

Обзоры

© Геворкян Н.М., 2024

УДК 616-092

Геворкян Н.М.

Альтернативные возможности коррекции и профилактики наследственных и врожденных патологий путем перепрограммирования клеток *in vivo* с помощью суммарных РНК лимфоцитов здоровых особей

ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»,
Россия, 119121, Москва, Россия, ул. Погодинская, д. 10

Ранее нами был представлен анализ взаимосвязи патогенеза самых разных заболеваний с нарушениями регуляторной морфогенетической функции Т-лимфоцитов. На разных экспериментальных моделях было доказано, что регенераторные эффекты, вызываемые адоптивным переносом лимфоидных клеток здоровых особей, в превосходной степени воспроизводятся выделенной из них фракцией суммарной РНК, не имеющей ни аллогенного, ни ксеногенного ограничений. Таким образом была решена проблема гистосовместимости, обеспечивающая обширные возможности использования регенераторной функции лимфоцитов в медицине. Показано, что препараты суммарной РНК лимфоцитов здоровых особей способствуют «перепрограммированию» лимфоцитов реципиента, их нормализации и, соответственно, восстановлению функций, нарушенных у подопытных животных. Наряду с этим данные более чем полувековой давности свидетельствуют о возможности полной коррекции наследственных патологий (таких как остеопетроз, или «мраморная болезнь», макроцитарная анемия, гемофилия А, сахарный диабет, общая задержка роста при карликовости) путем пересадки селезенки или адоптивного переноса лимфоцитов от здоровых сибсов предварительно сублетально облученным модельным животным-реципиентам. В клинике попытки трансплантации аллогенной селезенки с целью лечения гемофилии А и болезни Гоше привели к тяжелому осложнению в виде реакции трансплантат-против-хозяина, опосредованной Т-лимфоцитами донорской селезенки. В этой связи, в целях лечения и профилактики, в случаях повышенного риска развития наследственных патологий у новорожденных, можно рекомендовать для клинических испытаний применение препаратов суммарных РНК костного мозга, селезенки, тимуса молодого здорового млекопитающего или лимфоцитов периферической крови молодого здорового донора, РНК плаценты или пуповинной крови, содержащих оптимальное соотношение нормально функционирующих субпопуляций лимфоцитов, обеспечивающих комплексное терапевтическое действие.

Ключевые слова: наследственные и врожденные патологии; регенерация; репаративные Т-лимфоциты; суммарная РНК лимфоидных клеток; экзогенная РНК; перепрограммирование *in vivo*

Для цитирования: Геворкян Н.М. Альтернативные возможности коррекции и профилактики наследственных и врожденных патологий путем перепрограммирования клеток *in vivo* с помощью суммарных РНК лимфоцитов здоровых особей. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2024; 68(3): 85-94.

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.03.85-94

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

Финансирование. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021-2030 годы) (№ 122022800499-5). (ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»).

Поступила 01.05.2024

Принята к печати 29.08.2024

Опубликована 27.09.2024

Gevorkyan N.M.

Alternative possibilities for correction and prevention of hereditary and congenital pathologies by reprogramming cells *in vivo* using total RNA of lymphocytes from healthy individuals

Orehovich Research Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya St., Moscow, 119121, Russian Federation

Previously we have presented an analysis of the relationship between the pathogenesis of various diseases and disorders of the regulatory morphogenetic function of T-lymphocytes. In various experimental models, it was proven that the regenerative effects caused by the adoptive transfer of lymphoid cells from healthy individuals were reproduced to an excellent degree by a total RNA fraction isolated from these cells, that has neither allogeneic nor xenogeneic restrictions. Thus, the problem of histocompatibility was solved to provide extensive opportunities for using the regenerative function of lymphocytes in medicine. It was shown that preparations of total RNA from lymphocytes of healthy individuals contribute to the "reprogramming" of recipient's lymphocytes, their normalization and, accordingly, the restoration of functions impaired in experimental animals. Along with this, data from more than half a century ago indicated a possibility of complete correction of hereditary pathologies (such as osteopetrosis or marble bone disease, macrocytic anemia, hemophilia A, diabetes mellitus, and general growth retardation in dwarfism) by spleen transplantation or adoptive transfer of lymphocytes from healthy siblings to sub-lethally irradiated model animal recipients. In the clinic, attempts of allogeneic spleen transplantation for the treatment of hemophilia A and Gaucher disease led to a severe complication in the form of graft-versus-host disease mediated by T lymphocytes of the donor spleen. Therefore, for the purposes of treatment and prevention in cases of increased risk for developing hereditary pathologies in newborns, it can be recommended for clinical trials to use preparations of total RNA from the bone marrow, spleen, thymus from a young healthy mammal or peripheral blood lymphocytes from a young healthy donor, placental or umbilical RNA that contain an optimal ratio of normally functioning subpopulations of lymphocytes to provide a comprehensive therapeutic effect.

Keywords: hereditary and congenital pathologies; regeneration; reparative T lymphocytes; lymphoid cell total RNA; exogenous RNA; *in vivo* reprogramming

For citation: Gevorkyan N.M. Alternative possibilities for correction and prevention of hereditary and congenital pathologies by reprogramming cells *in vivo* using total RNA of lymphocytes of healthy individuals. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2024; 68(3): 85-94. (in Russian)
DOI: 10.25557/0031-2991.2024.03.85-94

For correspondence: *Nina M. Gevorkyan*, researcher, laboratory for protein biosynthesis of V.N. Orehovich Research Institute of Biomedical Chemistry, 10 Pogodinskaya Str., Moscow, 119121, Russian Federation, e-mail: gevorkiann@yandex.ru

Financing. This work was done in the framework of the Russian Federation fundamental research Program for the long-term period for 2021-2030 (№ 122022800499-5).

