

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616-092

Геворкян Н.М.¹, Тишевская Н.В.², Бабаева А.Г.³

Роль суммарных РНК лимфоидных и стволовых клеток в коррекции уровня глюкозы в крови при экспериментальном сахарном диабете

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», 119121, г. Москва, Россия, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8;

²ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», 454092, г. Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 64;

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», 117418, г. Москва, Россия, ул. Цюрупы, д. 3

Цель – оценка влияния препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток на уровень глюкозы в крови при экспериментальном аллоксановом диабете. **Методика.** Работа выполнена на 68 белых беспородных крысах обоего пола массой 180-220 г. Для моделирования аллоксанового сахарного диабета 1 типа животным однократно подкожно вводили полный адъювант Фрейнда в дозе 0,5 мл/крысу. Через 24 ч (на фоне 24-часового голодания, при свободном доступе к воде) однократно подкожно вводили препарат аллоксан тригидрат («La Chema», Чехия) в дозе 200 мг/кг (4% раствор в 0,9% NaCl). Для предотвращения фатального кетоацидоза, начиная с 3-х сут после введения аллоксана, все крысы получали базисную инсулинотерапию. В экспериментах использовано 8 разновидностей препаратов суммарной РНК: из лимфоидных клеток селезенки, из костного мозга и хвостовой части поджелудочной железы интактных крыс (РНКс-1, РНКкм-1 и РНКп/ж, соответственно); из лимфоидных клеток селезенки крыс, подвергнутых кровопусканию в объеме 2% от массы тела за 17 ч до выделения РНК (РНКс-2 с индуцированной повышенной морфогенетической активностью); из лимфоидных клеток селезенки и тимуса крыс, подвергнутых кровопусканию в объеме 2% от массы тела за 96 ч до выделения РНК (РНКс-3 и РНКт-3, соответственно, с высокой ингибирующей морфогенез активностью); из лимфоцитов периферической крови здорового человека (РНКлпкч), а также из стволовых клеток стромы пупочного канатика человека. **Результаты.** Показана возможность восстановления функции инсулярного аппарата и стойкой нормализации уровня глюкозы в крови крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом 1 типа. Установлено наличие корригирующей способности аллогенных и ксеногенных препаратов суммарной РНК, выделенной из лимфоидных органов крыс и лимфоцитов периферической крови человека, а также из мезенхимных стромальных клеток пуповины человека, в отношении уровня глюкозы крови у крыс. Продемонстрирован различный вклад препаратов суммарной РНК, полученной из разных лимфоидных органов и стволовых клеток, в восстановлении нормального уровня глюкозы в крови животных. Установлено, что указанные препараты действуют на разные ткани-мишени в процессе восстановления функции инсулярного аппарата. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о принципиальной возможности эффективного лечения сахарного диабета 1 и 2 типов. Доказана эффективность неинвазивного интраназального введения аллогенных и ксеногенных препаратов суммарной РНК лимфоидных и стволовых клеток. Полученные результаты ставят вопрос о необходимости разработки более адекватной экспериментальной модели, а также о перспективности поиска подходов к персонализированному индивидуальному лечению этой патологии с учетом особенностей ее развития в каждом конкретном случае.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет, аллоксан, поджелудочная железа, регенерация, лимфоидные клетки, стволовые клетки, суммарная РНК.

Для цитирования: Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Бабаева А.Г. Роль суммарных РНК лимфоидных и стволовых клеток в коррекции уровня глюкозы в крови при экспериментальном сахарном диабете. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(3): 88-95.

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.88-95

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

Финансирование. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 гг. 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).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.08.2018

Gevorkyan N.M.¹, Tishevskaya N.V.², Babaeva A.G.³

The role of lymphoid and stem cell total RNAs in correction of blood glucose level in experimental diabetes mellitus

¹Institute of Biomedical Chemistry, Pogodinskaya Str. 10, Moscow 119121, Russia;

²South Ural State Medical University, Vorovskogo Str. 64, Chelyabinsk, 454092, Russia;

