

*Хараева З.Ф., доктор медицинских наук, профессор,
Тлупова Т.Г., кандидат медицинских наук, доцент,
Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова,
Джанибекова У.Х., технолог пищевых производств, независимый эксперт,
Кешева Д.А., фармацевт, независимый эксперт,
Джанибеков К.Х., ведущий инженер-программист,
Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова*

ДВУСТОРОННЯЯ ТАРГЕТНАЯ ТЕРАПИЯ: ОТ ОНКО- И ИНФЕКЦИОННЫХ ПАТОЛОГИЙ К АУТОИММУННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ

Аннотация: в статье проведен анализ видов таргетной терапии в контексте патологий аутоиммунного характера. Рассмотрены молекулярные основы современной таргетной терапии – белковые, ДН-аналоги, белково-(ДНК-аналоги) конструкции; генетические механизмы возникновения аутоиммунных патологий. Применительно к последним моделируется и обосновывается использование двусторонней таргетной терапии: уникальных для каждого пациента антисмысловых олигонуклеотидов для блокировки экспрессии генов соответствующих уникальных варибельных участков аутореактивных Т и/или В лимфоцитов.

Ключевые слова: аутоиммунные патологии, варибельные участки геномов лимфоцитов, таргетная терапия, двусторонняя таргетная терапия, антисмысловые олигонуклеотиды, искусственно приобретенный персонифицированный пассивный геномный иммунитет

Введение. Виды и молекулярные основы таргетной терапии

Современная практическая биомедицина характеризуется увеличением доли таргетных препаратов в общем арсенале химиотерапевтических соединений. Исторически сложилось так, что первыми таргетными препаратами, одобренными для применения в медицинской практике, были соединения белковой природы – моноклональные антитела. Технологической предпосылкой для подобного качественного перехода (парадигмального сдвига) выступили два достижения: определение структуры антител и создание гибридомных культур, что позволило получить необходимый продукт с приемлемой для клинической практики себестоимостью [24]. Вначале использовались культуры мышинных клеток, что значительно снижало терапевтический потенциал новой технологии в связи с образованием иммунных комплексов "мышинное антитело – человеческое антитело" вследствие имманентной иммуногенности ненативных мышинных белков (т.н. анти-антитела: human anti-murine antibody (НАМА)) [8]. Переходным периодом послужила технология получения химерных моноклональных антител, характеризовавшихся низким содержанием иммунологически ненативных детерминантных последовательностей (мышинный – антигенсвязывающий, варибельный домен Fab, человеческий – константный домен С) [38]. Третий период характеризуется полностью очеловеченными антителами, полученными с использованием трансгенных мышей с генами иммуноглобулинов человека, фагового скрининга, высокопроизводительных вычислительных систем молекулярного моделирования антигенсвязывающего домена [27, 13, 26, 4]. Пер-

вой клинически значимой реализацией моноклонального антитела как терапевтического соединения явился препарат **Muromonab** [19], антитело семейства IgG2a, комплементарное к CD-3 детерминанту Т-лимфоцитов. Блокирование данного детерминанта у пациентов с пересаженными почками предотвращало отторжение трансплантата. В настоящее время около 30 одобренных препаратов на основе моноклональных антител находятся в медицинской практике и несколько десятков в разработке.

Значительным достижением в развитии таргетной терапии, основанной на белках, оказалась технология производства scFv структур. [20, 5]. Подобные структуры состоят из сцепки V_L и V_H фрагментов родительского антитела. Сцепка, представляющая собой полипептид из 10-25 аминокислот, позволяет антигенсвязывающим фрагментам V_L и V_H принять соответствующую для необходимой фармакодинамики конформацию. Молекулярная масса подобных структур значительно меньше, соответственно, привлекательней разработка и производство. Например, формула противоопухолевого препарата **Trastuzumab** (моноклональное антитело) – $C_{6470}H_{10012}N_{1726}O_{2013}S_{42}$; формула препарата против возрастной макулярной дегенерации **Brolucizumab** (scFv конструкция) – $C_{1164}H_{1768}N_{310}O_{372}S_7$. В обоих случаях и терапевтическая цель, и терапевтический препарат представляют собой сложные 3D структуры из длинных гетерополимеров аминокислот.