Information about the author:

Gevorkyan N.M., <https://orcid.org/0000-0002-0386-4010>

Received 01.05.2024

Accepted 29.08.2024

Published 27.09.2024

Введение

В справочнике «Наследственные болезни» представительного авторского коллектива из 29 известных специалистов, с участием и под редакцией член-корр. АМН СССР Л.О. Бадаляна описано более 1000 наследственных синдромов и болезней, иммунная составляющая патогенеза которых большей частью неизвестна, и в целом нарушениям в ряду иммуноцитов в патогенезе наследственных болезней уделено довольно скромное место. В Справочнике в группу собственно иммунодефицитов включены заболевания, признанные к тому времени аутоиммунными, наследственные

формы дефицита компонентов системы комплемента и несколько отдельных форм нарушений гуморального и клеточного иммунитета. В качестве иммунотерапии предусмотрены трансплантация костного мозга (КМ) и/или тимуса, введение гамма-глобулина или специфических антител [1].

К настоящему времени, согласно каталогу наследственных признаков человека, OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), количество нозологических форм наследственной патологии составляет уже около 16 000 синдромов (и соответствующих им

генов) [2]. В последние десятилетия, по мере интенсивного роста знаний и возможностей молекулярной биологии, генетики и биотехнологии, появились новые методы диагностики молекулярных механизмов патофизиологии моногенных болезней и, как следствие, принципиально новые варианты лечения ряда наследственных заболеваний, основанные на понимании этих механизмов и связанные с эффективным, но весьма трудоемким созданием систем геномного редактирования клеток пациента *ex vivo*, с последующей их трансплантацией обратно в его организм [3]. К группам иммунологических синдромов, встречающихся при наследственных патологиях, относят инфекционный, аллергический и аутоиммунный синдромы, первичный и вторичный иммунодефициты и иммунопролиферативный синдром [4]. В современных публикациях, наряду с указанными технологиями и помимо заместительной терапии гормонами, ферментами, назначения специальной диеты и вспомогательного медикаментозного лечения, также предусмотрено применение трансплантации КМ, тимуса, других органов и тканей, гемопоэтических и прочих стволовых клеток. При этом неизменно отмечаются проблемы, связанные с высоким риском трансплантационных процедур, с трудностями в подборе донора и посттрансплантационными осложнениями.

Универсальный способ коррекции наследственных патологий у модельных животных

Пионерские исследования уже полувековой давности свидетельствуют о принципиальной возможности коррекции разных наследственных патологий фактически одним и тем же способом (что, помимо прочего, указывает и на общность их патогенеза). Такая перспектива была продемонстрирована несколькими исследователями на разных моделях наследственных заболеваний у крыс и мышей путем переноса лимфоцитов от здоровых сибсов предварительно сублетально облученным модельным реципиентам – способ, не столь искусный и изощренный, как генная терапия, но более естественный, к тому же универсальный. Указанным способом была осуществлена коррекция остеопетроза (врожденный семейный остеосклероз, болезнь Альберс-Шенберга, или «мраморная болезнь»), редкой наследственной аномалии развития костной ткани, связанной с функциональной недостаточностью остеокластов. В результате усиленной оссификации, приводящей к уплотнению компактного слоя кости и закрытию костномозгового канала, у грызунов останавливается процесс прорезывания резцов (*incisor absent*).

У мутантных *ia*-крыс заболевание проявляется на 11-е сут после рождения. Однако если за сутки до этого срока животных облучить и перенести им лимфоциты селезенки здоровых сибсов, патология не развивается [5, 6]. Нормализацию развития кости вызывали также парабионтным соединением больных животных со здоровыми или введением фракции Т-лимфоцитов здоровых особей. Причем было показано, что после общего облучения тела и введения больным крысам лимфоцитов селезенки здоровых сибсов запускался процесс быстрого ремоделирования плотного склеротического скелета, который, согласно данным рентгенологических и гистологических анализов, в течение трех недель становился нормальным [6]. Трансплантация клеточных суспензий, полученных из тимуса, КМ или печени здоровых сибсов 10-дневного возраста, *ia*-крысам с наследственным остеопетрозом оказалась столь же эффективной, как и введение лимфоцитов селезенки. В отличие от этого, клетки, полученные из ткани головного мозга, мышц или подчелюстной слюнной железы, заметного влияния на развитие остеопетроза не оказывали. Причем отсутствие лечебного эффекта наблюдалось даже в том случае, когда количество введенных клеток суспензии головного мозга в 28 раз превышало количество тимоцитов, в то время как лишь одного миллиона последних было достаточно для ликвидации наследственной аномалии [6]. Этот результат представляет особый интерес, поскольку доказывает, что даже клетки центральной нервной системы, являющейся неотъемлемой частью интегральной гомеостатической нейро-иммуно-эндокринной системы организма, не способны, в отличие от лимфоцитов, индуцировать в другом организме оперативное изменение программы развития тканей [7].

Т-лимфоциты как основа регенераторных и патологических процессов

То, что лечебный эффект обеспечивается именно Т-лимфоцитами, наглядно показали опыты с мутантными мышами W/W_v с наследственной макроцитарной анемией [8, 9]. Трансплантация КМ от здоровых доноров восстанавливает у анемичных мышей нормальный эритропоэз, тогда как обработка донорского КМ анти-тета-сывороткой лишает его лечебного эффекта. Причем терапевтическое действие инактивированного таким образом КМ восстанавливается при добавлении к нему всего от одной до десяти тысяч нормальных тимоцитов. Следовательно, и стволовые клетки КМ, при их адоптивном переносе, как и ткань головного мозга, не способны индуцировать изменения программы регуляции развития тканей.

