

СТЕПЕНЬ АКТИВАЦИИ ГЕМОПОЭЗА С ПОМОЩЬЮ СУММАРНОЙ РНК
ЗАВИСИТ ОТ СПОСОБА ЕЕ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

© 2020 г. Н. В. Тишевская¹, *, Н. М. Геворкян²

¹Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

²Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича,
Москва, Россия

*E-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.03.2020 г.

После доработки 06.04.2020 г.

Принята к публикации 17.04.2020 г.

В работе исследовали эффекты стимулирующей гемопоэза суммарной РНК при подкожном (п/к), внутримышечном (в/м), внутрибрюшинном (в/б), внутривенном (в/в) и интраназальном (и/н) способах введения. Суммарную РНК выделяли из лимфоидных клеток селезенки здоровых крыс через 17 ч после кровопотери. В качестве модели угнетенного эритропоэза использовалась бензолная анемия. Через 28 сут после первой инъекции бензола крысам различными способами вводили РНК. При в/б, в/в и и/н введении в крови крыс с бензолной анемией уже на 7-е сутки в 1.5–2 раза увеличилось количество ретикулоцитов и тромбоцитов, количество лейкоцитов в группах с в/в и и/н введением увеличилось в 1.4–1.6 раза. К 14-ым суткам количество ретикулоцитов в группах с в/б, в/в и и/н введением увеличилось в 2–2.6, количество лейкоцитов – в 1.6, тромбоцитов – в 1.4–1.6 раза. На 21-е сутки в указанных группах количество ретикулоцитов было выше контроля в 3–4, лейкоцитов – в 1.4, тромбоцитов – в 1.5–1.7 раза. На 21-е сутки появился эффект от в/м введения РНК: количество ретикулоцитов увеличилось в 2, а количество тромбоцитов – в 1.2 раза. На 21-е сутки у крыс исследовали миелограммы. При всех способах введения РНК, кроме п/к, в костном мозге достоверно увеличилось количество базофильных, полихроматофильных и эозинофильных эритробластов, а также количество мегакариоцитов. Количество миелобластов, промиелоцитов, миелоцитов и лимфоцитов увеличилось в костном мозге крыс только при в/б, в/в и и/н способах введения. Таким образом, наилучшими способами введения суммарной РНК оказались в/б, в/в и и/н. При в/м введении стимулирующий гемопоэз эффект появился только к 21-ым суткам. П/к введение суммарной РНК было неэффективным.

Ключевые слова: РНК, лимфоцит, гемопоэз, регенерация

DOI: 10.31857/S0869813920080099

С развитием регенерационной медицины особое значение приобретают научные направления, связанные с изучением факторов, влияющих на морфогенез, и с поиском новых средств, модулирующих пролиферацию, дифференцировку и созревание клеток. Одним из центральных звеньев регуляции роста и развития тканей является лимфоидная система. Морфогенетическая функция Т-лимфоцитов реализуется не только путем синтеза этими клетками гормонов и тканевых факторов роста [1, 2], но и посредством межклеточного информационного обмена, связанного с переносом молекул РНК [3]. Многими исследователями доказана способ-

ность экзогенных суммарных РНК к регуляции различных процессов в организме [4–6], причем в сравнении с результатом введения цельных клеток, активность выделенной из этих клеток суммарной РНК оказывается существенно выше [7]. Ранее нами были получены данные о том, что суммарная РНК лимфоидных клеток селезенки и периферической крови стимулирует гемопоэз у животных с посттрансфузионной полицитемией и бензолной анемией [8, 9].