Хотя технологии разработки и производства моноклональных антител и их производных достигли значительных успехов, у подобного подхода как реализации таргетной терапии есть три прин-

ципиальных ограничения. Первое – фармакодинамика – полипептидная природа и высокая молекулярная масса ограничивают спектр применения для подобного рода препаратов мембранными и внеклеточными целями (соответствующий пример – нейродегенеративные патологии [40]). Второе – фармакокинетика – как правило, введение подобного класса препаратов – немодифицированных полипептидных цепей – должно производиться каждые несколько недель. Третье – экономика – химический синтез подобных полипептидных цепей технологически проблематичен.

Другим подходом к реализации таргетной терапии является использование нуклеиновых кислот, их структурных и концептуальных производных как терапевтических соединений. Современная биомедицина уже имеет опыт клинического использования этого класса препаратов: **Fomivirsen** (торговое название **Vitravene**), **Mipomersen** (торговое название **Kynamro**), **Pegaptanib** (торговое название **Macugen**).

Можно выделить несколько направлений реализации данного подхода.

Первое направление – антисмысловые олигонуклеотиды (ASO) – классика генноинженерной терапии. Около четырех десятилетий прошли с момента публикации статей [44, 49], показавших принципиальную возможность использования гетеронуклеотидных полимеров (dA-A-T-G-G-T-A-A-A-T-G-G) для модуляции репликации генов и экспрессии генов. Впервые авторы ингибировали *in vitro* репликацию вируса саркомы Роуса (RSV) в культуре эмбриональных фибробластов цыплят. Исследование генома вируса (RSV – онкоретровирус) показало возможность блокировки последовательностей длиной 13 рибонуклеотидов (rC-C-A-U-U-U-U-A-C-C-A-U-U) на 5' (позиции 2-14) и 3' (позиции 9293-9305) концах РНК [42]. Процент ингибирования достигал 99%. При этом замечательном показателе авторы отмечали минимальную токсичность использованного подхода и возможность использования последнего для блокирования других вирусных инфекций. Антисмысловые олигонуклеотиды могут использоваться как кофактор RNase H (расщепление различных ядерных, цитоплазматических РНК), стерический блокер (блокировка взаимодействия РНК-РНК, РНК-ДНК, РНК-белок), инвейдер в двухцепочечную ДНК (блокировка транскрипции) Современный уровень использования антисмысловых олигонуклеотидов базируется на богатом опыте их применения *in vitro* и *in vivo*, обширном наборе модификаторов [12]. Кроме того, развивается применение антисмысловых олигонуклеотидов для ингибирования некодирующих РНК [29], роль которых в нормологии и патологии клеток и тка-

ней далеко не полностью изучена и притягивает внимание многих исследовательских лабораторий.

Антисмысловые транскрибируемые последовательности, введенные в клетки *ex vivo* соответствующими векторными конструкциями использовались для блокировки репликации вируса иммунодефицита человека в потенциальных клетках-хозяинах. Это явилось знаменательным достижением биомедицинской науки [30]. Хотя эта методика не полностью соответствует упомянутому выше направлению – химическому синтезу антисмысловых олигонуклеотидов – ее стоит отметить, так как механизм ингибирования одинаков. Данное направление позволяет достигать нокаута и нокадауна гена.

Второе направление – аптамеры. Аптамеры – олигонуклеотиды, специфично связывающие определенные молекулы. В качестве примера природных аптамеров можно упомянуть рибосомальные РНК (rRNA), связывающиеся с соответствующими рибосомальными белковыми субъединицами; рибосwitch – регуляторные элементы в мРНК, связывающиеся с низкомолекулярными соединениями и регулирующие трансляцию. Аптамер можно получить *in vitro* практически к любому соединению, используя технологию SELEX – Систематическую Эволюцию Лиганда Экспоненциальным Обогащением [9]. Для узнавания лиганда используются электростатические, гидрофобные взаимодействия. При этом важна 3D структура аптамера. Весьма вероятно, что в будущем аптамеры могут заменить моноклональные антитела и их производные конструкции во многих применениях – как терапевтических, так и диагностических, поскольку аптамеры не иммуногенны и химически синтезируемы. Данное направление позволяет достигать генетический нокадаун.

