

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616.155.321:57.053

Бабаева А.Г.<sup>1</sup>, Геворкян Н.М.<sup>2</sup>, Тишевская Н.В.<sup>3</sup>

# Адаптивная изменчивость суммарной РНК лимфоидных клеток как причина невоспроизводимости вызываемых ею эффектов

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека», 117418, г. Москва, Россия, ул. Цюрупы, д. 3;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», 119121, г. Москва, Россия, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», 454090, г. Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 64

В обзоре анализируются причины невоспроизводимости эффектов лимфоцитарной РНК в процессах регенерации и иммуногенеза. Подчеркивается необходимость учета изменчивости свойств РНК при изменении функционального режима лимфоцитов в разных фазах регенерационного процесса и иммунного ответа. Рассмотренные в обзоре вопросы имеют решающее значение для разработки нового фармакотерапевтического направления по созданию оригинальных лечебных препаратов на основе органных РНК, не имеющих аллогенного и ксеногенного ограничений.

**Ключевые слова:** регенерация; иммуногенез; лимфоцитарная РНК; процессы развития.

**Для цитирования:** Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В. Адаптивная изменчивость суммарной РНК лимфоидных клеток как причина невоспроизводимости вызываемых ею эффектов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63(1): 91-98.

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2019.01.91-98

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для корреспонденции:** Геворкян Нина Михайловна, e-mail: gevorkiann@yandex.ru

**Поступила** 27.09.2017

Babaeva A.G.<sup>1</sup>, Gevorkyan N.M.<sup>2</sup>, Tishevskaya N.V.<sup>3</sup>

## ADAPTIVE VARIABILITY OF TOTAL RNA IN LYMPHOID CELLS AS A CAUSE FOR NON-REPRODUCIBILITY OF ITS EFFECTS

<sup>1</sup>Scientific-Research Institute of Human Morphology of the Russian Academy of Medical Sciences,

3 Tsyurupy str., 117418, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Scientific-Research Institute of Biomedical Chemistry V.N. Orekhovicha Russian Academy of Medical Sciences,

10 Pogodinskaya str., 119121, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>South Ural State Medical University,

64 Vorovsky str., 454092, Chelyabinsk, Russia

A review of the analysis of the causes of non-reproducibility of the effects of lymphocyte RNA during regeneration and immunogenesis. The necessity to take into account the variability of RNA properties when the functional regimen of lymphocytes varies in different phases of regenerative process and immune response is emphasized.

**Keywords:** regeneration; immunogenesis; lymphocyte RNA; developmental processes.

**For citation:** Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V. Adaptive variability of total RNA in lymphoid cells as a cause for non-reproducibility of its effects. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(1): 91-98. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2019.01.91-98

**For correspondence:** Gevorkyan N.M., e-mail: gevorkiann@yandex.ru

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 27.09.2017

За последние годы изучение эффектов РНК, которые указывают на возможность их использования в медицинской практике, вызывает особый интерес. Уже создано немало РНК-содержащих препаратов, которые пополнили арсенал лечебных средств. Источником РНК для их изготовления служат в основном либо пекарские дрожжи, либо органы и ткани крупного рогатого скота (КРС). Различают четыре разновидности препаратов РНК: 1) дрожжевые, 2) органнне, 3) лимфоцитарно-макрофагальные, активированные иммунным процессом и 4) лимфоцитарно-макрофагальные, активированные репаративными процессами, (морфогенетически активные. Нами обнаружено, что экзогенная суммарная РНК интактных лимфоидных клеток также обладает высоким морфогенетическим потенциалом [1]. Лечебное действие этих препаратов разное и пока охарактеризовано лишь кратко из-за отсутствия достаточных сведений. Так, препараты РНК из дрожжей (НКАД, нуклеинат натрия, ридостин, полирибонат, виталанг-2) оказывают выраженное неспецифическое стимулирующее действие на иммунную систему. Они усиливают гуморальный иммунный ответ на тимус-зависимый антиген, ускоряют миграцию Т-лимфоцитов и макрофагов, усиливают лейкопоэз.

Особенностью следующей группы препаратов, выделенных из органов и тканей КРС (органнне РНК), является их корригирующее действие на пролиферацию и дифференцировку клеток органа, гомологичного органу-источнику суммарной РНК. Действие этих препаратов строго органоспецифично. Показана стимуляция восстановительных процессов печени, миокарда, кости, легких под влиянием суммарной РНК и рибонуклеопротеинов (РНП) гомологичных органов [2, 3]. Отсутствие аллогенного и ксеногенного ограничений в действии РНК дает возможность использовать эти препараты для органотерапии. Так, немецкой фирмой Dycerhoff Pharma создано 50 органнне препаратов РНК, в том числе и лимфоидных, объединенных общим названием *Regenerezen*.