³Research Institute of Human Morphology, Tsuryupy Str. 3, Moscow, 117418, Russia

Aim. To study the effect of total RNA from lymphoid cells on blood glucose in experimental alloxan diabetes mellitus (DM). **Methods.** The study was conducted on 68 white mongrel rats of both sexes weighing 180-220 g. Alloxan DM was modeled with full Freund's adjuvant (0.5 ml/rat). After 24 h of fasting with free access to water, a single dose of alloxan trihydrate (La Chemas, Czech Republic) was injected subcutaneously (200 mg/kg as a 4% solution in saline). All rats received basis insulin therapy starting from day 3 of the alloxan injection to prevent fatal ketoacidosis. Eight types of total RNA were used: from splenic lymphoid cells, bone marrow, and caudal part of the pancreas of intact rats; from splenic lymphoid cells of rats after blood withdrawal (2% of body weight 17 h prior to RNA isolation) (RNA after induction of increased morphogenetic activity); from splenic and thymic lymphoid cells of rats after blood withdrawal (2% of body weight 96 h prior to RNA isolation) (RNAs with high morphogenesis-inhibiting activity); and from peripheral blood lymphocytes and umbilical cord stromal stem cells of a healthy human. **Results.** The study showed a possibility for functional recovery of the insular apparatus and stable normalization of blood glucose level in rats with experimental alloxan DM, a model of clinical type 1 DM. Allogenic and xenogeneic total RNAs isolated from rat lymphoid organs, peripheral blood lymphocytes, and mesenchymal stromal cells of human umbilical cord were able to correct the blood glucose level in rats. Total RNAs isolated from different lymphoid organs and stem cells differently contributed to normalization of blood glucose in rats. These total RNAs were shown to influence different target tissues during restoration of the insular apparatus function. **Conclusion.** The study showed a principle possibility of effective therapy for types 1 and 2 DM and demonstrated the efficacy of non-invasive intranasal administration of allogenic and xenogeneic total RNAs from lymphoid and stem cells. These results indicated a need for developing a more relevant experimental model and offered a promising outlook for individualized treatment of this disease with due account of its peculiar features in each specific case. The study was conducted as a part of the Program for Basic Research of State Academies of Science in 2013-2020 on Development of Cell Models for Molecular Processes in Organs and Tissue (V.N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry) and the complex Research Work #01201354257 on Regulation of Hemopoietic and Nonhemopoietic Functions of Bone Marrow Cells in Experiment and Clinic (South Ural State Medical University).

Keywords: experimental diabetes mellitus, alloxan, pancreas, regeneration, lymphoid cells, stem cells, total RNA.

For citation: Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Babaeva A.G. The role of lymphoid and stem cell total RNAs in correction of blood glucose level in experimental diabetes mellitus. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(3): 88-95. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.88-95

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Received 10.08.2018

В настоящей работе с целью дальнейшего изучения морфогенетических возможностей препаратов суммарных РНК лимфоидных клеток исследовали их способность осуществлять регенерацию поврежденного инсулярного аппарата поджелудочной железы крыс. Как было показано ранее, при оперативном вмешательстве регенерация эндокринной части поджелудочной железы, представленной островками Лангерганса, происходит достаточно интенсивно за счет размножения β -клеток, с некоторой гипертрофией клеток островков, приводя к восстановлению эндокринной функции железы [1, 2]. При функциональной недостаточности островковой ткани при сахарном диабете имеет место сходная компенсаторная реакция, с раз-

множением и слабой гипертрофией клеток, не приводящая, однако, к восстановлению функции β -клеток. То есть при сохраняющейся способности клеток островков к пролиферации утрачивается их способность к полноценной дифференцировке. Цель работы – оценка влияния препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток на уровень глюкозы в крови при экспериментальном аллоксановом диабете.

Аллоксановый диабет считается моделью сахарного диабета (СД) 1 типа. Аллоксан имеет трехкетонную структуру, сходную по своему строению с глюкозой. Он избирательно захватывается переносчиком глюкозы GLUT-2 и переносится в панкреатические β -эндокриноциты. В процессе окисления в цитоплаз-

ме этих клеток аллоксан продуцирует цитотоксичные свободнорадикальные метаболиты, которые вызывают массивный некроз β -клеток островков Лангерганса с последующим развитием абсолютной недостаточности инсулина и выраженной, стойкой гипергликемии.

Методика

Эксперименты были проведены в соответствии с Национальным стандартом РФ «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденным и введенным в действие Приказом Ростехрегулирования от 02.12.2009 (№544-ст, ГОСТ Р 53434-2009). Работа одобрена этическим комитетом ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии». Работа выполнена на 68 белых беспородных крысах обоего пола массой 180-220 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария, на стандартном рационе и при свободном доступе к воде.