Успешный опыт по нормализации общей задержки роста при карликовости мышей путем переноса лимфоцитов от здоровых животных [10] объясняется наличием на мембране Т-лимфоцитов рецепторов к соматотропному гормону, число которых в период активного роста организма возрастает [10, 11].

На причастность Т-лимфоцитов к развитию наследственного инсулинозависимого диабета у крыс указывает факт предотвращения болезни при неонатальной тимэктомии или при введении животным моноклональных антител против Т-лимфоцитов [11-13]. Исследования роли Т-лимфоцитов в реализации генетически обусловленного диабетогенеза у крыс с наследственной предрасположенностью к этому заболеванию, проявляющемуся в возрасте от 56 до 130 дней после рождения, выявили у всех животных лимфоцитопению со сниженным уровнем Т-хелперов и очень низким уровнем или полным отсутствием цитотоксических Т-лимфоцитов [14-16]. Адоптивный перенос лимфоцитов здоровых животных таким крысам до срока постнатальной экспрессии у них дефектного гена полностью избавлял от развития заболевания [5, 9, 15, 16]. И наоборот, перенос лимфоцитов заболевших животных здоровым крысам воспроизводил у них инсулинозависимый диабет, и тоже на всю последующую жизнь [16, 17]. Этот аспект представляет еще и отдельный интерес в плане возможностей выяснения патогенеза и подходов к лечению, поскольку может быть связан с альтернативным способом создания животных моделей заболеваний, значительно более простым, нежели те, которые создаются с использованием генетических технологий, и значительно более ускоренным, нежели получение линейных животных с тем или иным генетическим дефектом в результате близкородственных скрещиваний в 20 поколениях сибсов. Однако подтверждение такой возможности потребует дальнейших экспериментов для каждой категории наследственных заболеваний. Так, известно, что лимфоциты осуществляют перенос инсулинозависимого диабета от человека мышам [18], перенос индуцированного стрептозотоцином диабета у мышей [19], вызванного аллоксаном диабета у крыс [20], экспериментального аллергического орхита [21], аллергического артрита [22], контактной экземы [23], экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита [24], аутоиммунного адреналита [25], миастении [26], амилоидоза [27], анемии, вызванной хроническим отравлением мышьяксодержащим соединением [28]. Все эти факты, свидетельствующие о непосредственном участии лимфоидных клеток в механизмах патогенеза и восстановительных процессов при самых разных,

в том числе и наследственных, заболеваниях и нарушениях, отражены в наших монографиях [7, 45].

Поиски возможностей клинического применения саногенетических свойств Т-лимфоцитов

В клинике, попытки трансплантации аллогенной селезенки с целью лечения моногенных наследственных заболеваний, таких как гемофилия А и болезнь Гоше, приводили к тяжелому осложнению в виде реакции трансплантат-против-хозяина (РТПХ), опосредованной Т-лимфоцитами донорской селезенки [29]. В более поздних публикациях, в поисках реальных возможностей клинического применения, была предпринята попытка лечения моногенных наследственных заболеваний путем подбора оптимального срока эмбрионального развития для успешной трансплантации менее иммуногенной ткани эмбриональной селезенки с целью эффективной заместительной терапии. В результате удалось выяснить [30], что оптимальной для коррекции гемофилии А у иммунодефицитных мышей SCID (Sever Combined Immunodeficient mice) является ткань селезенки 42-дневного плода свиньи (E42) (полный срок беременности — 118 дней), когда селезенка уже вырабатывает антигемофильный фактор VIII, способный адекватно функционировать в организме реципиента, но еще не столь иммуногенна, поскольку не содержит к этому сроку Т-лимфоцитов, вызывающих реакцию РТПХ. Показано также, что в условиях иммуносупрессии удается добиться успешной трансплантации 42-дневной эмбриональной ткани селезенки свиньи даже иммунокомпетентным мышам C57BL/6. Предварительные результаты этой группы исследователей свидетельствуют о том, что в 42-дневной селезенке эмбриона свиньи экспрессируется не только фактор VIII, но и другие важные продукты генов, с дефектами которых связаны проявления болезни Гоше и многих других моногенных наследственных заболеваний.

К настоящему времени получено достаточное количество неопровержимых доказательств участия системы Т-лимфоцитов в развитии практически любой патологии [31]. При этом лимфоциты, с присущей любой истинно регуляторной системе особенностью, способны осуществлять оба регулирующих эффекта: стимулирующий (CD4⁺ Т-хелперы) и тормозящий (CD8⁺ Т-супрессоры-киллеры) [7, 31]. Так, в норме Т-лимфоциты участвуют в процессах физиологической и репаративной регенерации органов и тканей; при их адоптивном переносе эти клетки осуществляют саногенетические эффекты в организме реципиента [5-13, 29-34]; тогда как при патологии Т-лимфоциты выполняют патогенетическую роль как у самого больного, так и спо-

собны индуцировать ее в организме реципиента [7, 14-19, 21-23].

Совокупность перечисленных фактов вызывает вопрос: чем объяснить столь универсальную способность именно Т-лимфоцитов или богатых Т-лимфоцитами тканей здоровых особей устранять дефицит функций разных органных систем?