Наиболее изученными являются эффекты, вызываемые экзогенной иммунной РНК (РНК лимфоидных клеток и макрофагов иммунизированных животных). Это самая многочисленная группа препаратов РНК. Многими исследователями показано [4], что препараты иммунной РНК обладают способностью передавать иммунологическую информацию интактным реципиентам, воспроизводить у них все формы иммунного ответа, обеспечивать иммунологическую память и признаки вторичного иммунного ответа, заменять необходимость повторного введения антигена при изготовлении вакцин.

Несмотря на успехи в этом направлении, есть данные, в которых из-за частой невоспроизводимости ука-

занных эффектов ставится под сомнение тот факт, что их обеспечивает именно РНК.

О нестабильности результатов при РНК-терапии упоминают и другие авторы [2, 5]. Однако какова реальная частота невоспроизводимости эффектов РНК, неизвестно. Обычно в публикациях не отражают степень невоспроизводимости экспериментальных и клинических наблюдений, так как практика публикаций отрицательных результатов ограничена лишь случаями опровержения уже устоявшихся фактов.

Это обстоятельство может вызвать серьезные затруднения как в обеспечении эффективности лечения, так и в создании препаратов РНК со стабильными предсказуемыми свойствами. По-видимому, именно это и является причиной странной ситуации, когда при достаточно большом количестве данных об РНК как субстрате, обеспечивающем перенос иммунологической информации и иммунологическую память, упоминания об этом свойстве РНК в современных учебниках нет. Не исключено, что определенную роль в этом сыграл Ф. Бернет [6], который скептически высказывается в отношении открытия Ф. Адлера и М. Фишмэна [7] о возможности переноса иммунологической информации с помощью иммунной РНК. Автор приводит ряд доводов в пользу того, что это открытие может быть артефактом, и, более того, ссылается на такой авторитет в иммунологии, как Н. Эрне, который в частной беседе говорил, что ему не удалось подтвердить эти данные. Как писал известный натуралист Ж. Бюффон, «ничто так не заразительно, как заблуждение, поддерживаемое громким именем». Безусловно, мнение таких авторитетных ученых могло укрепить неуверенность в том, что функцию переноса осуществляет именно иммунная РНК, но оно не может остановить поиск того субстрата, который его осуществляет, так как факт переноса иммунологической информации иммунными лимфоцитами не подвергается сомнению. Следовательно, либо в иммунных лимфоцитах есть другой субстрат, осуществляющий эту функцию, либо не найдены условия, способствующие осуществлению этой функции РНК.

Согласно концепции Лоуренса о «факторе переноса» [8], в лейкоцитах крови доноров при сенсibilизации образуется некий фактор, точная природа и механизм действия которого остаются невыясненными [9]. В виде предположения было указано [10], что фактором переноса является двуспиральная РНК. Большинство же иммунологов сходится во мнении, что «фактор переноса» не существует, что в лейкоцитах есть компоненты, обладающие адьювантным свойством. В то же время Л. Йегер отмечает, что эффекты, вызываемые этим фактором, часто невоспроизводимы [5].

Тем не менее, поиски «фактора переноса» продолжают и по сей день, в том числе и среди разных биологически активных веществ, и среди микро-РНК. Не прекращались также и поиски причин противоречивости данных о переносной способности лимфоцитарной суммарной РНК, на том основании, что если это свойство когда-то проявилось, значит, оно присуще данному субстрату, а отсутствие его выявления связано с невыясненными условиями его функционирования. -

К решению этой проблемы вернулись в связи с появлением новой экспериментальной модели, касающейся морфогенетической функции лимфоцитов, изучения механизмов ее реализации и создания препаратов 4-й группы: суммарной РНК лимфоидных клеток, активированных восстановительными процессами.

Изучение механизмов реализации морфогенетической функции лимфоцитов дает основание утверждать, что невозпроизводимость эффектов РНК, в том числе и иммунной, имеет много скрытых причин, которые не учитываются при попытке их воспроизведения. Причины эти связаны с особыми свойствами как самой лимфоцитарной РНК, так и процессов, происходящих с ее участием. Сходство принципов функционирования лимфоцитов при реализации иммунологической и морфогенетической активностей [1] дает основание предполагать, что причины, обнаруженные при выявлении морфогенетической функции, окажутся сходными с таковыми и в случае иммунной РНК.

