание развивается в основном у людей старше 40 лет; по

оценкам возрастного состава пациентов с ХОБЛ примерно 40% приходится на возраст от 40 до 60 лет и 60% — старше 60 лет [6].

Патогенез ХОБЛ — сложный процесс, в основе которого лежат протеазный/антипротеазный дисбаланс, иммунные нарушения, окислительный стресс, хроническое воспаление дыхательных путей, поражение эндотелия сосудов легких, дисрегуляция апоптоза [4]. Апоптоз играет особую роль в патогенезе ХОБЛ, так как именно в результате активации апоптоза происходит гибель эпителиальных и мезенхимальных клеток легких, в итоге приводящее к деструкции легочной ткани и развитию эмфиземы; однако ингибирование апоптоза является защитной реакцией против деструкции легких [8]. Вероятно, поэтому результаты оценки апоптоза у больных ХОБЛ являются противоречивыми; сообщается как об активации, так и об ингибировании апоптоза. Интегральным показателем апоптоза, который применяется для диагностики, оценки прогноза и эффективности лечения больных, служит внеклеточная низкомолекулярная ДНК (внмДНК), которая обычно определяется в виде нуклеосомной фракции ДНК плазмы крови [9]. Содержание нуклеосомной фракции внмДНК в плазме крови увеличивается при усилении процессов апоптоза и уменьшается при их ингибировании [10]. Определение внмДНК является малоинвазивным методом и становится все более применяемым в различных областях медицины. Например, определение внмДНК используется в качестве маркера действия на организм вредных физических факторов, таких как ионизирующее излучение и низкочастотный шум [11]; изучения механизмов действия лекарственных препаратов [12]; дифференциальной диагностики ишемического и геморрагического инсульта [13], диагностики и оценки эффективности лечения злокачественных опухолей [14].

Цель исследования: определение внмДНК в плазме крови как показателя апоптоза у больных ХОБЛ в состоянии ремиссии по сравнению со здоровыми донорами, больными хроническим необструктивным бронхитом (ХНБ) и родственниками первой линии родства (РПР) пациентов ХОБЛ и ХНБ.

Материалы и методы

В исследование набрали 110 участников: 17 здоровых доноров, 31 больной ХОБЛ, 20 больных ХНБ, 19 здоровых родственников первой линии больных ХОБЛ, 23 здоровых РПР больных ХНБ. Характеристика участников исследования представлена в табл. 1. В группах здоровых доноров, больных ХОБЛ и больных ХНБ были только мужчины. В группе родственников больных ХОБЛ было 37% мужчин и 63% женщин, родственников больных ХНБ — 48 и 52% соответственно. Кровные родственники больных обеих групп не имели признаков легочной патологии. Средний возраст здоровых доноров, больных ХНБ, родственников больных ХОБЛ и ХНБ был сопоставим и составлял от 53 до 58 лет, больных ХОБЛ — несколько старше: 64,5 года. Во всех группах было значительное число курильщиков: больше всего в группе больных ХОБЛ — 98%, меньше всего в группе родственников

Сведения об авторах:

Беспалов Владимир Григорьевич — д.м.н., зав. научной лаб. химиопрофилактики рака и онкофармакологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова

Контактная информация:

Васильева Ирина Николаевна — к.б.н., с.н.с. научной лаб. химиопрофилактики рака и онкофармакологии; 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова; тел.: +7(921)903-4415; e-mail: iravasilyeva@hotmail.com