Например, успешной была и ксеногенная трансплантация ткани поджелудочной железы (п/ж) 42-дневного эмбриона свиньи под капсулу почки иммунодефицитным мышам NOD-SCID и иммунокомпетентным мышам C57BL/6 с диабетом, вызванным у тех и других аллоксаном или стрептозотоцином [35]. В этих случаях тоже удавалось, под защитой иммуносупрессии, нормализовать уровень глюкозы крови. Однако дальнейшее удаление трансплантата вызвало необратимую гипергликемию. В этом также проявляется одно из существенных отличий лимфоцитов, действие которых «прививается» организму реципиента, «обучая» клетки его иммунной системы выполнять ту или иную функцию. Интересно, что у иммунокомпетентных мышей, в отсутствие иммуносупрессии, между 8 и 10 днями после трансплантации наблюдали полное отторжение эмбриональной ткани п/ж всех сроков беременности свиньи, от E28 до E100, с инфльтрацией и фиброзом в области трансплантата. При этом у безтимусных мышей наблюдался активный рост и развитие трансплантата ткани п/ж оптимального срока E42, в доказательство того, что отторжение опосредовано именно Т-лимфоцитами. Сходные результаты были описаны также и в отношении почечной ткани эмбрионов человека и свиньи [36].

В справочнике по наследственным болезням 2017 года (под редакцией Е.К. Гинтера и В.П. Пузырева) указано, что сотни наследственных заболеваний печени, ключевого метаболического органа, биосинтетическая активность которого обеспечивает большинство важнейших биохимических функций, являются моногенными заболеваниями. Очевидно, что во всех этих случаях трансплантация нормальной печеночной ткани была бы уместной и эффективной [37]. Однако, к сожалению, не только ксеногенная, но и аллогенная трансплантация тканей требует соблюдения условий гистосовместимости (что связано с длительным подбором подходящего донора) и иммуносупрессии (весьма серьезно отражающейся на качестве жизни). Что же касается трансплантации селезенки или лимфоидных клеток, их особо выраженная иммуногенность и связанный с этим высокий риск развития угрожающей жизни РТПХ при их адоптивном переносе препятствует возможности устранения врожден-

ных патологий в клинике указанным выше способом. Видимо, поэтому, а также с учетом того, что печень, обладая тропизмом к генотерапевтическим векторам, является идеальной мишенью для современных биотехнологий [38], перспективными считаются значительно более сложные и дорогостоящие методы генной терапии.

Эффект клональной организации циркулирующих лимфоцитов

В отличие от тканей соolidных органов, трансплантация каждой из которых может вызвать соответствующий тканеспецифический эффект, совокупность Т-лимфоцитов тимуса, селезенки или периферической крови в норме способна обеспечить не только заместительные эффекты при функциональной несостоятельности самых разных соматических клеток в организме реципиента, но и нормальную регуляцию их активности [7, 11, 29-34, 39-41]. Такое многообразие регуляторных тканеспецифических эффектов обеспечивается клональной организацией клеток иммунной системы и связано с наличием в ней особых субпопуляций морфогенетических (репаративных) тканеспецифических $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, *не участвующих в иммунных реакциях на чужеродные антигены* [31, 44].

Согласно предлагаемой концепции, в многоклеточном организме совокупность клонов морфогенетически компетентных Т-лимфоцитов представляет собой специализированную адаптивную гомеостатическую систему клональной регуляции пролиферации соматических клеток каждого гистотипа в отдельности, где представители каждого клона являются прообразом соматических клеток своей ткани-мишени, ее подвижным прототипом [31, 44]. Именно этим обусловлено то, что при наследственных болезнях обмена веществ трансплантация не только здоровой печени, но и селезенки может обеспечить нормализацию сотен энзимопатий. На мембранах по-разному функционирующих тканеспецифических клонов Т-лимфоцитов в совокупности обнаружены рецепторы ко всевозможным продуцируемым в организме биологически активным веществам. В пользу указанной концепции, помимо наличия на регуляторных тканеспецифических клонах Т-лимфоцитов всевозможных рецепторов, свидетельствует также и способность Т-клеток, подобно клеткам их тканей-мишеней, синтезировать и секретировать самые разные биологически активные вещества, включая гормоны и факторы роста [11, 31-34, 39-42].

Перечисленные свойства всей совокупности клонов регуляторных морфогенетических репаративных Т-лимфоцитов здоровых молодых индивидов объяс-

няют их уникальные восстановительные способности: при трансплантации происходит тканеспецифическое перепрограммирование и – в результате – нормализация тех популяций клеток реципиента, функционирование которых нарушено. Это тот редкий случай, когда *универсальное воздействие может обеспечить нормализацию разных нарушений*. К тому же процесс получения циркулирующих лимфоцитов здорового донора и перенос их реципиенту не представляет особых трудностей. Тогда как трансплантация печени, почек, п/ж, легких и прочих солидных органов и тканей технически значительно более проблематична, поскольку связана с серьезным хирургическим вмешательством и с острой проблемой наличия донорских органов вообще и подходящих органов гистосовместимых доноров, в частности. Однако, несмотря на явные преимущества использования экзогенных лимфоцитов в восстановительных процессах у млекопитающих, серьезным препятствием является особо выраженная иммуногенность самих этих клеток.

Суммарная РНК лимфоидных клеток как средство реализации регенераторной функции Т-лимфоцитов в медицине.

В поисках альтернативы лимфоидным клеткам как таковым – например, субклеточной фракции, которая лишена была бы иммуногенных свойств самих лимфоцитов и при этом полностью воспроизводила бы их регенераторные свойства, мы обнаружили, что сочетание обоих этих признаков в полной мере присуще фракции суммарной РНК, выделенной из лимфоцитов селезенки, тимуса или периферической крови здорового млекопитающего. Не вызывающий иммунного отторжения ни при аллогенном, ни при ксеногенном переносе, такой препарат лимфоцитарной РНК сохраняет функциональные свойства самих лимфоцитов, присущие им в момент их изъятия из организма, и, следовательно, может считаться *молекулярной основой, обеспечивающей процессы регенерации нарушенных функций*. Это в полной мере подтверждают результаты наших модельных экспериментов, проводимых на белых беспородных крысах. Суммарную РНК выделяли из разных органов (включая тимус, селезенку и КМ) крыс и поросенка, из бычьей селезенки, из плаценты и лимфоцитов периферической и пуповинной крови человека. Высокая эффективность профилактического и лечебного восстановительного действия указанных препаратов суммарных РНК в отношении гемопоэза была доказана при остром сублетальном гамма-облучении крыс, при вызванной бензолом токсической гипопластической анемии, продемонстрирована возможность полной и необратимой нормализации уровня глюко-

зы крови у всех 65 крыс со стойким аллоксановым диабетом, возможность устранения вызванной сульпиридом у взрослых крыс экспериментальной гиперплазии предстательной железы и многое другое [31, 43-45].