Для воспроизведения стойкой аллоксановой модели СД 1 типа животным однократно подкожно вводили полный адьювант Фрейнда в дозе 0,5 мл/крысу. Через 24 ч (на фоне 24-часового голодания, но при свободном доступе к воде) однократно п/к вводили препарат аллоксана тригидрат («La Chema», Чехия) из расчета 200 мг/кг (4% раствор в 0,9% NaCl) [3, 4]. Для предотвращения фатального кетоацидоза, начиная с 3-х сут после введения аллоксана, все крысы получали базисную инсулинотерапию [5]. Для этого животным 1 раз в сут п/к вводили раствор инсулина аспарата двухфазного (НовоМикс 30 Пенфилл, «Novo nordisk», Дания) в дозе 3 МЕД/кг. При снижении уровня глюкозы в крови ниже 10 ммоль/л введение инсулина прекращали. Через 14 сут после введения аллоксана, перед введением препаратов РНК, уровень глюкозы в крови крыс составлял от 19 до 24 ммоль/л.

В экспериментах было использовано 8 разновидностей препаратов суммарной РНК: из лимфоидных клеток селезенки, из костного мозга и хвостовой части поджелудочной железы интактных крыс (РНКс-1, РНКкм-1 и РНКп/ж, соответственно); из лимфоидных клеток селезенки крыс, подвергнутых кровопусканию в объеме 2% от массы тела за 17 ч до выделения РНК (РНКс-2 с индуцированной повышенной морфогенетической активностью); из лимфоидных клеток селезенки и тимуса крыс, подвергнутых кровопусканию в объеме 2% от массы тела за 96 ч до выделения РНК (РНКс-3 и РНКт-3, соответственно, с высокой ингибирующей морфогенез активностью); из лимфоцитов периферической крови здорового человека (РНКлпкч), а также из стволовых клеток стро-мы пупочного канатика человека, любезно предо-

ставленных сотрудниками лаборатории роста и развития Института морфологии человека (РНКмск). Суммарную РНК во всех случаях выделяли методом гуанидин тиоцианат–фенол–хлороформной экстракции [6].

Статистическую значимость различий оценивали с помощью критерия Манна-Уитни и Уилкоксона (различия считались статистически значимыми при вероятности ошибки 1 рода $< 0,05$).

Результаты и обсуждение

В настоящем исследовании, помимо основной задачи по восстановлению уровня глюкозы в крови экспериментальных животных, была предпринята попытка оценить вклад суммарной РНК гомологичного органа и регуляторных РНК лимфоидных органов в восстановление функции продуцирующих инсулин β -клеток поджелудочной железы. Считается, что добавление в эту схему органной РНК, гомологичной больному органу, повышает компенсаторные возможности пораженной ткани.

С этой целью в предварительном эксперименте было предпринято сначала двукратное (в 1 и 7 сут) внутривентриальное (в/в) введение трем подопытным крысам только препарата суммарной РНК органа, гомологичного больному органу, в данном случае РНК поджелудочной железы, что к исходу 14-х сут способствовало снижению уровня глюкозы в крови животных примерно на 12%, 18% и 22% (табл. 1). Как видно из этой таблицы, второе введение РНК п/ж практически не вызывало дальнейшего снижения уровня глюкозы крови, что свидетельствует о достаточно ограниченной корригирующей активности РНК п/ж здоровых животных.

При выборе препаратов для коррекции диабета на аллоксановой модели СД 1 типа, были учтены данные о наличии микроангиопатий в костном мозге у больных СД (<http://www.medkurs.ru/news/39325.html>). Это обстоятельство, наряду с описанными нами ранее результатами, свидетельствующими о высокой морфогенетической активности регуляторных препаратов суммарной РНК из костного мозга [7,8], послужило дополнительным аргументом в пользу применения препаратов РНКкм в комплексном лечении аллоксанового диабета. Кроме того, считая препараты регуляторных РНК лимфоидных клеток селезенки и тимуса также очень важными компонентами в лечении патологических состояний, мы и на данной модели проверили их действие.

Из **таблицы 1** видно, что только после введения препаратов РНКкм и РНКс-1 животным 2 и 3 началось существенное снижение уровня глюкозы крови. Это до-

казывает, что система лимфоидной регуляции эффективнее органной РНКп/ж здоровых животных в отношении коррекции уровня глюкозы крови. Тем не менее, в конечном итоге, под действием указанных препаратов РНК у обоих животных была достигнута полная нормализация гликемического статуса.

В двух последующих сериях опытов в общей сложности на 65 животных, по 5 крыс в экспериментальных и контрольных группах, изучали корригирующий эффект аллогенных суммарных РНКкм-1, РНКс-1, РНКс-2, РНКт-3, РНКп/ж, а также ксеногенных РНКлпкч и РНКмск, вводимых в разных сочетаниях, в разной последовательности и разными путями, при этом в каждом случае препараты РНК вводили один раз в 7 сут в дозе 15 мкг/100 г массы тела.