больных ХНБ — 35%. Средняя длительность курения в группах и подгруппах (по полу) участников оказалась примерно одинаковой и составляла от 23,4 до 26,4 пачек/лет (см. табл. 1). Пациенты и здоровые люди во всех сравниваемых группах были сопоставимы по условиям трудовой деятельности и социально-экономическому статусу. Продолжительность заболевания пациентов в группах больных ХОБЛ и ХНБ составляла от 7 до 20 лет. Среди 31 больного ХОБЛ у 22 (71%) имелась III (тяжелая) стадия заболевания с объемом форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁) <49% от должного, у 7 (23%) — II (среднетяжелая) с ОФВ₁ 69—50% от должного, у 2 (6%) — I (легкая) с ОФВ₁ >70% от должного. У всех больных ХНБ ОФВ₁ находился в пределах нормы. У всех больных ХОБЛ и ХНБ во время забора крови для определения внмДНК определялась клиническая ремиссия. До начала исследования от всех больных и здоровых лиц получено информированное согласие на участие в исследовании и заборе крови для анализа внмДНК. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Кровь у участников исследования в количестве 3 мл брали путем венепункции в пробирки, содержащие 0,5 М ЭДТА (динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты). Плазму отделяли центрифугированием в течение 10 мин при 810 g и температуре 4 °C в бакет-ротаторе. Для удаления остатков форменных элементов крови плазму центрифугировали дважды при 2200 g. Выделение и определение содержания внмДНК осуществляли согласно описанной ранее методике [13, 14]. Нуклеиновые кислоты выделяли путем экстракции фенолом/хлороформом и осаждали этанолом. Осадки нуклеиновых кислот растворяли в деионизированной воде из расчета 1 мкл на 1 мл плазмы крови и хранили для дальнейших исследований при температуре -70 °C. После размораживания образцы нуклеиновых кислот обрабатывали РНКазой. ДНК анализировали электрофорезом в 2/16% градиенте полиакриламида. Для идентификации фракций мДНК использовали маркеры — рестрикты PBR322/VspR1 и λ /Alu1. Электрофорезграммы фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете.

Данные клинических исследований подвергали статистической обработке в программе GraphPad Prism 6 с использованием критерия Стьюдента для несвязанных выборок. Определяли среднее арифметическое и стандартную ошибку ($M \pm m$) с расчетом значения p .

Результаты и обсуждение

Среднее содержание внмДНК в плазме крови в группах участников исследования представлено в табл. 2. У больных ХОБЛ содержание внмДНК составляло $7,8 \pm 2,0$ нг/мл, что статистически значимо в 3,9 и 3,0 раза меньше, чем соответственно у здоровых доноров и больных ХНБ; причем содержание внмДНК у больных ХНБ не отличалось статистически значимо от такового у здоровых доноров (см. табл. 2). Низкое содержание внмДНК у больных ХОБЛ свидетельствуют о снижении (ингибировании)

процессов апоптоза, тогда как у больных ХНБ процессы апоптоза протекают с той же интенсивностью, что у здоровых доноров. Статистически значимое отличие содержания внмДНК плазмы крови у пациентов с ХОБЛ и ХНБ в состоянии ремиссии позволяет использовать определение внмДНК плазмы крови в дифференциальной диагностике ХОБЛ и ХНБ.

ВнмДНК поступает в циркуляцию от всех внутренних органов, омываемых кровью, в основном в результате апоптоза; основная роль апоптоза в организме связана с поддержанием нормального гомеостаза клеток, поэтому обычно процесс апоптоза находится в равновесии с процессами деления клеток и их дифференцировки [9]. У больных ХОБЛ как активация, так и ингибирование апоптоза и связанное с этим поступление внмДНК в кровь обусловлено первую очередь процессами гибели и регенерации клеток в легких. В большинстве проведенных исследований у больных ХОБЛ выявлено усиление апоптоза клеток альвеолярного эпителия, эндотелиальных и мезенхимальных клеток легких, сопровождающееся активацией каспазы-3 и экспрессией проапоптотических белков Bax и Bad [15, 16]. В упомянутых исследованиях больные находились в состоянии обострения ХОБЛ, и активация апоптоза свидетельствовала о деструкции легочной ткани и прогрессировании эмфиземы, что не уравновешивалось процессами пролиферации клеток легких. В нашем исследовании больные ХОБЛ находились в состоянии ремиссии, и существенное ингибирование процессов апоптоза у них по сравнению со здоровыми донорами и больными ХНБ в состоянии ремиссии может свидетельствовать о включении защитной реакции против деструкции легких или компенсаторной реакции, направленной на восстановление легочной ткани, у больных ХОБЛ в период ремиссии. Определение внмДНК плазмы крови можно применять для диагностики активности ХОБЛ; в период обострения, как свидетельствуют данные литературы, апоптоз активируется и уровень внмДНК будет повышаться; в период ремиссии, как свидетельствуют наши результаты, уровень внмДНК будет снижаться в результате ингибирования апоптоза. Снижение интенсивности апоптоза у больных ХОБЛ в период ремиссии имеет не только положительное значение в плане восстановления легочной ткани, но может служить одним из объяснений повышения риска развития РЛ у данных пациентов, так как подавление апоптоза приводит к накоплению клонов генетически поврежденных клеток и повышает риск развития злокачественных опухолей [14]. Сообщается, что у