При изучении морфогенетических свойств молекул РНК в экспериментах *in vivo* и при разработке новых РНК-содержащих биологически активных препаратов необходимо знать, какие пути введения вещества в организм будут наиболее эффективны, а при каких тестируемые вещества могут потерять свою биологическую активность. В экспериментальной физиологии используется множество парентеральных способов введения веществ лабораторным животным, однако у каждого биологически активного вещества есть свои особенности протекания первых этапов кинетики – всасывания, транспорта, связывания с молекулами-переносчиками и т.д. Целью настоящей работы явилось сравнение выраженности стимулирующего гемопоэза действия лимфоцитарной суммарной РНК при введении ее в организм животных наиболее распространенными в лабораторной практике путями (подкожно, внутримышечно, внутрибрюшинно, внутривенно), а также определение возможности использования интраназального способа введения суммарной РНК.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа была выполнена на 36 нелинейных крысах-самцах (сток Вистар) массой 200–210 г с токсической гипопластической анемией и 15 нелинейных крысах-самцах (сток Вистар) массой 220–250 г, из лимфоидных клеток селезенки которых выделяли суммарную РНК. Исследование проведено в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями о соблюдении биоэтических норм этического комитета ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России. Животные содержались в экспериментально-биологической клинике Южно-Уральского государственного медицинского университета в соответствии с правилами СП 2.2.1.3218 и Директивой 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях: в стандартных клетках из поликарбоната (по 6 крыс в каждой клетке), в условиях свободного доступа к воде, при температуре воздуха 24–25°C. Ежедневный рацион животных состоял из специализированного гранулированного корма, соответствующего по содержанию питательных веществ, витаминов и минералов международным стандартам и ГОСТ Р 50258-92 (Комбикорма полнорационные для лабораторных животных). Все манипуляции с животными производили под эфирным наркозом, эвтаназию грызунов осуществляли путем цервикальной дислокации, также проводимой под эфирным наркозом.

Для моделирования гипопластической анемии 36 крысам трижды (с интервалом в 7 сут) подкожно вводили равную по объему смесь химически чистого бензола (Камская химическая компания, Россия) в дозе 0.05 мл/100 г массы животного и стерильного подсолнечного масла (ТОО Жайик-AS, Казахстан) в дозе 0.05 мл/100 г массы животного [10]. На 28-е сутки после первой инъекции бензола у животных были исследованы показатели периферической крови, после чего случайным образом они были разделены на 6 групп (по 6 крыс в каждой группе). В этот же день 5 группам животных была введена суммарная РНК. Оставшиеся 6 крыс составили контрольную группу.

В работе использовалась стимулирующая гемопоэз суммарная РНК лимфоидных клеток селезенки. С целью ее получения 15 здоровым интактным крысам была произведена кровопотеря в объеме 2% от массы тела (после ампутации кончика предварительно прогретого хвоста собирали вытекающую из раны кровь). Через

17 ч после кровопотери животные были подвергнуты эвтаназии. Лимфоциты выделяли путем суспендирования ткани селезенки в стеклянном гомогенизаторе с фильтрацией через капроновый фильтр и последующим 3-х кратным отмыванием клеток стерильным 0.9%-ным раствором NaCl. Суммарную РНК выделяли в стерильных условиях методом гуанидин-тиоцианат-фенол-хлороформной экстракции. Концентрация выделенной РНК определялась спектрофотометрическим методом по оптической плотности препарата при длине волны 260 нм.

Суммарную РНК вводили подопытным крысам различными способами через 7 суток после последней инъекции бензола. При введении РНК использовали метод стерилизующей фильтрации (стерильные шприцевые насадки с диаметром пор 0.22 мкм). Доза РНК в каждом случае составляла 20 мкг/100 г массы, объем вводимого раствора во всех случаях кроме интраназального способа введения составлял 0.5 мл. При подкожном (п/к) способе введения инъекции производили в область холки, при внутримышечном (в/м) – в мышцы бедра, при внутрибрюшинном (в/б) – в нижний правый квадрант области живота, при внутривенном (в/в) – в хвостовую вену. Интраназальное (и/н) введение осуществляли с помощью механического дозатора, животным закапывали по 25 мкл в каждый носовой ход. Крысам контрольной группы суммарную РНК не вводили.