В 1-й серии эксперимента уже были выявлены некоторые особенности механизмов действия суммарных РНК, о которых стоит упомянуть.

Так, корригирующее действие препарата РНКс-2 оказалось менее эффективным, чем РНКс-1. Препарат РНКт-3, который был опробован на предмет торможения возможных аутоиммунных реакций, не только не снижал уровень глюкозы крови, но, напротив, повышал его. Следует отметить, что корригирующее действие препаратов было нами проверено ранее на мутантных мышцах линии C57BL/KsJYLepr^{db}/+, считающейся адекватной моделью человеческого СД 2 типа. На этой модели нами также были выявлены определенные различия эффектов, вызываемых препаратами РНКс-1 и РНКс-2, но при этом оба они всего лишь при однократном внутривнутрибрюшинном введении способствовали быстрому и полному заживлению всех участков мацерации кожи (которые образуются, согласно данным О.И. Степановой [9], на холке у 25% этих животных и не восстанавливаются до самой их гибели). Весьма примечательным оказался и тот факт, что процесс активации регенерации кожи не зависел от того, снижался уровень глюкозы в крови мышей или нет. Что касается ингибирующего морфогенез препарата РНКс-3, то его действие на мышей в модели СД 2 типа было прямо противоположным тому, что наблюдалось у крыс с аллоксановым диабетом под действием аналогичного супрессорного препарата РНКт-3: у всех мышей после однократного в/б введения РНКс-3 существенно (причем почти одинаково, ≈ на 34%, у каждого из 9 подопытных животных) снижался уровень глюкозы в крови, что может указывать на наличие аутоиммунного компонента в патогенезе СД 2 типа. Следует отметить, что у некоторых мышей, несмотря на снижение уровня глюкозы под действием этого препарата, на холке появились участки мацерации кожи, состояние которых заметно ухудшалось к концу

трехнедельного срока после введения РНКс-3 – по видимому, в результате одновременного ингибирования процессов регенерации и в других органах (в частности, в коже) [7, 10].

Во 2-й серии опытов на крысах с аллоксановым диабетом изучили эффективность отдельного или сочетанного введения тех препаратов РНК, которые оказались, по результатам 1-й серии экспериментов, оптимальными для нормализации уровня глюкозы, а также возможность использования интраназального пути введения РНК. Протокол эксперимента представлен в табл. 2.

В табл. 3 представлены результаты данной серии эксперимента.

Следующей группе крыс с аллоксановым диабетом однократно в/б вводили одновременно по 15 мкг/100 г всех тестируемых препаратов: РНКкм-1, РНКс-1 и РНКп/ж, чтобы проверить, имеет ли принципиальное значение поэтапное введение РНК. Результаты данного опыта, представленные в табл. 4, свидетельствуют о том, что однократное сочетанное введение всех 3 ком-

Таблица 1

Влияние препаратов РНКкм-1 и РНКс-1, вводимых на фоне предварительного введения РНКп/ж, на динамику уровня глюкозы в крови крыс с аллоксановым диабетом

Сроки наблюдения	1	2	3
	Фон	21,8	20,9
Введение препарата	РНКп/ж	РНКп/ж	РНКп/ж
3 сут	20,5	18,3	19,3
7 сут	18,6	18,1	20,2
Введение препарата	РНКп/ж	РНКп/ж	РНКп/ж
10 сут	20,8	18,5	18,3
14 сут	17,0	18,4	18,2
Введение препарата	-	РНКкм-1	РНКс-1
17 сут	16,7	11,9	16,9
21 сут	17,1	8,2	14,7
24 сут	15,5	7,0	12,0
28 сут	15,6	5,9	9,6
Введение препарата	-	-	РНКс-1
35 сут	16,6	5,3	6,8
42 сут	15,8	5,3	6,7
56 сут	11,5	5,1	4,9

Примечание. 1) эксперимент начат через 60 сут после введения аллоксана интактным крысам; 2) препараты РНК вводили внутривнутрибрюшинно в дозе 15 мкг/100 г массы тела.

понентов (каждого по 15 мкг/100 г массы) приводит к такому же быстрому темпу нормализации уровня глюкозы, как и в случае их последовательного введения (группа 2 в табл. 3).