Воспроизводимость результатов является одним из самых главных правил экспериментального анализа, позволяющих перевести наблюдаемые явления из разряда предполагаемых в категорию установленных очевидных фактов. Однако невозможность требует особо скрупулезной корректности оценки наблюдаемых морфофункциональных проявлений. Надежность оценки обеспечена строгими правилами и жесткими требованиями к используемым методам исследований и прежде всего к тест-системам. Они должны быть адекватными и однозначно отражающими анализируемое явление. В ряде случаев для установления значимости факта может потребоваться дополнительный анализ. Самые простые примеры – это такие признаки как увеличение массы органа или определение уровня пролиферативной активности по митотическому индексу. Это может быть, как, проявлением реального увеличения морфогенетической активности клеток, так и результатом патологического изменения органа, или отражением замедления процесса пролиферации за счет изменения скорости деления клеток.

Далее мы остановимся лишь на тех методических деталях экспериментального вмешательства, которые нередко не соблюдаются как малозначимые. На самом

деле эти, кажущиеся «малозначимыми», детали, как показал анализ данных литературы и многолетний личный опыт экспериментальной работы, играют решающую роль для правильной оценки изучаемого явления. Они могут коренным образом изменить конечный результат, вызвать его итоговую нестабильность и неоднозначность. То, каким образом и как этот фактор влияет на межтканевые и межклеточные взаимодействия, на взаимодействия между регуляторной системой и ее мишенью, целесообразно проследить на конкретных примерах. Важно то, что подавляющее большинство противоречивых данных выявляется при изучении процессов развития – как в норме, так и при патологии, – особенно в условиях воздействия на них различных факторов с целью их модуляции.

Частота неоднозначных результатов повышается в тех случаях, когда изучается фазовый характер процесса, особенно когда меняется активность модулятора, реактивность органа-мишени и системы регуляции. Незнание этих особенностей процессов развития или невнимательное к ним отношение как раз и могут быть скрытой причиной получения противоречивых эффектов. В нашу задачу входит анализ подобных ситуаций с целью выявления возможных источников ошибочных выводов на примере изучения морфогенетической и иммунологической активностей лимфоидных клеток и их суммарной РНК, изменчивости проявлений их активности при таких фазовых процессах как регенерация и иммуногенез. Из множества процессов развития выбраны именно эти процессы, а в качестве индуктора выбрана суммарная РНК, во-первых, потому, что регуляторная роль лимфоцитов и их РНК при регенерации и при иммунном ответе исследованы довольно планомерно, и мы располагаем большим личным экспериментальным материалом их изучения; во-вторых, четко показана ключевая роль лимфоцитов в реализации регенерационного и иммунного ответов, переноса регенерационной и иммунологической информации и явления регенерационной и иммунологической памяти; в-третьих, установлено, что эти функции лимфоидных клеток обеспечивает выделенная из них суммарная РНК [1, 3], и при адоптивном переносе она воспроизводит эффекты самих клеток, присущие им в момент выделения из них РНК; в-четвертых, способность РНК воспроизводить указанные эффекты лимфоидных клеток может быть использована для изготовления эффективных лечебных препаратов, не имеющих ни аллогенного, ни ксеногенного ограничений.

Морфогенетическую активность лимфоцитов и их суммарной РНК оценивают по их каталитической и индукционной способности воспроизводить и модулировать у реципиента морфогенетические процессы,

цито- и гистогенез, дифференцировку клеток, а также влиять на скорость этих процессов и в целом — на рост органа, его массы. Иммунологическую активность лимфоцитов и их РНК оценивают по их способности воспроизводить различные признаки иммунного ответа, скорость и степень их выраженности.

В целом использованные методы имеют четкие морфологические или функциональные признаки, которые позволяют судить о морфофункциональном состоянии изучаемого органа и получить его количественную оценку. В частности, если речь идет о таком показателе, как митотический индекс или увеличение массы органа, то увеличение этих показателей без дополнительных анализов не означает прогрессивное развитие процесса. Как уже указывалось, повышение митотического индекса может означать не только рост митотической активности, но также и его торможение: удлинение времени митотического цикла, что приводит к накоплению делящихся клеток в препарате. Такая ситуация, к примеру, возникает в результате снижения процессов метаболизма и скорости деления клеток и наблюдается при гипотермии, при злокачественном росте, а также у животных, впадающих в зимнюю спячку.

Некоторые исследователи увеличение митотического индекса в экспериментальных условиях гипотермии трактуют однозначно, без дополнительных доказательств, как увеличение пролиферативной активности. Однако согласно элементарной логике, снижение метаболизма, отмечаемое всеми авторами, приводит к снижению энергетического потенциала, что не может способствовать осуществлению такого энергозатратного процесса, как митоз, особенно преодолению самой энергетически емкой фазы митоза — разделения на дочерние клетки. Поэтому клетки застревают в последней фазе цикла, что приводит к их накоплению в препарате. Именно по этой причине получены данные, которые расцениваются как противоречивые, в то время как на самом деле эти данные подтверждают друг друга. Мышам с опухолью Герена вводили транспортную или рибосомную РНК, полученную из клеток гомологичной опухоли [11]. Это приводило к резкому снижению (на 40%) в опухолевых клетках уровня синтеза ДНК, на фоне которого наблюдалось небольшое (15%) повышение митотического индекса (разнонаправленности этих показателей не бывает!). Следовательно, высокий митотический уровень в опухолевых клетках, расцениваемый как показатель их пролиферативной активности, в ряде случаев отражает замедление процессов деления. Способом проверки достоверности стимуляции митотической активности является определение соотношения фаз митозов, индекса

меченых ядер и митотического индекса, а также увеличение массы опухоли.