На 7-е, 14-е и 21-е сутки после введения РНК в крови животных определяли число форменных элементов. Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева, количество тромбоцитов – в окрашенном по Романовскому-Гимза мазке крови (метод Фонио), количество ретикулоцитов – в мазке крови, окрашенной бриллиантовым крезиловым синим.

На 21-е сутки животные были выведены из эксперимента с целью изучения состояния костномозгового кроветворения. В мазках костного мозга, окрашенных по Романовскому-Гимза, определяли процентное содержание эритроидных, лимфоидных, мегакариоцитарных и молодых миелоидных клеток. В каждом мазке подсчитывалось 500 клеток костного мозга.

Статистическая обработка результатов была выполнена с помощью компьютерной программы IBM SPSS Statistics 19.0. Сравнения групп проводились методами непараметрической статистики с использованием критериев Манна-Уитни и хи-квадрат. Для выявления наиболее эффективных способов введения суммарной РНК был применен центроидный метод иерархической кластеризации с последующим построением дендрограммы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что бензол обладает выраженным миелотоксическим действием, и даже при его однократном введении в костном мозге возникает гипоплазия всех ростков кроветворения [11]. В нашем эксперименте после трехкратного введения бензола количество ретикулоцитов у крыс снизилось в 4.8, лейкоцитов – в 3.3, тромбоцитов – в 4.2 раза, т.е. в периферической крови появились явные признаки угнетения гемопоэза. При этом число зрелых эритроцитов не отличалось от показателей здоровых животных, поскольку эти клетки циркулируют в крови 90–110 дней, и периферическое звено эритрона в указанном временном промежутке (28 сут после первой инъекции токсиканта) еще не отреагировало на бензольную интоксикацию. Таким образом, к моменту введения РНК у подопытных крыс развилась токсическая гипопластическая анемия.

Через 7 сут после п/к или в/м введения РНК количество форменных элементов крови оставалось низким и не отличалось от контрольных значений (табл. 1). У крыс, которым РНК вводилась в/б, в/в или и/н, число ретикулоцитов в среднем увеличилось в 2 раза, а число тромбоцитов – в 1.4 раза. В/в и и/н пути введения

Таблица 1. Динамика количества форменных элементов крови у крыс с бензольной анемией при различных способах введения суммарной РНК**Table 1.** The dynamics of blood cells number in rats with benzene anemia with various methods of administration total RNA.