Таблица 1. Характеристика пациентов

Участники исследования	Число	Пол	Средний возраст, годы	Курильщики	Средняя длительность курения, пачек/лет
Здоровые доноры	17	17 М	$53,0 \pm 2,0$	10 (59)	$23,4 \pm 2,6$
Больные ХОБЛ	31	31 М	$64,5 \pm 1,5$	30 (98)	$24,5 \pm 3,5$
Больные ХНБ	20	20 М	$58,0 \pm 1,7$	12 (61)	$26,4 \pm 2,5$
Родственники больных ХОБЛ	19	7 (37) М, 12 (63) Ж	$54,5 \pm 2,5$	9 (47%, из них 4 (53) М, 5 (42) Ж)	$25,6 \pm 3,4$ М, $23,4 \pm 2,5$ Ж
Родственники больных ХНБ	23	11 (48) М, 12 (52) Ж	$54,5 \pm 2,3$	8 (35), из них 5 (42) М, 3 (25) Ж	$23,6 \pm 3,4$ М, $24,5 \pm 2,4$ Ж

Примечание. М — мужчины, Ж — женщины, пачек/лет — число выкуриваемых в день сигарет, деленное на 20 (условная пачка) и умноженное на число лет курения, в скобках процент.

Таблица 2. Содержание низкомолекулярной ДНК в плазме крови пациентов ХОБЛ и ХНБ в состоянии ремиссии и их здоровых родственников по сравнению с таковым у здоровых доноров

Участники исследования	Число	Среднее содержание внмДНК, нг/мл
Здоровые доноры	17	30,2±6,6
Больные ХОБЛ	31	7,8±2,0*
Родственники больных ХОБЛ	19	22,9±6,2*
Больные ХНБ	20	23,5±5,4**
Родственники больных ХНБ	23	28,4±6,8***

Примечание. Различия статистически значимы * — со здоровыми донорами ($p=0,0002$); с больными ХОБЛ (# — $p=0,0081$, ## — $p=0,0028$, ### — $p=0,0019$).

больных ХОБЛ содержание внмДНК в плазме крови значительно ниже, чем у больных РЛ [17]. Это согласуется с общими представлениями о том, что у людей с высоким риском развития злокачественных опухолей процессы апоптоза и соответственно уровень внмДНК снижены, а при развитии злокачественных опухолей процессы апоптоза и уровень внмДНК растут [14], поэтому определение внмДНК можно использовать при наблюдении за больными ХОБЛ с целью ранней диагностики РЛ. В настоящее время для определения апоптоза в легких у больных ХОБЛ используются инвазивные методы: берется гистологический или цитологический материал во время бронхоскопии, торакокопии [15, 16]. Преимущество диагностики выраженности апоптоза с помощью определения внмДНК заключается в минимальной инвазивности данной методики, так как у пациентов забирается только периферическая кровь.

Как сообщалось выше, наследственность [3] является ФР развития ХОБЛ. Мы предполагали, что снижение процессов апоптоза и низкий уровень внмДНК может иметь наследственную природу. Однако у кровных родственников больных ХОБЛ, как и у кровных родственников больных ХНБ, среднее содержание внмДНК не отличалось достоверно от такового у здоровых доноров (см. табл. 2). Вероятно, изменение процессов апоптоза у больных ХОБЛ в сторону ингибирования при ремиссии и активации при обострении не связаны с врожденными генетическими нарушениями, а являются следствием патогенеза ХОБЛ и/или влияния курения, воздушных загрязнителей и других внешних факторов.