Аналогично этому, увеличение массы органа может быть обусловлено патологическим процессом: отеком, кровенаполнением органа, его жировой или клеточной инфильтрацией, кистозным перерождением, малигнизацией и т.д. Истинная природа этих изменений определяется дополнительным изучением гистоструктуры органа, а также гистологическим изучением соотношения фаз митоза (увеличение количества поздних фаз — анафазы и телофазы — и уменьшение дифференцированных клеток указывает на торможение; например, число ретикулоцитов в периферической крови при регенерации кровяной ткани).

Довольно много ошибочных выводов при оценке результатов, ориентированных на изменение митотического индекса, было сделано до открытия закономерностей митотического цикла, когда не было известно, что от момента стимуляции пролиферации до момента появления митозов — довольно длительный период, и что поиск изменений вскоре после воздействия бессмыслен. Для каждой ткани этот срок индивидуален — к примеру, в случае регенерации печени он составляет примерно одни сутки. По непровержимым данным, направленность изменения численности ДНК меченых ядер и митотического индекса всегда одинакова.

При оценке морфогенетической и иммунологической активности лимфоцитов сроки с момента получения сигнала к активации цитогенеза до момента его реализации в виде митоза могут быть и существенно продолжительнее. Реализация сигнала происходит по строго определенным правилам. Прежде всего, индуктор-лимфоцит и его суммарная РНК на протяжении любого нормального и патологического процесса развития — разные. До синтеза соответствующих РНК клетка морфогенетически ареактивна, и морфогенетическая активность выделенного из нее препарата РНК в этот латентный период отсутствует. Затем, еще до проявления начальных признаков регенерации в оперированном органе, лимфоциты донора и их РНК приобретают индукционную способность и при переносе реципиенту соответствующим образом изменяют морфогенетическую активность его лимфоцитов. На высоте пролиферативной активности в оперированном органе донора и лимфоциты, и выделенная из них РНК утрачивают индукционную способность. В этот и последующий периоды ее сменяет способность ингибировать пролиферацию клеток-мишеней реципиента. Из этих данных следует, что и лимфоциты, и их суммарная РНК, выделенная на разных сроках регенерационного процесса в оперированном органе донора, имеют разную морфо-

генетическую активность — как по степени выраженности, так и по направленности действия. Показано, что эти различия при регенерации обусловлены в лимфоидной регуляторной системе изменением соотношения Т-лимфоцитов, обладающих стимулирующим ( $CD4^+$  Т-лимфоциты) и тормозящим (цитотоксические  $CD8^+$  Т-лимфоциты) пролиферацию свойством. Без определения динамики изменения свойств РНК и учета этой динамики противоречивость результатов очень вероятна. Вероятность эта увеличивается в тех случаях, когда сроки между сменой фаз короткие. В ряде случаев для получения противоречивых данных достаточно несоответствия во времени начала проведения опытов всего в несколько часов. Эта закономерность изменения свойств лимфоцитов подробно изучена при регенерации многих органов (печени, почки, кроветворной ткани, слюнных желез) [12, 13] и подтверждена при изучении динамики изменения свойств суммарной РНК лимфоцитов при постгеморрагической регенерации кроветворной ткани [1].

Аналогичная динамика характерна и для развития иммунного процесса, в частности, при антителогенезе в ответ на введение тимусзависимого антигена (эритроцитов барана, ЭБ). Лимфоциты, выделенные в разные сроки после введения антигена, обладают неодинаковыми индукционными свойствами при их переносе сингенным реципиентам. На кривой, отражающей динамику способности лимфоцитов индуцировать антителогенез у реципиентов, также наблюдается латентный период (ареактивность лимфоцитов), фаза стимуляции и фаза угнетения [1]. Так же, как и при морфогенетической функции, выраженность иммунологической функции — уровень активности первой или второй фазы — определяется количеством и соотношением Т-хелперов и Т-супрессоров/цитотоксических лимфоцитов,  $CD4^+/CD8^+$ . Проверка показала, что направленность действия лимфоцитарной суммарной РНК совпадает с таковой самих лимфоцитов [1]. Изменение морфогенетической активности этих клеток при восстановительных процессах способно изменить динамику их иммунологической реактивности, меняющейся в соответствии с их морфогенетической активностью [12].