Особо выраженная чувствительность к всевозможным изменениям внутренней среды и внешних воздействий, в сочетании с их обоюдной реактивностью с тканью-мишенью, объясняет и патогенетическую роль Т-лимфоцитов больных, и терапевтическое действие Т-лимфоцитов здоровых особей в коррекции нарушенных функций организма [29-34, 39-41, 43-46].

Обладая особой чувствительностью к воздействиям, которые могут отрицательно сказаться на их ткани-мишени, лимфоциты совместно с другими гомеостатическими системами организма вырабатывают наиболее оптимальную жизнеспасающую схему адаптивных изменений, реализуемых ими в процессе их регуляторного влияния на ткани-мишени. Особенно важно то, что при введении препаратов суммарной РНК лимфоцитов селезенки, тимуса или периферической крови (как и при адоптивном переносе самих лимфоцитов) весь этот комплекс адаптивных изменений в точности воспроизводится в организме реципиента [20, 31, 43-45, 47]. Более того, сравнительный анализ активности клеток КМ и выделенного из КМ препарата суммарной РНК в отношении регенерации печени после частичной гепатэктомии показал, что препарат РНК в 2,3 раза более эффективен в процессах восстановления, чем сами клетки этого центрального лимфоидного органа, и на сутки опережает их в индукции максимальной митотической активности клеток печени [48].

Кроме того, результаты наших исследований свидетельствуют о том, что для изменения программы работы генов с помощью препаратов суммарных РНК лимфоидных клеток вовсе не обязательно предварительно облучать животных: во-первых, РНК, в отличие от самих лимфоцитов, не вызывает иммунного отторжения, а во-вторых, лимфоциты реципиента, в силу поликлональной организации системы иммунных клеток, не мешают нормализации нарушенных функций, которая независимо происходит на уровне отдельных клонов лимфоцитов и их тканей-мишеней. А наш единичный опыт нормализации функциональной реактивности иммунной системы при наследственном atopическом дерматите у собаки подсказывает, что восстановительный эффект можно индуцировать вовсе не только в раннем постнатальном периоде. Помимо этого, в наших опытах продемонстрирована высокая эффективность не только аллогенных, но и ксеногенных, и смешанных препаратов РНК. Относитель-

но возможности использования ксеногенных РНК в медицине отметим, что препараты суммарных РНК из 50 разновидностей органов и тканей крупного рогатого скота под общим названием *Regeneresen* в течение ряда лет в условиях ветеринарного контроля успешно производила для медицинского применения немецкая компания *Dycckerhoff Pharma*. Однако отсутствие, как мы полагаем, у производителей концептуального понимания *особой роли* лимфоидных клеток в процессах регенерации приравнивало в их представлении действие суммарных РНК лимфоидных органов эффектам РНК прочих органов и тканей, что и отражалось в рекомендациях по применению, приводя к недостаточно стойким эффектам.

Адресная доставка экзогенных РНК и перепрограммирование клеток *in vivo*

Возвращаясь к признанным в настоящее время перспективными методам генной терапии путем геномного редактирования клеток пациента *ex vivo* [3, 38, 49] или с использованием вирусных векторов [4, 50], стоит отметить следующее. Способы и средства доставки генов или генно-инженерных конструкций в разные типы клеток и участки генома человека сопряжены с немалыми трудностями, такими как создание биотехнологическим путем специальных структур, имитирующих в организме поведение вирусной частицы, но не вызывающих инфекционный процесс. Тогда как без каких-либо специальных приспособлений уже через 45 с в лимфоидные клетки селезенки проникает экзогенная гомологичная суммарная РНК, а через 3 мин экзогенная суммарная РНК лимфоцитов периферической крови человека обнаруживается внутри аллогенных лимфоцитов и ксеногенных лимфоидных клеток селезенки мышей, с сохранением ее функциональных свойств [7, 44, 45]. Гетерологичная суммарная РНК лимфоидных клеток, также не вызывающая иммунной реакции в чужеродном организме, обеспечивает в нем соответствующие адаптивные изменения в клетках их тканей-мишеней, осуществляя тем самым перепрограммирование последних *in vivo*. Об этом свидетельствуют наши опыты, в которых введение всего 15 мкг/100 г массы тела суммарной РНК селезенки крыс с аллоксановым диабетом вызывало у интактных животных выраженную гипергликемию, а в результате введения суммарных РНК лимфоидных клеток здоровых особей крысам со стойким аллоксановым диабетом у последних устанавливалась стойкая нормогликемия (*тоже через три недели! — см. выше о сроках нормализации костной ткани при остеопетрозе в результате введения нормальных лимфоцитов!*),

после чего суммарная РНК лимфоцитов селезенки вылеченных таким образом животных, вводимая интактным крысам, не вызывала ни у одной из них повышения уровня глюкозы крови [20, 43, 44].

Заключение

Описанные здесь факты и достижения открывают реальные перспективы в содействии профилактики и лечению моногенных и многофакторных наследственных болезней и врожденных патологий, включая такие как детский церебральный паралич, диабет 1 типа, врожденная глухота (в случаях нарушенной нервной проводимости) и многие другие.