Третье направление – короткие интерферирующие РНК (siRNA). Сравнительно недавнее открытие новых возможностей коротких (21–23 рибонуклеотида) двухцепочечных РНК [16]. Исследователи предполагали ограничение данного инструмента растительным миром и беспозвоночными. Однако в 2001 было показано наличие данного инструмента у млекопитающих – это, безусловно, значительное пополнение молекулярно-биологического и терапевтического арсеналов исследователей [15]. Активен в составе RISC-комплекса (RNA Induced Silencing Complex). Последний состоит из упомянутой выше двухцепочечной РНК и, как минимум, Аргонавт2-белков, один из которых обладает рибонуклеазной активностью. RISC-комплекс "узнает" таргетируемую последовательность посредством одной из цепей siRNA, а Аргонавт2-рибонуклеаза расщепляет соответствующую мРНК [35]. Обладает завидной

фармакокинетикой – продолжительность действия до нескольких месяцев [17]. Минусом данного подхода является ограничения по модификациям siRNA, так как последние взаимодействуют с белковой ферментативной частью комплекса – Аргонат2-рибонуклеазой. Достигается нокдаун гена.

Четвертое направление – система CRISPR-Cas. CRISPR – кластеризованные, однородно расположенные, короткие палиндромные последовательности. Обнаружены несколькими исследовательскими группами в геномах прокариот и архей, являются частью геномной иммунной системы [21, 46, 36, 37]. Последовательности интегрированы в геномы при первичном внедрении в клетку плазмид или фагов для последующей защиты от подобных инфекций. Cas – CRISPR-ассоциированный белок, обладающий нуклеазной активностью. Алгоритм действия схож с механизмом siRNA [31, 18, 11]. Ведущим элементом является транскрибированные с участков CRISPR таргетирующая и трансактивирующая (crRNA и tracrRNA) последовательности, "узнающие" таргетируемую последовательность на экзогенной РНК или ДНК. В результате действия нуклеазы, тесно связанной с таргетирующей последовательностью – транскрипционно [32] и структурно, происходит расщепление экзогенных нуклеиновых кислот. Впоследствии были созданы более технологичные конструкции путем объединения crRNA и tracrRNA в одну молекулу sgRNA [22]. Таким образом, изменяя нуклеотидную последовательность единой молекулы sgRNA, можно таргетировать любую соответствующую последовательность ДНК [33]. Однако данное направление ограничено *ex vivo* манипуляциями с геномом вследствие присутствия в CRISPR-Cas комплексе экзогенных белковых структур. Также ограничено число модификаций молекулы sgRNA, так как последняя входит в состав сложного рибопротеинового комплекса. Данное направление позволяет достигать нокдаун и нокаут гена.

Пятым направлением можно выделить использование рибозимов – эволюционно наиболее ранней молекулярной конструкции, но наименее используемой молекулярной системы в таргетной молекулярной биологии и медицине [25]. Представляет собой РНК молекулу. Попытки *in vitro* и *in vivo* показали возможность полимеризации рибозимами мономеров РНК, ДНК и аминокислот, гидролиза полинуклеотидов. Является центральным звеном в концепции РНК-мира [47]. Достигается нокдаун гена.

Молекулярные мишени аутоиммунных патологий

Аутоиммунные патологии охватывают группу состояний, при которых происходит иммунная

реакция на нативные антигены клеток и тканей. Как правило, этиологические факторы не известны, хотя наблюдается существенный прогресс в исследовании молекулярных основ подобных патологий [6]. В некоторых случаях причиной аутоиммунной реакции может выступить перенесенная инфекция, в других – факторы внешней среды. Наиболее распространенные заболевания данной группы согласно данным за 2017 год [3]: диабет 1-го типа (20803 случая), рассеянный склероз (6809 случаев), псориаз (94800 случаев), ревматоидный артрит (32497 случаев), системная красная волчанка. Терапия аутоиммунных патологий является одной из наиболее сложных. Например, в офтальмологической практике часто встречается "специализация" аутоиммунных нарушений в виде увеита. Клеточным исполнителем воспалительного процесса при увеите выступает субпопуляция Т-клеток Th17 зрительной иммунной системы. Th17 хелперные клетки несут на себе рецепторы, комплементарные нативным белкам зрительной системы с преобладающей секрецией IL-17, IL-22 и IFN- γ , но не IL-10 [39].