На основании полученных результатов можно считать установленным, что полного восстановления нормальных гликемических показателей, а следовательно, и функции островкового аппарата поджелудочной железы у крыс с аллоксановым диабетом можно добиться уже за 3 нед (21 сут) в результате еженедельного последовательного в/б введения препаратов суммарных РНКкм-1, РНКс-1 и РНКп/ж, в дозах 15 мкг/100 г (группы 3 и 4 в табл. 2 и 3). При трехкратном сочетанном еженедельном введении равных количеств всех 3 указанных препаратов РНК, в суммарной дозе на одно введение 15 мкг/100 г, восстановление нормального уровня глюкозы крови, а значит, и функции β-клеток поджелудочной железы, наблюдалось на 42-е сут. Важно подчеркнуть, что при та-

кой схеме лечения аллогенными препаратами суммарной РНК внутрибрюшинный и интраназальный пути введения оказались практически одинаковыми по эффективности. Это открывает широкие возможности для неинвазивного лечения сахарного диабета на основе природных и неиммуногенных компонентов клеток здорового организма.

Важно отметить, что каждый из использованных нами препаратов (РНКкм-1, РНКс-1 или РНКп/ж) требовал вполне определенного времени для реализации восстановительных процессов, происходящих с его участием. По прошествии необходимого периода, падение уровня глюкозы в крови под действием каждого из препаратов прекращалось, после чего дальнейшего падения не происходило, хотя достигнутый уровень удерживался системой организма достаточно стабильно. Дальнейшее восстановление функции островкового аппарата поджелудочной железы при

Таблица 2

Схемы введения суммарных РНК животным с аллоксановым СД

Группы	Начало лечения	7 сут	14 сут
1	0,9% NaCl	0,9% NaCl	0,9% NaCl
2	РНКкм-1 (15 мкг/100 г) в/б	РНКс-1 (15 мкг/100 г) в/б	РНКпж (15 мкг/100 г) в/б
3	РНКкм-1+РНКс-1+ РНКп/ж (5+5+5)мкг/100 г в/б	РНКкм-1+ РНКс-1+РНКп/ж (5+5+5)мкг/100 г в/б	РНКкм-1+РНКс-1+РНКп/ж (5+5+5)мкг/100 г в/б
4	РНКкм-1+РНКс-1+РНКп/ж (5+5+5)мкг/100 г интраназально	РНКкм-1+РНКс-1+РНКп/ж (5+5+5)мкг/100 г интраназально	РНКкм-1+РНКс-1+РНКп/ж (5+5+5)мкг/100 г интраназально

Таблица 3

Динамика уровня глюкозы (ммоль/л) в крови крыс с аллоксановым диабетом под влиянием суммарных РНК

Срок наблюдения	Группа 1 (контроль)	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Фон	21,73±0,46	21,76±0,86	22,04±0,44	21,64±0,43
3 сут	21,58±0,64	11,98±0,41*	12,48±0,52*	13,46±0,71*
7 сут	21,09±0,31	11,40±0,49*	11,32±0,65*	11,34±0,41*
10 сут	20,42±0,41	8,90±0,41*	11,94±0,57*■	11,76±0,69*
14 сут	18,87±0,53	8,26±0,24*	9,28±0,61*	9,72±0,47*
17 сут	18,72±0,36	6,72±0,21*	9,46±0,27*■	9,71±0,35*
21 сут	19,12±0,41	5,86±0,21*	8,04±0,40*■	8,30±0,36*
24 сут	18,53±0,36	5,52±0,18*	6,78±0,20*■	7,18±0,32*
28 сут	18,19±0,46	5,56±0,18*	6,34±0,22*■	6,56±0,19*
42 сут	18,68±1,02	5,54±0,15*	5,16±0,14*	5,62±0,12*

Примечание. * – статистически значимые различия между показателями контрольных животных и животных опытных групп; ■ – достоверные различия между показателями групп 2 и 3; □ – статистически значимые различия между показателями групп 3 и 4.

воздействию следующим препаратом из указанной триады тоже требовало определенного времени для реализации его регенераторной функции и приводило к дальнейшему снижению уровня глюкозы в крови, но тоже до определенных значений, ниже которых этот показатель не опускался даже при длительном интервале между введениями (14 и более сут). И только под действием всех трех указанных препаратов, вводимых в количестве 15 мкг/100 г и в любой последовательности, обеспечивалась полная нормализация уровня глюкозы в крови и восстановление функции инсулярного аппарата.

Из этого следует, что изученные в данной работе препараты суммарных РНК качественно различны, и они не являются взаимозаменяемыми, а это определенно означает, что каждый из них имеет свою мишень.