Определение антителообразующей способности лимфоцитов оперированных животных с регенерацией внутренних органов и кроветворной ткани в разные сроки после частичной их утраты в результате оперативного вмешательства показало, что в ответ на одинаковую дозу одного и того же антигена в разные сроки после вмешательства уровень антителогенеза разный [6, 12, 14]. Это особенно четко выявляется при изучении антителогенеза методом Макинодана и Олбрайт [15]. Суть метода заключается в том, что встреча лимфоцитов с ан-

тигеном (ЭБ) происходит в организме летально облученных животных, которые являются как бы живой пробиркой. В этих условиях иммунный ответ может осуществляться только за счет пересаженных лимфоцитов, что позволяет оценить потенциальную способность к антителогенезу в ответ на один и тот же антиген в одинаковой дозе на каждом конкретном сроке в течение всего регенерационного процесса. Анализ уровня этой способности свидетельствует о том, что при повышении морфогенетической активности лимфоцитов повышается и их иммунологическая реактивность, и наоборот, при снижении морфогенетической активности снижается и способность лимфоцитов к иммунному ответу. Этот параллелизм закономерен, также как закономерно и изменение направленности регуляторного действия суммарной РНК, соответствующее таковой самих лимфоцитов в момент выделения из них РНК. Усиление эффективности действия суммарной РНК лимфоцитов при сочетании двух однонаправленных динамических процессов, по-видимому, объясняется суммацией их эффектов, обусловленных многими факторами, в том числе и соотношением Т-лимфоцитов  $CD4^+/CD8^+$ , играющим ключевую роль в реализации этого сложного взаимодействия, которое обусловлено суммацией активностей индуктора и мишени. Это позволит понять «непредсказуемые» эффекты экзогенной РНК и целенаправленно изменять их в желаемом направлении.

Таким образом, фазовое изменение свойств РНК является весьма вероятной причиной отличий как на уровне морфогенетических, так и иммунологических эффектов, что создает иллюзию их невоспроизводимости.

Источником ошибочного заключения может быть и изменчивость свойств самой ткани регенерирующего органа-мишени при реализации регуляторной функции лимфоцитов. Это установлено не только в опытах, свидетельствующих о разной реактивности нормальной и регенерирующей ткани-мишени на воздействие суммарной РНК нормальных лимфоцитов, что можно объяснить вмешательством в процесс регуляции эндогенных факторов. Неоспоримым доказательством изменения морфогенетических свойств ткани регенерирующего органа являются факты, указывающие на изменение ее реактивности в ответ на различные воздействия и на приобретение ею ростстимулирующего влияния на гомологичный интактный орган нормальных животных. Так, РНП регенерирующей печени, гипертрофирующегося легкого, РНК регенерирующей кости, особенно выделенной из костной мозоли, стимулируют пролиферацию и ускоренный рост гомологичной ткани у нормальных животных, независимо от их вида. РНП и РНК из нормальных тканей такого

действия на нормальные гомологичные ткани-мишени в те же сроки не оказывают [2]. Какова динамика чувствительности регенерирующего органа к воздействию органной экзогенной суммарной РНК и как меняется способность последней воздействовать на ткани органа-мишени, изучено слабо. Имеются лишь косвенные данные, которые дают основание полагать, что свойства РНК регенерирующей ткани меняются в связи с переходом на модус ускоренной пролиферации.

Самые сложные и на вид необъяснимые эффекты наблюдаются в отношении процессов развития, к примеру, регенерирующего органа, под действием препаратов нормальной и активированной экзогенной суммарной РНК лимфоидных клеток. В этом случае реактивность органа зависит от его собственной чувствительности, так как он подвергается действию не только экзогенной суммарной РНК, наделенной определенной активностью, но и действию эндогенных факторов, меняющихся в зависимости от фазы регенерационного процесса. В результате такого взаимодействия могут проявиться разные эффекты экзогенной РНК. Как на ранних, так и на поздних стадиях регенерационного процесса введение суммарной РНК нормальных лимфоцитов понизит стимулирующий эффект в фазе стимуляции и ингибирующий — в фазе торможения. РНК активированных лимфоцитов со стимулирующими свойствами до определенной степени усилит эффект фазы стимуляции регенерации, после чего, по законам авторегуляции, последует фаза торможения, а РНК лимфоцитов с ингибирующим свойством, введенная на стадии торможения регенерации, усилит ингибирующий эффект. При воздействии лимфоцитарной РНК на поврежденный орган-мишень меняется и его резистентность к этому повреждающему агенту. Суммарная РНК клеток костного мозга интактных животных, введенная реципиентам за 30 мин и за 2 ч до их сублетального  $\gamma$ -облучения, способствует усиленной регенерации крови и предотвращает полномасштабное развитие лучевой болезни и гибель животных. При введении РНК за 6 ч до облучения активация процесса эритропоэза уже не наблюдалась, а радиоустойчивость проявлялась только в том, что предотвращала гибель всех животных в этой группе, в отличие от контрольной [16].