Возраст также является ФР развития ХОБЛ [6]. Данные о влиянии возраста на процессы апоптоза противоречивы: в целом с увеличением возраста интенсивность апоптоза в организме человека снижается, стареющие клетки становятся более устойчивыми к запрограммированной гибели, что объясняет повышение онкологического риска у людей старшего и пожилого возраста; однако с возрастом апоптоз может активизироваться как защитная реакция, направленная на сохранение гомеостаза органов и тканей и элиминацию предраковых и раковых клеток [18]. Мы предприняли попытку оценить влияние возраста на уровень внмДНК у больных ХОБЛ по сравнению со здоровыми донорами разного возраста (табл. 3).

Таблица 3. Содержание низкомолекулярной ДНК в плазме крови здоровых доноров и больных ХОБЛ в период ремиссии различных возрастных групп

Участники исследования (возраст, годы)	Число	Средний возраст, годы	Среднее содержание внмДНК, нг/мл
Здоровые доноры (34–59)	9	40,9±2,1	31,5±11,3
Здоровые доноры (60–74)	8	66,7±1,8	30,2±5,8
Больные ХОБЛ (45–59)	8	54,0±1,8	4,4±1,4*
Больные ХОБЛ (60–80)	23	68,2±1,1	10,2±2,6*

Примечание. Различия статистически значимы * — со здоровыми донорами 34–59 лет ($p=0,0407$); # — со здоровыми донорами 60–74 лет ($p=0,0012$).

Выявлено, что среднее содержание внмДНК в плазме крови между группами здоровых доноров 34–59 и 60–74 лет практически не различалось. По сравнению со своими возрастными группами здоровых доноров среднее содержание внмДНК статистически значимо меньше у больных ХОБЛ 45–59 лет в 7,2 раза, а у больных ХОБЛ 60–80 лет — в 3 раза. У больных ХОБЛ 60–80 лет среднее содержание внмДНК в 2,3 раза меньше, чем у больных ХОБЛ 45–59 лет, хотя данные различия проявилась лишь в виде тенденции. Тем не менее можно предположить, что с увеличением возраста у больных ХОБЛ даже в состоянии ремиссии уровень внмДНК и апоптоза растет, что связано с прогрессированием заболевания, а у здоровых людей уровень внмДНК и апоптоза не меняются, и на процессы апоптоза влияют ассоциированные с возрастом заболевания, а не собственно возраст.

Заключение

У больных ХОБЛ в состоянии ремиссии содержание внмДНК в плазме крови и соответственно процессы апоптоза в легких снижены, тогда как у больных ХНБ в состоянии ремиссии содержание внмДНК не отличается от такового у здоровых доноров. Ингибирование процессов апоптоза у больных ХОБЛ в период ремиссии по сравнению со здоровыми донорами и больными ХНБ может свидетельствовать о включении защитной реакции против разрушения легких или компенсаторной реакции, направленной на восстановление легочной ткани. Выделение внмДНК в кровь у больных ХОБЛ не связано с наследственностью и мало меняется с возрастом. Определение внмДНК рекомендуется использовать в качестве минимально инвазивного теста у больных ХОБЛ для оценки апоптоза, диагностики ремиссии и обострения, дифференциальной диагностики с ХНБ.

Благодарности

Часть работы выполнена при государственной финансовой поддержке ведущих университетов Российской Федерации (субсидия 074U01).