Опыт, результаты которого приведены в табл. 5, был поставлен на последних двух контрольных животных с аллоксановым диабетом (оставленных для оценки стойкости примененной модели сахарного диабета). Даже спустя 70 сут после введения аллоксана уровень глюкозы в их крови снизился незначительно и составлял в среднем 18 ммоль/л. С целью проверки возможного гипогликемического эффекта ксеногенных препаратов этим крысам были введены суммарные РНК стволовых клеток стромы пупочного канатика человека (РНКмск) и лимфоцитов периферической крови человека (РНКлпкч). Несмотря на длительность заболевания, результат оказался быстрым и стойким даже после однократного введения указанных суммарных РНК, особенно при сочетании РНКмск и РНКлпкч, когда уровень глюкозы достиг нормальных значений уже на 14–17-е сут после их введения. Таким образом, эффективными оказались оба

варианта лечения, в одном из которых была использована только суммарная РНК стволовых клеток пуповины человека, а в другом — она же в сочетании с регуляторной суммарной РНК лимфоцитов периферической крови здоровых доноров.

Таким образом, был решен поставленный в самом начале вопрос о способности препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток оказывать регуляторное воздействие на негомологичную ткань. По-видимому, лимфоцитарная РНК способна вызывать не только увеличение численности [7, 11–15], но и дифференцировку инсулярных клеток, приводящую к нормализации их функции.

Результаты исследования свидетельствуют об активном участии лимфоидной системы в развитии СД у экспериментальных животных, поскольку введение им суммарных РНК, выделенных из нормальных регуляторных или стволовых клеток, полностью нормализовало уровень глюкозы у всех без исключения заболевших животных. И, напротив, в других наших экспериментах при введении суммарной РНК лимфоцитов селезенки крыс с аллоксановым диабетом здоровым животным мы наблюдали у последних временное (3–4 недельное) повышение уровня глюкозы в крови. В свете этих результатов и данных других исследователей [16–18], распространенное мнение, что только СД 1 типа сопровождается развитием аутоиммунного процесса, не подтверждается.

Таблица 5

Динамика уровня глюкозы в крови крыс с аллоксановым диабетом при введении суммарных РНК из клеток стромы пупочного канатика человека (РНКмск) и лимфоцитов периферической крови человека (РНКлпкч)

	1	2
Исходный фон (70 сут после индукции СД аллоксаном)	17,9 ммоль/л	18,3 ммоль/л
Введение препаратов	РНКмск (10,7 мкг/100 г)	РНКмск (10,0 мкг/100 г) + РНКлпкч-1 (23,4 мкг/100 г)
3 сут	16,1 ммоль/л	15,5 ммоль/л
7 сут	13,3 ммоль/л	11,0 ммоль/л
10 сут	9,3 ммоль/л	7,8 ммоль/л
14 сут	7,7 ммоль/л	6,1 ммоль/л
17 сут	6,9 ммоль/л	5,8 ммоль/л
21 сут	5,5 ммоль/л	5,6 ммоль/л
27 сут	5,7 ммоль/л	5,6 ммоль/л
35 сут	5,1 ммоль/л	5,3 ммоль/л

Таблица 4

Динамика уровня глюкозы в крови крыс с аллоксановым диабетом при сочетанном внутрибрюшинном введении суммарных РНК (РНКм-1 + РНКс-1 + РНКп/ж) в дозах 15 мкг/100 г

Сроки наблюдения	Содержание глюкозы в крови (ммоль/л)
Фон	18,63±0,18
3 сут	10,53±0,28
7 сут	9,47±0,32
10 сут	7,63±0,26
14 сут	6,73±0,18
21 сут	5,40±0,15
28 сут	5,10±0,17
42 сут	5,23±0,15

В таком случае, поскольку у человека аутоиммунный компонент присутствует в патогенезе СД обоих типов, встает вопрос об адекватности общепринятых моделей этой патологии. По мнению ряда исследователей, именно супрессорные Т-лимфоциты ответственны за иммунорегуляцию при СД 1 типа [19-21], кроме того, обнаружено наличие наследственных дефектов в регуляторной Т-клеточной популяции у пациентов с СД 1 типа [18]. Однако в наших опытах введение супрессорного препарата РНКт-3 крысам с аллоксановым СД, считающимся моделью СД 1 типа у человека, привело к ухудшению гликемического статуса этих животных, а введение аналогичного препарата РНКс-3 мышам линии C57BL/KsJYLepr^{db}/+, которые считаются моделью СД 2 типа у человека, способствовало значительному улучшению их гликемического статуса.