Подтвердившие высокую эффективность в нормализации различных функций организма препараты экзогенных суммарных РНК соматических клеток, включая органные и стволовые, а также суммарные РНК плаценты, пуповинной крови и пупочного канатика, вводимые совместно с суммарной РНК лимфоидных клеток, можно рекомендовать для клинических испытаний в качестве альтернативного способа лечения и профилактики (в случаях повышенного риска развития) наследственных патологий у новорожденных; препараты эти не имеют ни аллогенного, ни ксеногенного ограничений, они стабильны, особенно в лиофилизированной форме, и эффективны при внутривенном, внутрибрюшинном и интраназальном введении. Совокупность суммарных РНК лимфоидных клеток тимуса, селезенки молодой здоровой особи или периферической крови здорового донора, содержащих оптимальное соотношение функциональных субпопуляций лимфоцитов, обеспечивает комплексное терапевтическое действие, поскольку индуцирует в организме реципиента нормальные адаптивные реакции, предоставляя возможность самому организму использовать из этой совокупности недостающее у него звено для компенсации дефекта той или иной функциональной системы.

Литература

(п.п. 2; 5; 6; 8; 9; 12-19; 21-27; 29; 30; 35-36; 38; 42; 46; 49 см. References)

1. Бадалян Л.О., Вельтишев Ю.Е., Виноградова Т.В. и др. *Наследственные болезни. Справочник*. Под ред. Бадаляна Л.О. Ташкент: Медицина; 1980.
3. Слесаренко Я.С., Лавров А.В., Смирнихина С.А. Клинические исследования для лечения наследственных заболеваний методами геномного редактирования. *Гены & Клетки*. 2020; XV(2): 51-5. DOI: 10.23868/202004023
4. Качук Е.А., Семинский И.Ж. Синдромальный подход в диагностике наследственных заболеваний (лекция). *Байкальский медицинский журнал*. 2023; 2(4): 85-94. <https://doi.org/10.57256/2949-0715-2023-2-4-85-94>

7. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Зотиков Е.А. Роль лимфоцитов в оперативном изменении программы развития тканей. М.: РАМН; 2009.
10. Мартыненко Ф.П., Шостак И.Н. Влияние соматотропина на образование аутологичных розеток тимоцитами гипотиреоидных крыс. *ДАН СССР*. 1982; Серия Б. (2): 67-72.
11. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Роль Т-лимфоцитов в гормональной регуляции морфогенетических процессов. *Успехи современной биологии*. 2015; 135(2): 189-202.
20. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Бабаева А.Г. О феномене повышенной чувствительности крыс, ранее перенесших аллоксановый диабет, к диабетогенному воздействию суммарной РНК. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020; 64(2): 85-8. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2020.02.85-88>
28. Белан Е.И., Скальная М.Г. Изменение эритропоэза у нормальных мышей под воздействием перитонеальных клеток, трансплантированных от сингенных доноров с длительной интоксикацией арсенитом натрия. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1999; 128(12): 646-9.
31. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В. Патогенез как проблема функциональной несостоятельности и дисбаланса в популяции Т-лимфоцитов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021; 65(2): 109-19. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2021.02>
32. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Влияние морфогенетической активности лимфоцитов на реактивность и резистентность организма. *Онтогенез*. 2018; 49(1): 54-66.
33. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Т-лимфоциты и тканевые факторы роста. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2015; 101(8): 865-84.
34. Бабаева А.Г., Зотиков Е.А. *Иммунология процессов адаптивного роста, пролиферации и их нарушений*. М.: Наука, 1987.
37. *Наследственные болезни. Национальное руководство. Краткое издание*. Под ред. Гинтера Е.К., Пузырева В.П. ГЭОТАР-Медиа. 2017, 464 с.
39. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Современный взгляд на роль Т-лимфоцитов в регуляции эритропоэза. *Успехи современной биологии*. 2016; 136(1): 81-95.
40. 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.
41. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. О чувствительности Т-лимфоцитов к гормонам аденогипофиза. *Успехи физиологических наук*. 2017; 48(1): 80-90.
43. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М. Альтернативный способ «перепрограммирования» лимфоцитов. *Гены & Клетки*. 2022; 17(3). ISSN 2313-1829. *Материалы V национального конгресса по регенеративной медицине*. М., 23-25 ноября 2022 г.
44. Геворкян Н.М. Повышение эффективности терапии стволовыми клетками при содействии суммарных РНК лимфоцитов здоровых доноров. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67(3): 124-36. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.03.124-36>
45. Бабаева А.Г., Тишевская Н.В., Геворкян Н.М. *О морфогенетических свойствах РНК лимфоидных и стволовых клеток при восстановительных процессах*. М.; 2016.
47. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В. *Очерки об особенностях изучения эффектов РНК и об РНК-терапии*. М.; 2019.
48. Гоникова З.З., Никольская А.О., Кирсанова Л.А., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Севастьянов В.И. Сравнительный анализ эффективности стимуляции процессов регенерации печеночными клетками костного мозга и общей РНК этих клеток. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21(1): 113-21. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-1-113-121>
50. *Супонницкий М.В.* Генотерапевтические векторные системы на основе вирусов. *Биопрепараты*. 2011; (3): 15-26.