Пути введения Administration	Ретикулоциты ($\times 10^9/\text{л}$) Reticulocytes	Эритроциты ($\times 10^{12}/\text{л}$) Erythrocytes	Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$) Leukocytes	Тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$) Platelets
7-е сутки (Day 7)				
Контроль The control	6.6 \pm 0.3	5.6 \pm 0.1	2.43 \pm 0.04	84.0 \pm 1.8
Подкожное Subcutaneous	6.0 \pm 0.4	5.7 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1	86.6 \pm 2.3
Внутримышечное Intramuscular	7.4 \pm 0.2	5.7 \pm 0.2	2.5 \pm 0.1	86.8 \pm 2.7
Внутрибрюшинное Intraperitoneal	13.0 \pm 0.4*	5.8 \pm 0.3	2.8 \pm 0.1	106.2 \pm 2.2*
Внутривенное Intravenous	15.2 \pm 0.4*	5.5 \pm 0.1	3.9 \pm 0.1*	138.6 \pm 3.1*
Интраназальное Intranasal	11.0 \pm 0.5*	5.4 \pm 0.2	3.5 \pm 0.1*	101.0 \pm 3.2*
14-е сутки (Day 14)				
Контроль The control	7.2 \pm 0.4	5.6 \pm 0.1	2.5 \pm 0.1	90.6 \pm 3.5
Подкожное Subcutaneous	6.8 \pm 0.6	5.9 \pm 0.4	2.4 \pm 0.1	93.8 \pm 3.0
Внутримышечное Intramuscular	8.6 \pm 0.3	5.8 \pm 0.1	2.5 \pm 0.1	103.8 \pm 2.7
Внутрибрюшинное Intraperitoneal	18.6 \pm 0.5*	5.9 \pm 0.3	3.9 \pm 0.1*	126.6 \pm 3.0*
Внутривенное Intravenous	19.0 \pm 1.1*	6.0 \pm 0.5	4.0 \pm 0.1*	145.6 \pm 2.6*
Интраназальное Intranasal	14.4 \pm 0.5*	5.8 \pm 0.1	3.8 \pm 0.1*	130.8 \pm 3.6*
21-е сутки (Day 21)				
Контроль The control	7.0 \pm 0.6	5.6 \pm 0.3	2.8 \pm 0.1	105.2 \pm 3.2
Подкожное Subcutaneous	8.0 \pm 0.5	5.8 \pm 0.1	2.6 \pm 0.1	110.0 \pm 2.2
Внутримышечное Intramuscular	15.0 \pm 0.8*	6.0 \pm 0.1	3.2 \pm 0.1	127.4 \pm 2.6*
Внутрибрюшинное Intraperitoneal	27.0 \pm 0.5*	6.1 \pm 0.2	3.8 \pm 0.1*	168.4 \pm 4.1*
Внутривенное Intravenous	28.7 \pm 0.7*	6.0 \pm 0.2	4.2 \pm 0.1*	182.4 \pm 3.3*
Интраназальное Intranasal	21.8 \pm 0.7*	6.2 \pm 0.1	3.9 \pm 0.1*	157.8 \pm 4.0*

* – наличие достоверных различий между показателями контрольных и опытных групп, $p < 0.05$.* – the differences between the control and experimental groups, $p < 0.05$.

Таблица 2. Процентное содержание эритроидных клеток и мегакариоцитов в костном мозге крыс с бензольной анемией через 21 сутки после введения суммарной РНК**Table 2.** The percentage of erythroid cells and megakaryocytes in bone marrow of rat with benzene anemia 21 days after the injection of total RNA

Пути введения Administration	Базофильные эритробласты Basophilic erythroblasts	Полихроматофильные эритробласты Polychromatophilic erythroblasts	Оксифильные эритробласты Orthochromatic erythroblasts	Мегакариоциты Megakaryocytes
Контроль The control	1.4 ± 0.1	3.2 ± 0.2	5.4 ± 0.1	0.22 ± 0.03
Подкожное Subcutaneous	1.7 ± 0.2	3.3 ± 0.1	5.6 ± 0.2	0.21 ± 0.01
Внутримышечное Intramuscular	1.9 ± 0.1*	4.4 ± 0.1*	8.2 ± 0.3*	0.84 ± 0.02*
Внутрибрюшинное Intraperitoneal	3.4 ± 0.2*	8.2 ± 0.2*	12.8 ± 0.3*	1.92 ± 0.05*
Внутривенное Intravenous	4.4 ± 0.3*	10.4 ± 0.1*	16.7 ± 0.6*	1.84 ± 0.07*
Интраназальное Intranasal	4.2 ± 0.2*	8.8 ± 0.4*	14.4 ± 0.5*	1.43 ± 0.05*

* — наличие достоверных различий между показателями контрольных и опытных групп, $p < 0.05$.* — the differences between the control and experimental groups, $p < 0.05$.

РНК привели и к увеличению числа лейкоцитов в периферической крови крыс с бензольной анемией. Через 14 сут после введения РНК эффективность в/б, в/н и и/н путей введения не вызвала сомнений: количество ретикулоцитов, лейкоцитов и тромбоцитов в крови животных этих групп было достоверно выше, чем у контрольных крыс.