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adeloye D, Chua S, Lee C, Basquill C, Papana A, Theodoratou E, Nair H, Gasevic D, Sridhar D, Campbell H, Chan KY, Sheikh A, Rudan I; Global Health Epidemiology Reference Group (GHERG) Global and regional estimates of COPD prevalence: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Health*. 2015;5(2):020415.
doi: 10.7189/jogh.05-020415
2. Takiguchi Y, Sekine I, Iwasawa S, Kurimoto R, Tatsumi K. Chronic obstructive pulmonary disease as a risk factor for lung cancer. *World Journal of Clinical Oncology*. 2014;5(4):660-666.
doi: 10.5306/wjco.v5.i4.660
3. Hobbs BD, Hersh CP. Integrative genomics of chronic obstructive pulmonary disease. *Biochemical Biophysical Research Communications*. 2014;452(2):276-286.
doi: 10.1016/j.bbrc. 2014. 07.086.]
4. Vijayan VK. Chronic obstructive pulmonary disease. *Indian Journal of Medical Research*. 2013;137(2):251-269.
5. Жукова О.В., Конышкина Т.М., Кононова С.В. Концепция факторов риска в оценке влияния курения на обострение хронической обструктивной болезни легких. *Тер. архив*. 2015;3:23-26.
doi:10.17116/terarkh201587323-26
6. Ивчик Т.В., Кокосов А.Н., Янчина Е.Д., Ходжаянц Н.Е., Разоренов Г.И., Киселева Е.А., Карлова Л.Н. Факторы риска хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология*. 2003;3:6-15.
7. Калужин О.В., Челенкова И.Н., Понежева Ж.Б. Влияние респираторных вирусов на течение хронической обструктивной болезни легких: на пути к оптимизации лечения. *Тер. архив*. 2015;3:98-104.
doi:10.1711/terarkh201587398-104
8. Zeng H, Kong X, Peng H, Chen Y, Cai S, Luo H, Chen P. Apoptosis and Bcl-2 family proteins, taken to chronic obstructive pulmonary disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2012;16(6):711-727.
9. Васильева И.Н., Подгорная О.И., Беспалов В.Г. Нуклеосомная фракция внеклеточной ДНК как показатель апоптоза. *Цитология*. 2015;57(2):87-94.
10. Vasilyeva IN, Ivchik TV, Voznyuk IA. Low-molecular-weight DNA of blood plasma as an indicator of pathological process. In: Gahan PB. *Circulating nucleic acids in plasma and serum*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer; 2011:165-170.
doi:10/1007/978-90-481-9382-0_23
11. Зинкин В.Н., Васильева И.Н. Биологический маркер экологической безопасности персонала промышленных производств. *Экология промышленного производства*. 2014;1:15-18.
12. Vasilyeva I, Bepalov V, Baranova A. Radioprotective combination of α -tocopherol and ascorbic acid promotes apoptosis that is evident by release of low-molecular weight DNA fragments into circulation. *International Journal of Radiation Biology*. 2015;91(11):872-877.
doi: 10.3109/09553002.2015.1087066
13. Васильева И.Н., Вознюк И.А., Беспалов В.Г. Содержание низкомолекулярной ДНК в плазме крови и цереброспинальной жидкости больных с острым нарушением мозгового кровообращения. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015;9(2):50-51.
doi:10.17116/jnevro201511592
14. Васильева И.Н., Беспалов В.Г. Роль внеклеточной ДНК в возникновении и развитии злокачественных опухолей и возможности ее использования в диагностике и лечении онкологических заболеваний. *Вопросы онкологии*. 2013;59(6):673-681.
15. Demedts IK, Demoor T, Bracke KR, Joos GF, Brusselle GG. Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema. *Respiratory Research*. 2006;7(1):53-63.
doi:10.1186/1465-9921-7-53
16. Platakis M, Tzortzaki E, Ryttila P, Demosthenes M, Siafakas NM. Apoptotic mechanisms in the pathogenesis of COPD. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. 2006;1(2):161-171.
17. Wielscher M, Vierlinger K, Kegler U, Ziesche R, Gsur A, Weinhausel A. Diagnostic performance of plasma DNA methylation profiles in lung cancer, pulmonary fibrosis and COPD. *EBioMedicine*. 2015;2:929-936.
18. Lu B, Chen H, Hong-Guang H. The relationship between apoptosis and aging. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2012;3:705-711.
doi:10.4236/abb.2012.326091

Поступила 18.02.2016