Таким образом, полученные результаты прежде всего свидетельствуют о принципиальной возможности эффективного лечения СД обоих типов. Доказана эффективность неинвазивного интраназального введения аллогенных и ксеногенных препаратов суммарной РНК лимфоидных и стволовых клеток. Полученные результаты ставят вопрос о необходимости разработки более адекватной экспериментальной модели, а также о перспективности поиска подходов к персонализированному лечению этой патологии с учетом особенностей ее развития в каждом конкретном случае.

Литература

1. Саркисов Д.С. Очерки истории общей патологии. М.; Медицина. 1993.
2. Лиознер Л.Д. Новое в учении о регенерации. М.; Медицина. 1977.
3. Волчегорский И.А., Долгушин О.Л., Колесников В.Е., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск; Челябинский гос. педагогический университет. 2000.
4. Волчегорский И.А., Тишевская Н.В., Дементьева Е.В. Антианемическое действие реамберина при остром аллоксановом диабете у крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология, 2008; 71(6): 23-7.
5. Federiuk, I.F., Casey H.M., Quinn M.J., Wood M.D., Ward W.K. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: Route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comp. Med.* 2004; 54(3): 252-7.
6. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 1987; 162(1): 156-9.
7. Бабаева А.Г., Тишевская Н.В., Геворкян Н.М. О морфогенетических свойствах РНК лимфоидных и стволовых клеток при восстановительных процессах. М.; «Группа МДВ»; 2016.
8. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Болотов А.А. Влияние предварительного введения суммарной РНК клеток костного мозга на динамику восстановления эритропоэза у крыс после

- острого гамма-облучения. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016; 161(5): 670-3.
9. Степанова О.И. Трансплантация клеток костного мозга для коррекции патогенетических нарушений при сахарном диабете 2 типа (экспериментальное исследование): Дис. ...канд. биол. наук. Москва. 2009.
10. Бабаева А.Г., Арсентьева В.В. Подавление пролиферации эпителиальных клеток у мышей спленоцитами односторонне сиалденэктомированных сингенных доноров. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1991; 112(9): 217-9.
11. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Комарова И.А. Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на эритропоэз в культуре эритробластических островков полицитемичных животных. Клиническая и экспериментальная морфология. 2014; 4(12): 40-3.
12. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Комарова И.А. Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на эритропоэз in vitro. Клиническая и экспериментальная морфология. 2014; 4(12): 35-9.
13. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Бабаева А.Г., Захаров Ю.М., Козлова Н.И., Болотов А.А. Влияние суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на эритропоэз при экспериментальной полицитемии. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2015; 101(4): 451-61.
14. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Захаров Ю.М. Коррекция постлучевых нарушений эритропоэза суммарной РНК клеток костного мозга и тимуса. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017; 57(4): 1-7.
15. Бабаева А.Г., Тишевская Н.В., Геворкян Н.М. Морфофункциональные особенности эритропоэза, наблюдаемые при воздействии суммарной РНК мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга. Клиническая и экспериментальная морфология. 2018; 2(25): 31-5.
16. Полетаев А.Б. Иммунофизиология и иммунопатология (избранные главы). М.; «МИА»; 2008.
17. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Патологическая физиология. Том 2. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения). СПб; «ЭЛБИ-СПб», 2007.
18. Саприна Т.В., Лазаренко Ф.Э., Прохоренко Т.С., Рязанцева Н.В., Ворожцова И.Н. Ролт Th1/Th2 дисбаланс иммунного ответа в детерминации клинических особенностей аутоиммунного сахарного диабета взрослых. *Sakharnyyu diabet.* 2011; 14(2): 12-7.
19. Саприна Т.В., Прохоренко Т.С., Новицкий В.В., Ворожцова И.Н., Рязанцева Н.В. Механизмы формирования аутоиммунных заболеваний поджелудочной и щитовидной желез. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016. 60(2): 101-6.
20. Atkinson M.A. Thirty years of investigating the autoimmune basis for the type 1 diabetes. *Diabetes.* 2005. 54: 1253-63.
21. Саприна Т.В., Прохоренко Т.С., Мартинова С.Ю., Дзюман А.Н., Зима А.П., Попов О.С. и др. Дисбаланс системы «лиганд-рецептор» фактора некроза опухолей а и экспрессия TNF-RI в ткани щитовидной железы у пациентов с болезнью Грейвса. Клиническая и экспериментальная тиреоидология. 2013; 3: 56-65.

References

1. Sarkisov D.S. *Essays on the history of general pathology [Ocherki istorii obshchey patologii]*. Moscow; Meditsina. 1993.