Специфичность приобретенного иммунитета молекулярно опосредуется соматической V(D)J-рекомбинацией участков геномов В и Т клеток во время их созревания (костный мозг и тимус соответственно), что приводит к практически неограниченному множеству (10^{11}) вариативных фрагментов производимых В-клетками иммуноглобулинов и рецепторов Т-клеток [34, 43, 45]. Теоретически подобное разнообразие позволяет нейтрализовать любой молекулярный антиген или любую клеточную инфекцию. Для предотвращения аутоиммунной реакции лимфоцитарные клетки, взаимодействующие с нативными антигенами клеток и тканей, подвергаются апоптозу и элиминируются из организма. Подобная селекция опосредуется геном AIRE (AutoImmune REgulator) во внутренней части тимуса. AIRE является транскрипционным фактором медуллярных эпителиальных клеток тимуса и основой механизма отрицательной клональной селекции [7]. Медуллярные эпителиальные клетки тимуса экспрессируют практически весь спектр нативных антигенов организма. Если лимфоцитарные клетки реагируют на нативные антигены на поверхности медуллярных эпителиальных клеток тимуса, то первые апоптуют. В случае нарушений механизма отрицательной селекции и выхода аутореактивных лимфоцитов в другие органы возникают аутоиммунные патологии. Выше мы упоминали роль Th17 хелперов в развитии увеита. Предполагается, что Th17 не элиминируются ввиду того, что некоторые антигены зрительной системы не представлены в ти-

мусе и не участвуют в отрицательной селекции [28].

Чем характеризуются аутореактивные лимфоциты, вызывающие названные патологии? Определенно, генетической последовательностью, паттерном, кодирующим вариабельную часть синтезируемых либо антитела (В-клетки), либо клеточного рецептора (Т-клетки), реагирующими с нативными антигенами. Данная последовательность, называемая участком, определяющим комплементарность, будет уникальной для определенной клональной популяции Т или В лимфоцитов и располагающейся на нескольких хромосомах [48].

Представляется, что для терапевтического вмешательства, направленного для устранения причин аутоиммунных реакций необходима блокировка экспрессии соответствующих уникальных последовательностей, паттернов аутореактивных Т и/или В лимфоцитов, а оптимальным инструментом выступают антисмысловые олигонуклеотиды. Мономеры данного класса полимеров состоят из остатка фосфорной кислоты, пентозы, гетероциклического основания. Остаток фосфорной кислоты и пентоза образуют остов олигонуклеотида, последовательность гетероциклов определяет комплементарность к заданному участку РНК и/или ДНК – иными словами, у данного класса терапевтических соединений пространственно разнесены участки, определяющие фармакокинетику (РК) и фармакодинамику (РД) [23]. Химическая архитектура позволяет модифицировать остов молекулы и/или концевые участки 5' и 3' для достижения необходимой фармакокинетики (ADME: абсорбция, распределение, метаболизм и выделение), а изменение последовательности гетероциклов определяет фармакодинамику молекулы, его одномерную информационную природу [14]. В первом случае антисмысловой олигонуклеотид рассматривается как дианофор, во втором – как фармакофор. Технологии синтеза олигонуклеотидов с заданной последовательностью и множеством модификаций имеют богатую историю развития, достигли высокого уровня автоматизации [41]. Напротив, в традиционных низкомолекулярных терапевтических средствах почти всегда изменения в определенных участках молекулы для улучшения РД ведет к ухудшению РК и наоборот.

По аналогии с предложенными подходами к терапии онкологических и инфекционных патологий [1, 2] можно построить алгоритм двусторонней таргетной терапии аутоиммунных патологий:

1. Секвенирование полипептидных последовательностей вариабельных участков аутореактив-

ных Т и/или В лимфоцитов, определение паттерна узнавания нативных антигенов;

2. Секвенирование – таргетное или полногеномное – участков ДНК и/или РНК, кодирующих вариабельные фрагменты клеток в соответствии с (1), то есть профилирование иммунома [10];

3. Синтез уникальных для отдельного пациента комплементарных антисмысловых олигонуклеотидов, блокирующих транскрипцию и/или трансляцию соответствующих уникальных вариабельных фрагментов в соответствии с (2).

Данный алгоритм позволит персонифицированно, с высоким терапевтическим индексом блокировать синтез антител и/или рецепторов аутореактивных Т и/или В лимфоцитов, тем самым предотвращая развитие аутоиммунных реакций, наделяя организм Искусственно Приобретенным Персонифицированным Пассивным Геномным Иммунитетом (Artificially Acquired Personal Passive Genome Immunity).