References

1. Badalyan L.O., Veltishchev Yu.E., Vinogradova T.V., et al. *Hereditary diseases. Handbook. [Nasledstvennyye bolezni. Spravochnik]*. Ed., Badalyan L.O. Tashkent: Meditsina; 1980.
2. *Online Mendelian inheritance in man*. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, 2023. URL: <https://www.omim.org/help/copyright> [date of access: 02.10.2023]
3. Slesarenko Ya.S., Lavrov A.V., Smirnikhina S.A. Clinical studies for the treatment of hereditary diseases using genomic editing methods. *Geny & Kletki*. 2020; XV(2): 51-5. <https://doi.org/10.23868/202004023> (In Russian)
4. Tkachuk E.A., Seminskiy I.Zh. Syndromic approach to the diagnosis of hereditary diseases (lecture). *Baykalskiy meditsinskiy zhurnal*. 2023; 2(4): 85-94. <https://doi.org/10.57256/2949-0715-2023-2-4-85-94> (In Russian)
5. Walker D.G. Bone resorption restored in osteopetrotic mice by transplants of normal bone marrow and spleen cells. *Science*. 1975; 190(4216): 784-5.
6. Marks S.C., Jr. Studies of the cellular cure for osteopetrosis by transplanted cells: specificity of the cell type in IA rats. *Amer. J. Anat.* 1978; 151(1): 131-8.
7. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Zotikov E.A. *The role of lymphocytes in prompt changes in the tissue development program. [Rol' limfotsitov v operativnom izmenenii programmy razvitiya tkaney]*. Moscow: RAMN; 2009. (In Russian)
8. Sharkis S.J., Jedrzejczak W.W., Ahmed A., Santos G.W., McKee A., Sell K.W. Antitheta-sensitive regulatory cell (TSRC) and hematopoiesis: Regulation of differentiation of transplanted stem cells in W/W^u, anemic and normal mice. *Blood*. 1978; 52(4): 802-17.
9. Jedrzejczak W.W., Sharkis S.J., Ahmed A., Sell K.W., Santos G.W. Theta-sensitive cell and erythropoiesis: identification of a defect in W/W^u anemic mice. *Science*. 1977; 196(4287): 313-5.
10. Martynenko F.P., Shostak I.N. Effect of somatotropin on the formation of autologous rosettes by thymocytes of hypothyroid rats. *DAN SSSR*. 1982; Seriya B(2): 67-72. (In Russian)
11. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. The role of T-lymphocytes in the hormonal regulation of morphogenetic processes. *Uspexhi sovremennoy biologii*. 2015; 135(2): 189-202. (In Russian)
12. Like A.A., Kislaukis E., Williams R.R., Rossini A.A. Neonatal thymectomy prevents spontaneous diabetes mellitus in the BB/W rat. *Science*. 1982; 216(4546): 644-6.
13. Like A.A., Biron C.A., Weringer E.J., Byman K., Sroczyński E., Guberski D.I. Prevention of diabetes in BioBreeding/Worcester rats