На 21-е сутки после в/в и в/б введения РНК количество ретикулоцитов в крови подопытных животных в 4 раза превысило контрольные значения, в группе с и/н введением — в 3 раза. Число лейкоцитов и тромбоцитов у животных этих групп также было достоверно больше, чем в контрольной группе. К 21-ым суткам впервые был зарегистрирован эффект после в/м инъекции РНК: количество ретикулоцитов и тромбоцитов в данной группе стало достоверно больше контрольных значений.

При исследовании влияния суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на гемопоэз у крыс с бензольной анемией было установлено, что эритроидный и мегакариоцитарный ростки кроветворения к 21-ым суткам отреагировали на все пути введения РНК, кроме п/к (табл. 2). При этом в/б, в/в и и/н способы введения РНК оказались в 2–3 раза эффективнее в/м инъекций.

В группах животных, получивших п/к или в/м инъекцию РНК, процентное содержание молодых миелоидных и лимфоидных клеток не отличалось от показателей контрольной группы крыс (табл. 3). Если же суммарная РНК вводилась крысам в/б, в/в или и/н, то в миелограмме был отмечен достоверный прирост количества вышеуказанных клеток.

Увеличение числа лимфоидных клеток в костном мозге, наблюдаемое при введении суммарной РНК лимфоцитов селезенки анемизированных животных заслуживает отдельного внимания, поскольку ранее нами было показано, что именно эти клетки принимают непосредственное участие в регуляции восстановительных морфогенезов в норме и при патологии [3, 8, 9, 12].

Для определения наиболее эффективных способов введения суммарной РНК был проведен кластерный анализ, представляющий собой многомерную статистическую процедуру, объединяющую исходные данные в сравнительно однородные группы (кластеры). Метод выявил, что полученные нами результаты образуют

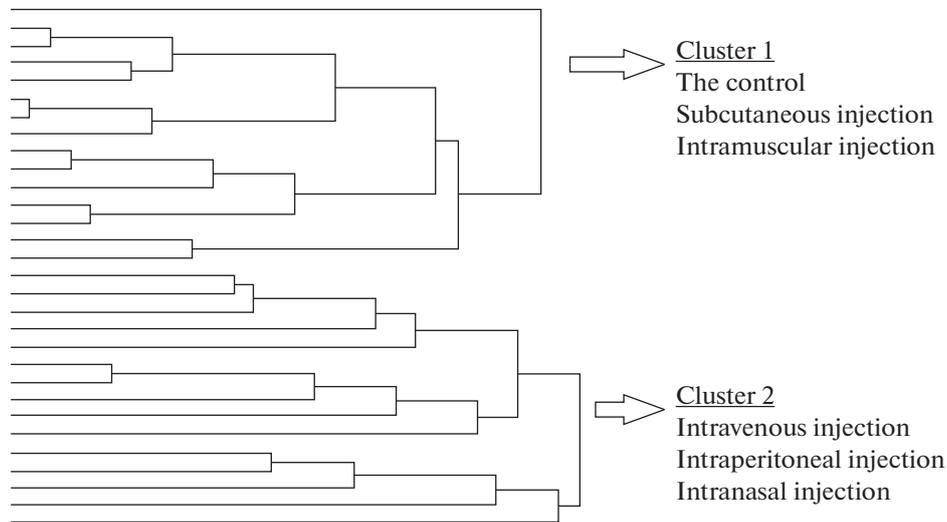


Рис. 1. Результат проведенного кластерного анализа (дендрограмма).

Fig. 1. The result of the cluster analysis (dendrogram).

2 кластера (рис. 1). В первый кластер вошли показатели контрольной группы крыс и групп животных, получивших препарат п/к или в/м. Второй кластер был образован показателями животных, получивших РНК в/в, в/б или и/н.