О том, что защитное действие зависит от свойств самих клеток-мишеней, свидетельствуют опыты с культурой эритробластических островков (ЭО) костного мозга (КМ) подопытных животных. ЭО КМ реципиентов, получивших препарат суммарной РНК КМ нормальных животных за 30 мин до облучения, оказались наиболее чувствительными к корригирующему действию препарата и проявляли все признаки стимуляции эритропоэза. ЭО КМ реципиентов этого же препарата, введенного за 2 часа до облучения, проявили признаки стимуляции

эритропоэза, но в менее выраженной степени. Реактивность ЭО КМ реципиентов этого препарата, введенного за 6 часов до облучения, значимо не отличалась от таковой у контрольных животных. Такая динамика протекторных эффектов РНК дает основание предполагать, что отсутствие эффекта защиты обусловлено не отсутствием морфогенетической функции лимфоцитарной РНК, а другими причинами, так как РНК во всех этих случаях одинакова. Возможно, это связано с кинетикой митотического цикла кровяных клеток.

Стимулирующая РНК, введенная на стадии торможения, и ингибирующая РНК, введенная на стадии стимуляции, могут привести к полной нейтрализации действия эндогенных факторов и, соответственно, к отсутствию какого-либо ожидаемого эффекта вводимой РНК, в случае равенства активности этих антагонистических факторов. Возможна также инверсия эффекта эндогенных факторов под действием большей активности введенной экзогенной РНК или уменьшение уровня изначального эффекта эндогенного фактора в случае его превосходства по сравнению с активностью экзогенной РНК.

Играет ли какую-то роль изначальный уровень пролиферативной активности регенерирующего органа и влияет ли он на чувствительность к препаратам экзогенной суммарной РНК, не изучено, но то, что он существенно влияет на результат при определении морфогенетической активности препарата, очевидно. Это определяется тем, что одним из главных показателей действия препарата служит изменение митотической активности клеток органа-мишени. И важно то, что характер этих изменений таит в себе опасность ошибочных выводов. В основе этого лежит неодинаковая реактивность разных тканевых структур к различным воздействиям.

По способности клеток тканей к пролиферации в нормальных условиях (физиологическая регенерация) различают стабильные и лабильные ткани. В норме стабильные ткани имеют очень низкий митотический индекс, что может служить препятствием для правильной оценки изменения уровня пролиферации их клеток, когда они служат тканью-мишенью. Это вызывает одинаковые затруднения при определении эффектов как стимулирующих, так и ингибирующих препаратов экзогенной суммарной РНК. Для устранения этих затруднений в эксперименте предпринимают воздействия, меняющие стартовый уровень пролиферации клеток этих органов в сторону усиления. Такая стимуляция может быть вызвана запуском процесса регенерации в ответ на рентгеновское облучение в малых дозах. Обычно требования к тест-системам следующие. Стимулирующие препараты следует тестировать на тканях с исходно низкой митотической активностью. А тормозящие проли-

ферацию — на тканевых системах со средней пролиферативной активностью: при очень низкой митотической активности трудно зарегистрировать ее уменьшение, а при очень высокой можно пропустить слабое торможение. Поэтому проверку эффективности изучаемых препаратов РНК и их последующее лечебное использование целесообразно проводить с учетом фазы процесса в ткани-мишени. Показано, что такой подход повышает (в разы) эффективность их действия. Надо стремиться, чтобы действие эндогенных регуляторных факторов совпадало с направленностью действия лекарства, что усилит его эффективность.

Вариабельность результатов действия РНК лимфоцитов может стать поводом для сомнений в том, что именно РНК несет ответственность за реализацию действия лимфоидных клеток, и именно она обеспечивает перенос морфогенетической и иммунологической информации. А причиной сомнений может быть невнимательное отношение к срокам изъятия РНК из лимфоцитов после их активации и к срокам ее введения реципиенту после начала процессов развития. Однако такая вариабельность эффектов является лишь свидетельством зависимости их проявления от определенных условий, от изменчивости функций лимфоцитов, обусловленных разными причинами, в том числе условиями внешней и внутренней среды. Поэтому утверждать, что эти эффекты невоспроизводимы, можно лишь при полной идентичности условий постановки опыта. Что же касается изменения чувствительности ткани регенерирующего органа-мишени к воздействию экзогенной РНК на разных сроках его регенерации, то к приведенным данным, в качестве подтверждения этой точки зрения, можно добавить еще некоторые примеры о влиянии лимфоцитов на регенерационный процесс [12] и о попытках РНК-терапии онкологических заболеваний [5].