2. Liozner L.D. *New in the doctrine of regeneration [Novoe v uchenii o regeneratsii]*. Moscow; Meditsina. 1977.
3. Volchegorskiy I.A., Dolgushin O.L., Kolesnikov V.E., Ceylikman V.E. *Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions of the organism [Eksperimental'noe modelirovanie i laboratornaya otsenka adaptivnykh reaktsiy organizma]*. Chelyabinsk; Chelyabinskii gos. pedagogicheskii universitet, 2000.
4. Volchegorskiy I.A., Tishevskaya N.V., Dementeva E.V. Anti-anemic action of reamberin in acute alloxan diabetes in rats. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2008, 71(6): 23-7.
5. Federiuk, I.F., Casey H.M., Quinn M.J., Wood M.D., Ward W.K. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: Route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comp. Med.* 2004, 54(3): 252-7.
6. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 1987; 162(1): 156-9.
7. Babaeva A.G., Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M. *About the morphogenetic properties of RNA of lymphoid and stem cells during regenerative processes*. Moscow; «Gruppa MDV». 2016. (In Russian)
8. 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. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2016; 161(5): 670-3. (In Russian)
9. Stepanova O.I. *Transplantation of bone marrow cells for correction of pathogenetic disorders in type 2 diabetes mellitus (experimental study): [Transplantatsiya kletok kostnogo mozga dlya korrektsii patogeneticheskikh narusheniy pri saharom diabete 2 tipa (eksperimental'noe issledovanie)]*: Dis. ... cand. Biol. sciences. Moscow. 2009.
10. Babaeva A.G., Arsenteva V.V. Suppression of proliferation of epithelial cells in mice with splenocytes of unilateral sialadenectomized syngeneic donors. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 1991; 112(9): 217-9.
11. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Komarova I.A. Influence of preparations of spleen lymphoid cell total RNA on erythropoiesis in culture of erythroblast islets of polycythemic animals. *Klinicheskaya i eksperimental'naya Morfologiya*. 2014; 4(12): 40-3. (In Russian)
12. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Komarova I.A. Effect of preparations of spleen lymphoid cell total RNA on erythropoiesis in vitro. *Klinicheskaya i eksperimental'naya Morfologiya*. 2014; 4(12): 35-9. (In Russian)
13. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Babaeva A.G., Zakharov Y.M., Kozlova N.I., Bolotov A.A. Influence of the spleen lymphoid cell total RNA on erythropoiesis in experimental polycythemia. *Rossiyskiy fiziologicheskii Zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2015; 101(4): 451-61. (In Russian)
14. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Zakharov Y.M. Correction of post-radiation disorders of erythropoiesis with the total RNA of bone marrow and thymus cells. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*. 2017; 57(4): 1-7. (In Russian)
15. Babaeva A.G., Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M. Morphofunctional features of *in vitro* erythropoiesis observed under the influence of bone marrow multipotent mesenchymal stromal cell total RNA. *Klinicheskaya i eksperimental'naya Morfologiya*. 2018; 2(26): 31-5. (In Russian)
16. Poletaev A.B. *Immunophysiology and immunopathology (selected chapters)*. Moscow; "MIA", 2008.
17. Zaychik A.S., Churilov L.P. *Pathological physiology. Vol. 2. Pathochemistry (endocrine-metabolic disorders) [Patologicheskaya fiziologiya. Tom 2. Patohimiya (endokrino-metabolicheskie narusheniya)]*. St. Petersburg; "ELBI-SPb", 2007.
18. Saprina T.V., Lazarenko F.Je., Prokhorenko T.S., Ryazanceva N.V., Vorozhova I.N. The role of Th1/Th2 immune response imbalance determination in clinical features of autoimmune diabetes. *Saharnyy diabet*. 2011; 14(2): 12-7. (in Russian)
19. Saprina T.V., Prokhorenko T.S., Noviczkiy V.V., Vorozhova I.N., Ryazanceva N.V. Mechanisms for the formation of autoimmune diseases of the pancreas and thyroid glands. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2016; 60(2): 101-6.
20. Atkinson M.A. Thirty years of investigating the autoimmune basis for the type 1 diabetes. *Diabetes*. 2005. 54: 1253-63.
21. Saprina T.V., Prokhorenko T.S., Martynova S.Yu., Dzjuman A.N., Zima A.P., Popov O.S. et al. System imbalance "ligand-receptor" tumor necrosis factor a and TNF-RI expression in the thyroid gland in patients with Graves' disease tissue. *Klinicheskaya i eksperimental'naya tireoidologiya*. 2013; 3: 56-65. (in Russian)

Сведения об авторах:

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;

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