По совокупности полученных нами результатов самым действенным был в/в способ введения РНК, однако в/б и и/н пути введения оказались не менее эффективными, чем в/в инъекции. В/б введение растворов широко используется в ветеринарной практике и нередко в лечебных учреждениях, поскольку за счет большой площади поверхности и обильной васкуляризации брюшины этот способ характе-

Таблица 3. Процентное содержание миелоидных клеток и лимфоцитов в костном мозге крыс с бензолной анемией через 21 сутки после введения суммарной РНК

Table 3. The percentage of myeloid and lymphoid cells in bone marrow of rats with benzene anemia 21 days after the injection of total RNA.

Пути введения Administration	Миелобласты Myeloblasts	Промиелоциты Promyelocytes	Миелоциты Myelocytes	Лимфоциты Lymphocytes
Контроль The control	0.13 ± 0.05	0.74 ± 0.09	2.1 ± 0.1	6.4 ± 0.3
Подкожное Subcutaneous	0.14 ± 0.06	0.71 ± 0.04	2.3 ± 0.1	6.5 ± 0.4
Внутримышечное Intramuscular	0.16 ± 0.08	0.75 ± 0.05	2.5 ± 0.2	6.8 ± 0.3
Внутрибрюшинное Intraperitoneal	0.82 ± 0.06*	1.23 ± 0.08*	3.9 ± 0.2*	16.6 ± 0.7*
Внутривенное Intravenous	0.85 ± 0.05*	1.35 ± 0.06*	4.1 ± 0.3*	15.6 ± 0.5*
Интраназальное Intranasal	0.69 ± 0.05*	1.28 ± 0.06*	4.1 ± 0.2*	16.4 ± 0.6*

* – наличие достоверных различий между показателями контрольных и опытных групп, $p < 0.05$.

* – the differences between the control and experimental groups, $p < 0.05$.

ризуется быстрой и эффективной абсорбцией. И/н введению веществ в настоящее время уделяют особое внимание, так как оно представляет собой абсолютно не инвазивный способ, обеспечивающий быстрое поступление лекарственных препаратов сначала в мозговой, а затем в системный кровоток. Эффективность данного способа введения обусловлена хорошей васкуляризацией слизистой оболочки носа, малой толщиной и пористостью базальной мембраны эпителия носовой полости, а также большой площадью абсорбции. У крыс с массой тела менее 250 г общая площадь поверхности носовых ходов составляет 10.4 см² [13]. Важно отметить, что продемонстрированная в данной работе эффективность и/н способа введения лимфоцитарной суммарной РНК служит доказательством того, что ее морфогенетическая активность реализуется за счет входящих в ее состав микроРНК [3], поскольку эпителиальный барьер слизистой носовых путей является препятствием для соединений, молекулярная масса которых превышает 1000 Да [14].

Несмотря на сведения о том, что экзогенные нуклеиновые кислоты и олигонуклеотиды быстро проходят через гистогематические барьеры, и даже при конъюнктивальном введении они обнаруживаются в кровотоке уже через 10–15 мин [15], очевидно, что путь введения экзогенных РНК в организм имеет большое значение. В/б, в/в и и/н пути введения позволили лимфоцитарной суммарной РНК в полной мере реализовать свои стимулирующие гемопоэз эффекты, и они были сопоставимы по выраженности действия. П/к инъекция оказалась самым не эффективным способом доставки суммарной РНК в организм животных, а при в/м введении ее стимулирующая гемопоэз активность проявилась лишь к 21-ым суткам, и по совокупности показателей центрального и периферического звеньев кроветворения группа животных с в/м введением существенно “отставала” от групп, получивших РНК в/в, в/б или и/н.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