Эффекты, обнаруженные при использовании индивидуальной иммунной РНК, полученной при иммунизации антигеном из опухоли больного, противоречивы [5]. И это закономерно, так как онкогенез является процессом развития, а, следовательно, и свойства опухоли, и состояние эндогенных средств защиты, и реактивность также меняются в процессе заболевания.

В этом отношении вариабельность результатов увеличивает число примеров невоспроизводимости эффектов РНК. Мы рассмотрели некоторые возможные скрытые причины этого явления. Однако такой анализ будет неполным, если оставить без внимания невоспроизводимость эффектов РНК, обусловленную неадекватностью тест-системы оценки и неправильной трактовкой полученных результатов.

Тест-системы должны полностью соответствовать поставленным задачам, но и не допускать разночтения

и двоякого толкования результатов. Об этом уже упоминалось, это касается не только оценки уровня пролиферации, но и уровня альтераций, в частности, вызываемых воспалительной реакцией. Для оценки последней адекватным методом считают определение степени инфильтрации лимфоцитами органа-мишени. Для констатации самого факта взаимодействия индуктора и органа-мишени этого достаточно, но на самом деле не ясно, на что она направлена — на уничтожение опухоли или на усиление ее роста за счет действия морфогенетически активных лимфоцитов? Решить этот вопрос можно с помощью иммуноферментного окрашивания, позволяющего определить популяционный состав инфильтрата.

Ошибочная трактовка результатов может быть обусловлена нейтрализацией эффектов. В случае, когда эндогенные факторы сильнее активности экзогенной лимфоидной РНК, проявляющийся эффект не соответствует направленности действия препарата, и можно прийти к ошибочному выводу о несоответствии действия препарата вызываемому эффекту.

В целом, подводя итог, можно прийти к следующему заключению. Невоспроизводимость эффектов экзогенной РНК является результатом того, что ее взаимодействие с регуляторными факторами организма реципиента и его органом-мишенью происходит в неодинаковых условиях. Действующий на лимфоцит стимул вызывает изменение уровня, но не направленности, его индукционной способности — как иммунологической, так и морфогенетической. Эта унипотентность четко проявляется в клеточной культуре. Эффект этой же самой РНК *in vivo* может быть иным, даже противоположным, что обусловлено ее совместным действием с другими факторами в организме реципиента. В отличие от действия РНК на культуру клеток, в системе организма вступает в силу явление суммации эффектов. Это порождает вариабельность результатов в ответ на одно и то же воздействие, и можно получить полную палитру вариантов невоспроизводимости РНК-эффектов, вплоть до их отсутствия.

Менее изучена, но четко прослеживается зависимость конечных эффектов, оказываемых препаратами экзогенной РНК, от изменяющейся чувствительности органа-мишени в процессах нормального и патологического развития. Эта зависимость особенно значима для оценки действия иммунной РНК, так как потребность в лечебных средствах именно этой разновидности и в настоящее время, и в перспективе очень велика.

Решение вопроса о способности препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток заменять корректирующее действие самих лимфоцитов [1] приобретает особую актуальность.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы по теме: «Создание клеточных моделей молекулярных процессов в органах и тканях» (НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича) и комплексной темы НИР «Регуляция кроветворной и некроветворной функций клеток костного мозга в эксперименте и клинике» № 01201354257 (Южно-Уральский государственный медицинский университет).

### Литература

1. Бабаева А.Г., Тишевская Н.В., Геворкян Н.М. *О морфогенетических свойствах РНК лимфоидных и стволовых клеток при восстановительных процессах*. М.; 2016.
2. Белоус А.М., Годин В.П., Панков Е.Я. *Экзогенные нуклеиновые кислоты и восстановительные процессы*. М.; Медицина, 1974.
3. Смирнов А.В. Специфические эффекты и возможные механизмы действия экзогенных РНК. *Успехи современной биологии*. 1988; т. 106, вып. 1(4): 20–36.
4. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Роль лимфоцитарных РНК в межклеточном информационном обмене и регуляции регенеративных процессов. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2016; 102(11): 1280–301.
5. Йегер Л. (ред.) *Клиническая иммунология и аллергология*. М.; 1990.
6. Бернет Ф. *Клеточная иммунология*. М.; Мир, 1971.
7. Adler F.L., Fishman M., Dray S. Antibody formation initiated in vitro. III. Antibody formation and allotypic specificity directed by ribonucleic acid from peritoneal exudate cells. *J. Immunol.* 1966; Vol. 97: 554.
8. Lawrence H.S. The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leucocytes. *J. Slin. Invest.* 1955; v. 34, p. 219.
9. Ярилин А.А. *Иммунология*. М.; ГЭОТАР-Медиа, 2010.
10. Петров Р.В. *Иммунология*. М.; Медицина, 1982.
11. Хрипков И.С. Проллиферативная активность клеток опухоли Герена при действии гомологичных опухолевых рибонуклеиновых кислот. *Морфология*. 2008; 11(3): 77–80.
12. Бабаева А.Г. *Регенерация и система иммуногенеза*. М.; Медицина, 1985.
13. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Зотиков Е.А. *Роль лимфоцитов в оперативном изменении программы развития тканей*. М.; Изд-во РАМН. 2009.
14. Козлов В.А., Лозовой В.П., Журавкин И.Н. Антителогенез и миграция В-клеток из костного мозга в селезенку у мышей в условиях стимуляции и подавления эритропоэза. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1977; 3: 303–5.
15. Makinodan T., Albright J.T. Cellular variation the immune response: one possible model of cellular differentiation. *J. Cell. Physiol.* 1962; Vol. 60. Suppl. 1. Pt. 2: 129–44.
16. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Болотов А.А. Влияние предварительного введения суммарной РНК клеток костного мозга на динамику восстановления эритропоэза у крыс после остро-