- with monoclonal antibodies that recognize T-lymphocytes or natural killer cells. *J. Exp. Med.* 1986; 164(4): 1145-59.
14. Dale L., Greiner D.L., Mordes J.P., Handler E.S., Angelillo M., Nakamura N., et al. Depletion of RT6.1⁺ T-lymphocytes induces diabetes in resistant BioBreeding/Worcester (BB/W) rats. *J. Exp. Med.* 1987; 166(2): 461-75.
 15. Metzro-Dayer M.D., Moulard A., Brideau C., Duhamel D., Poussier P. Adoptive transfer of diabetes in BB rats induced by CD4 T-lymphocytes. *Diabetes.* 1990; 39(8): 928-32.
 16. MacKay P., Studstrup L. Old normoglycaemic BB rats as donors and recipients of adoptively transferred diabetes. *Autoimmunity.* 1993; 15 (Suppl. 1). Abstr. 48.
 17. Eduard P., Hiserodt J.C., Plamondon C., Poussier P. CD8+ T-cells are required for adoptive transfer of the BB rat diabetic syndrome. *Diabetes.* 1993; 42(3): 390-7.
 18. Buschard K., Madsbad S., Rygaard J. Passive transfer of diabetes mellitus from man to mouse. *Lancet.* 1978; 1(8070): 908-10.
 19. Buschard K., Rygaard J. T-lymphocytes transfer streptozotocin induced diabetes mellitus in mice. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. C.* 1978; 86C(6): 277-82.
 20. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Babaeva A.G. On the phenomenon of increased sensitivity of rats that previously suffered from alloxan diabetes to the diabetogenic effects of total RNA. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya.* 2020; 64(2): 85-8. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2020.02.85-88> (In Russian)
 21. Tung K.S., Keong C., McCarty T. Pathogenesis of experimental allergic orchitis. III. T-lymphocyte requirement in local adoptive transfer by peritoneal exudate cells. *J. Immunol.* 1977; 118(5): 1774-9.
 22. Brackertz D., Mitchell G.F., Vadas M.A., MacKay I.R. Studies on antigen-induced arthritis in mice. III. Cell and serum transfer experiments. *J. Immunol.* 1977; 118(5): 1645-8.
 23. Zembala M., Asherson G.L., Munro A.J., Tagart V.B. Suppressor T-cell product, which depresses the passive transfer of contact sensitivity, shares epitope(s) with the major histocompatibility complex. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 1977; 54(2): 183-6.
 24. Wekerle H., Fierz W. *T-lymphocyte autoimmunity in experimental autoimmune encephalomyelitis.* Organ based autoimmune diseases. Ed. J.M. Cruse, E.R. Jr. Lewis. Basel, 1985.
 25. Werdelin O. The origin, nature, and specificity of monoclonal cells in experimental inflammations. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1972; 232: 3-91.
 26. Tarrab-Hazdi R., Aharonov A., Abramsky O., Yaar I., Fuchs S. Passive transfer of experimental autoimmune myasthenia by lymph node cells in inbred guinea pigs. *J. Exp. Med.* 1975; 142(3): 785-9.
 27. Werdelin O., Ranlov P. Amyloidosis in mice produced by transplantation of spleen cells from casein-treated mice. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1966; 68(1): 1-18.
 28. Belan E.I., Skalnaya M.G. Changes in erythropoiesis in normal mice under exposure to peritoneal cells transplanted from syngeneic donors with long-term intoxication with sodium arsenite. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny.* 1999; 128(12): 646-9. (In Russian)
 29. Xia S.S., Jiang H.C., Zhou X.X., He G. Treatment of hemophilia A by living mother-to-son splenic transplantation. First case report in the world. *Clin. Med. J. (Engl.).* 1992; 105: 609-11.
 30. Aronovich A., Tchorsh D., Katchman H., Eventov-Friedman S., Shezen E., Martinowitz B.R. Correction of hemophilia as a proof of concept for treatment of monogenic diseases by fetal spleen transplantation. *PNAS.* 2006; 103(50): 19075-80.
 31. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V. Pathogenesis as a problem of functional failure and imbalance in the T-lymphocyte population. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya.* 2021; 65(2): 109-19. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2021.02> (In Russian)
 32. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. The influence of morphogenetic activity of lymphocytes on the reactivity and resistance of the body. *Ontogenez.* 2018; 49(1): 54-66. (In Russian)
 33. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. T-lymphocytes and tissue growth factors. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova.* 2015; 101(8): 865-84. (In Russian)
 34. Babaeva A.G., Zotikov E.A. *Immunology of the processes of adaptive growth, proliferation and their disorders. [Immunologiya protsessov adaptivnogo rosta, proliferatsii i ikh narusheniya].* Moscow: Nauka; 1987. (In Russian)
 35. Eventov-Friedman S., Tchorsh D., Katchman H., Shezen E., Aronovich A., Hecht G., et al. Embryonic pig pancreatic tissue transplantation for the treatment of diabetes. *PLoS Med.* 2006; 3(7): e215: 1165-76.
 36. Kim S.S., Park H.J., Han J., Gwak S.J., Park M.H., Song K.W., et al. Improvement of kidney failure with fetal kidney precursor cell transplantation. *Transplantation.* 2007. 83(9): 1249-58.
 37. *Hereditary diseases. National guidelines. Brief edition. [Nasledstvennyye bolezni. Natsional'noye rukovodstvo. Kratkoye izdaniye].* Ed. by Ginter E.K., Puzyrev V.P. GEOTAR-Media. 2017.
 38. Ghasemzad M., Hashemi M., Lavasani Z.M., Hossein-khannazer N., Bakhshandeh H., Gramignoli R., et al. Novel Gene-Correction-Based Therapeutic Modalities for Monogenic Liver Disorders. *Bioengineering.* 2022; 9: 392-419. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9080392>
 39. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. Modern view on the role of T-lymphocytes in the regulation of erythropoiesis. *Uspekhi sovremennoy biologii.* 2016; 136(1): 81-95. (In Russian)
 40. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. The role of lymphocyte RNAs in intercellular information exchange and regulation of regenerative processes. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova.* 2016; 102(11): 1280-301. (In Russian)
 41. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. On the sensitivity of T-lymphocytes to hormones of the adenohipophysis. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk.* 2017; 48(1): 80-90. (In Russian)
 42. Weigent D.A. Expression of lymphocyte-derived growth hormone (GH) and GH-releasing hormone receptors in aging rats. *Cell Immunol.* 2013; 282(2): 71-8.
 43. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M. *An alternative way to "reprogram" lymphocytes. Proceedings of the V National Congress on Regenerative Medicine. [Materialy V natsional'nogo kongressa po regenerativnoy meditsine].* Moscow, 23-25 noyabrya 2022. Moscow, November 20-23. Genes & Cells. 2022 r. 17(3). (In Russian)
 44. Gevorkyan N.M. Increasing the effectiveness of stem cell therapy with the assistance of total RNA of lymphocytes from healthy donors. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya.* 2023; 67(3): 124-36. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.03.124-36> (In Russian)
 45. *Babaeva A.G., Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M. On the morphogenetic properties of RNA in lymphoid and stem cells during regenerative processes. [O morfogeneticheskikh svoystvakh RNK limfoidnykh i stvolovykh kletok pri vosstanovitel'nykh protsessakh].* Moscow: 2016. (In Russian)

46. Latha T.S., Reddy M.C., Durbaka P.V.R., Rachamalla A., Pallu R., Lomada D. $\gamma\delta$ T cell-mediated immune responses in disease and therapy. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5(Art. 571): 1-11.
47. *Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V.* Essays on features of study effects of RNA and RNA-therapy. [*Ocherki ob osobennostyakh izucheniya effektivnosti RNK i ob RNK-terapii*]. Moscow: 2019. (In Russian)
48. Gonikova Z.Z., Nikolskaya A.O., Kirsanova L.A., Shagidulin M.Yu., Onishchenko N.A., Sevastianov V.I. The comparative analysis of the effectiveness of stimulation of liver regeneration by bone marrow cells and total RNA of these cells. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2019; 21(1): 113-21. DOI: 10.15825/1995-1191-2019-1-113-121 (In Russian)
49. Pierce G.F. Uncertainty in an era of transformative therapy for haemophilia: Addressing the unknowns. *Haemophilia*. 2021; 27 (Suppl. 3): 103–13. <https://doi.org/10.1111/hae.14023>
50. Supotnitskiy M.V. Virus-based gene therapy vector systems. *Bio-preparaty*. 2011; (3): 15-26. (In Russian)

Сведения об авторе:

Геворкян Нина Михайловна, науч. сотр. лаб. биосинтеза белков ФГБНУ «НИИ биомедхимии им. В.Н. Ореховича» РАН, e-mail: gevorkiann@yandex.ru