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).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Роль Т-лимфоцитов в гормональной регуляции морфогенетических процессов. Успехи соврем. биологии. 135(2): 189–202. 2015. [Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. The role of T-lymphocytes in hormonal regulation of morphogenetic processes. Uspekhi sovremen. biologii. 135(2): 189–202. 2015. (In Russ)].
2. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Т-лимфоциты и тканевые факторы роста. Рос. физиол. журн. им. Сеченова. 101(8): 865–884. 2015. [Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. T-lymphocytes and tissue growth factors. Russ. J. Physiol. 101(8): 865–884. 2015. (In Russ)].
3. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Роль лимфоцитарных РНК в межклеточном информационном обмене и регуляции регенеративных процессов. Рос. физиол. журн. им. Сеченова. 102(11): 1280–1301. 2016. [Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. The role of lymphocytic RNA in the intercellular information exchange and in the regulation of regenerative processes. Russ. J. Physiol. 102(11): 1280–1301. 2016. (In Russ)].
4. Смирнов А.В. Специфические эффекты и возможные механизмы действия экзогенных РНК. Успехи соврем. биологии. 106(1): 20–36. 1988. [Smirnov A.V. Specific effects and possible mechanisms of action of exogenous RNA. Uspekhi sovremen. biologii. 106 (1): 20–36. 1988. (In Russ)].
5. Vitvitskii V.N., Soboleva L.S., Shevchenko V.A. Cytotoxic and cytogenetic effects of radiation are modulated by introduction of RNAs isolated from various tissues in the organism. Biol. Bull. 27(3): 237–240. 2000.
6. Гоникова З.З., Никольская А.О., Кирсанова Л.А., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Севастьянов В.И. Исследование регенераторной и тканеспецифичной активности общей РНК клеток костного мозга. Вестник трансплантол. и искусствен. органов. 20(3): 64–

69. 2018. [Gonikova Z.Z., Nikolskaya A.O., Kirsanova L.A., Shagidulin M.Yu., Onishchenko N.A., Sevastyanov V.I. Investigation of regenerative and tissue-specific activity of total RNA of bone marrow cells. *Vestnik transplantol. i iskusstven. organov.* 20(3): 64–69. 2018. (In Russ)].
7. Гоникова З.З., Никольская А.О., Кирсанова Л.А., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Севастьянов В.И. Сравнительный анализ эффективности стимуляции процессов регенерации печени клетками костного мозга и общей РНК этих клеток. *Вестник трансплантолог. и искусствен. органов.* 21(1): 113–121. 2019. [Gonikova Z.Z., Nikolskaya A.O., Kirsanova L.A., Shagidulin M.Yu., Onishchenko N.A., Sevastyanov V.I. The comparative analysis of the effectiveness of stimulation of liver regeneration by bone marrow cells and total RNA of these cells. *Vestnik transplantol. i iskusstven. organov.* 21(1): 113–121. 2019. (In Russ)].
8. 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. *Рос. физиол. журн. им. Сеченова.* 101(4): 451–461. 2015. [Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Babaeva A.G., Zakharov Yu. M., Kozlova N.I., Bolotov A.A. Influence of total RNA splenic lymphoid cells on erythropoiesis in experimental polycythemia. *Russ. J. Physiol.* 101(4): 451–461. 2015. (In Russ)].
9. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Головкина Л.Л., Муратова Ю.О., Рагимов А.А. О гемопоэтических свойствах рибонуклеиновой кислоты лимфоцитов периферической крови больных истинной полицитемией и здоровых доноров. *Онкогематология.* 10(2): 58–62. 2015. [Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Golovkina L.L., Muratova Yu.O., Ragimov A.A. About hematopoietic properties of peripheral blood lymphocytes RNA from patients with polycythemia vera and healthy donors. *Onkogematologia.* 10(2): 58–62. 2015. (In Russ)].
10. Tishevskaya N.V., Bolotov A.A., Lebedeva Y.E. Dynamics of erythropoiesis in erythroblastic islands in the bone marrow in experimental benzene-induced anemia. *Bull. Exp. Biol. Med.* 161(3): 384–387. 2016.
11. Захаров В.Н., Караулов А.В., Соколов В.В., Фраш В.Н. Изменения системы крови при воздействии радиации и бензола. Новосибирск. Наука. 1990. [Zakharov V.N., Karaulov F.V., Sokolov V.V., Frash V.N. Changes in the blood system exposed to radiation and benzene. Novosibirsk. Nauka. 1990. (In Russ)].
12. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Современный взгляд на роль Т-лимфоцитов в регуляции эритропоэза. *Успехи современ. биологии.* 136(1): 83–96. 2016. [Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. A modern view of the role of T-lymphocytes in regulation of erythropoiesis. *Uspekhi sovremen. biologii.* 136(1): 83–96. 2016. (In Russ)].
13. Кательникова А.Е., Крышень К.Л., Зуева А.А., Макарова М.Н. Интраназальное введение лекарственных средств лабораторным животным. *Лабор. животные для научных исследований.* 2: 9. 2019 [Katelnikova A.E., Kryshen K.L., Zueva A.A., Makarova M.N. Intranasal introduction to laboratory animals. *Labor. Animals for Science.* 2: 9. 2019 (In Russ)].
14. Illum L. Nasal drug delivery – recent developments and future prospects. *J. Control. Release.* 161(2): 254–263. 2012
15. Власова И.Е., Нечаева М.В., Власов В.В. Системы доставки нуклеиновых кислот в клетки млекопитающих. *Успехи современ. биологии.* 114(6): 715–724. 1994. [Vlasova I.E., Nechaeva M.V., Vlasov V.V. Nucleic acid delivery systems to mammalian cells. *Uspekhi sovremen. biologii.* 114(6): 715–724. 1994. 1988. (In Russ)].