го гамма-облучения. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016; 161(5): 670–3.

### References

1. Babaeva A.G., Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M. *On morphogenetic properties of lymphoid and stem cell RNA in regenerative processes [O morfogeneticheskikh svoystvakh RNK limfoidnykh i stvolovykh kletok pri vosstanovitel'nykh protsessakh]*. Moscow; 2016. (In Russian)
2. Belous A.M., Godin V.P., Pankov E.Y. *Exogenous nucleic acids and recovery processes [Ekzogennye nukleinovye kisloty i vosstanovitel'nye protsessy]*. Moscow; Meditsina. 1974. (In Russian)
3. Smirnov A.V. Specific effects and possible mechanisms of action of exogenous RNA. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 1988; V. 106, Vyp. 1(4): 20–36. (In Russian)
4. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. Role of lymphocytic RNA in intercellular information exchange and regulation of regenerative processes. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2016; 102(11): 1280–301. (in Russian)
5. Jäger L. (red.) *Klinische Immunologie und Allergologie*. Moscow; 1990. (In Russian)
6. Bernet F. *Cellular Immunology [Kletochnaya immunologiya]*. Moscow; Mir, 1971. (In Russian)
7. Adler F.L., Fishman M., Dray S. Antibody formation initiated in vitro. III. Antibody formation and allotypic specificity directed by ribonucleic acid from peritoneal exudate cells. *J. Immunol.* 1966; Vol. 97: 554.
8. Lawrence H.S. The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leucocytes. *J. Slin. Invest.* 1955; v. 34, p. 219.
9. Yarilin A.A. *Immunology. Textbook. [Immunologiya. Uchebnik]*. Moscow; GEOTAR-Media, 2010. (In Russian)
10. Petrov R.V. *Immunology. [Immunologiya]*. Moscow; Meditsina, 1982. (In Russian)
11. Khripkov I.S. Proliferative activity of Guerin tumor cells under the action of homologous tumor ribonucleic acids. *Morfologiya*. 2008; 11(3): 77–80. (In Russian)
12. Babaeva A.G. *Regeneration and Immunogenesis System [Regeneratsiya i sistema immunogeneza]*. Moscow; Meditsina, 1985. (In Russian)
13. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Zotikov E.A. *The role of lymphocytes in the operative change in the program of tissue development. [Rol' limfotsitov v operativnom izmenenii programy razvitiya tkaney]*. Moscow; RAMS, 2009. (In Russian)
14. Kozlov V.A., Lozovoy V.P., Zhuravkin I.N. Antitelogenesis and migration of B cells from the bone marrow to the spleen in mice under conditions of stimulation and suppression of erythropoiesis. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 1977; 3: 303–5. (In Russian)
15. Makinodan T., Albright J.T. Cellular variation the immune response: one possible model of cellular differentiation. *J. Cell. Physiol.* 1962; Vol. 60. Suppl. 1. Pt. 2: 129–44.
16. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Bolotov A.A. Effect of preliminary introduction of bone marrow cell total RNA on the dynamics of erythropoiesis restoration in rats after acute gamma-irradiation. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2016; 161(5): 670–3. (In Russian)

### Сведения об авторах:

**Бабаева А.Г.**, акад. РАЕН, доктор мед. наук, консультант лаб. роста и развития ФГБНУ «НИИ морфологии человека»;

**Геворкян Нина Михайловна**, науч. сотр. лаб. биосинтеза белков «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича» РАН, e-mail: gevorgiann@yandex.ru;

**Тишевская Наталья Викторовна**, доктор мед. наук, проф. каф. нормальной физиологии Южно-Уральского государственного медицинского университета.