Comparative Analysis of the Effectiveness of Various Routes of Administration of Total RNA

N. V. Tishevskaya^{a,*} and N. M. Gevorkyan^b

^aSouth Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

^bInstitute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

*e-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

The effects of hematopoiesis-stimulating total RNA were studied with subcutaneous (s/c), intramuscular (i/m), intraperitoneal (i/p), intravenous (i/v) and intranasal (i/n) routes of administration. Total RNA was isolated from the lymphoid cells of the spleens of healthy rats 17 hours after blood loss. Benzene anemia was used as a model of inhibited erythropoiesis. 28 days after the first benzene injection, RNA was administered. After 7 days in i/p, i/v, i/n groups the number of reticulocytes and platelets increased 1.5–2 times, in i/v and i/n groups the number of leukocytes increased 1.4–1.6 times. After 14 days in i/p, i/v, i/n groups the number of reticulocytes increased 2–2.6 times, the number of leukocytes – 1.6 times, platelets – 1.4–1.6 times. After 21 days in these groups, the number of reticulocytes was 3–4 times higher than the control rats, leukocytes – 1.4 times,

platelets – 1.5–1.7 times. After 21 days the effect of the i/m administration of RNA appeared: the number of reticulocytes increased 2 times, the number of platelets – 1.2 times. On 21 days, myelograms were examined. In all groups, except s/c, the number of basophilic, polychromatophilic and orthochromatic erythroblasts, as well as the number of megakaryocytes, significantly increased in the bone marrow. The number of myeloblasts, promyelocytes, myelocytes and lymphocytes increased in the bone marrow only in i/p, i/v, i/n groups. Thus, the best methods for administration of total RNA were i/p, i/v, and i/n routes of administration. In i/m group, the stimulating hematopoiesis effect appeared only by 21 days. S/c administration of total RNA was ineffective.

Keywords: RNA, lymphocyte, hematopoiesis, regeneration

ЦИТИРОВАТЬ:

Тишевская Н.В., Геворкян Н.М. Степень активации гемопоэза с помощью суммарной РНК зависит от способа ее парентерального введения. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 106(8): 1016–1024.

DOI: 10.31857/S0869813920080099

TO CITE THIS ARTICLE:

Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M. Comparative Analysis of the Effectiveness of Various Routes of Administration of Total RNA. Russian Journal of Physiology. 106(8): 1016–1024.

DOI: 10.31857/S0869813920080099