Заключение. Двусторонняя таргетная терапия при аутоиммунных патологиях

Наряду с онкологическими и инфекционными, аутоиммунные патологии являются следствием экспрессии уникальных для генома организма-хозяина генетических последовательностей, нарушающих целостность клеток, тканей, органов. По мнению авторов наиболее оптимальным терапевтическим вмешательством при аутоиммунных патологиях может выступить двусторонняя таргетная терапия, основанная на персонифицированных:

1. геномном сиквенсе (полном или частичном) – определении паттерна;

2. определении таргетируемой последовательности;

3. синтезе блокирующих таргетируемую последовательность антисмысловых олигонуклеотидов.

Эволюция самозащиты нуклеиновых кислот прошла витки диалектической спирали рандомизированно достигнутой естественной прокариотической системы типа CRISPR-Cas и достигла этапа таргетированного искусственно приобретенного персонифицированного пассивного геномного иммунитета. Последний способен не только блокировать экспрессию экзогенной или опухолевой ДНК, но и патологические геномные последовательности вариабельных фрагментов аутореактивной лимфоцитарной части. Авторы планируют в дальнейшем проведение *in vitro* экспериментов для подтверждения работоспособности изложенного в статье алгоритма.

Литература

1. Джанибекова У.Х., Тлупова Т.Г., Джанибеков К.Х. "Биоинформационный аспект таргетной терапии вирусных патологий // Успехи современной науки. 2017. №5 (2). С. 47 – 49.
2. Кумыкова З.Ю. и др. "К вопросу о таргетной терапии онкологических патологий // Успехи современной науки и образования. 2016. №1 (8). С. 158 – 164.
3. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Департамент мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения. Заболеваемость всего населения России в 2017 году // Статистические материалы. Часть I. Москва 2018.
4. Adolf-Bryfogle, Jared, et al. "RosettaAntibodyDesign (RABD): A general framework for computational antibody design." *PLoS computational biology* 14.4 (2018): e1006112.
5. Ahmad, Zuhaida Asra, et al. "scFv antibody: principles and clinical application." *Clinical and developmental immunology* 2012 (2012).
6. Ahmed, Rizwan, et al. "A Public BCR Present in a Unique Dual-Receptor-Expressing Lymphocyte from Type 1 Diabetes Patients Encodes a Potent T Cell Autoantigen." *Cell* 177.6 (2019): 1583 – 1599.
7. Anderson, Mark S., and Maureen A. Su. "Aire and T cell development." *Current opinion in immunology* 23.2 (2011): 198 – 206.
8. Azinovic, Ignacio, et al. "Survival benefit associated with human anti-mouse antibody (HAMA) in patients with B-cell malignancies." *Cancer Immunology, Immunotherapy* 55.12 (2006): 1451 – 1458.
9. Blackwell T. Keith and Harold Weintraub. "Differences and similarities in DNA-binding preferences of MyoD and E2A protein complexes revealed by binding site selection." *Science* 250.4984 (1990): 1104 – 1110.
10. Bolotin, Dmitriy A., et al. "MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling." *Nature methods* 12.5 (2015): 380.
11. Charpentier, Emmanuelle, et al. "Biogenesis pathways of RNA guides in archaeal and bacterial CRISPR–Cas adaptive immunity." *FEMS microbiology reviews* 39.3 (2015): 428 – 441.
12. Chi, Xuan, Philip Gatti, and Thomas Papoian. "Safety of antisense oligonucleotide and siRNA–based therapeutics." *Drug discovery today* 22.5 (2017): 823 – 833.
13. Clementi, Nicola, et al. "Phage display-based strategies for cloning and optimization of monoclonal antibodies directed against human pathogens." *International Journal of Molecular Sciences* 13.7 (2012): 8273 – 8292.
14. Croke, Stanley T., et al. "Cellular uptake and trafficking of antisense oligonucleotides." *Nature biotechnology* 35.3 (2017): 230.
15. Elbashir, Sayda M., et al. "Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells." *nature* 411.6836 (2001): 494.
16. Fire, Andrew, et al. "Potent and specific genetic interference by double–stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*." *nature* 391.6669 (1998): 806.
17. Fitzgerald, Kevin, et al. "A highly durable RNAi therapeutic inhibitor of PCSK9." *New England Journal of Medicine* 376.1 (2017): 41 – 51.
18. Garneau, Josiane E., et al. "The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA." *Nature* 468.7320 (2010): 67.
19. Hooks, Michael A., Catherine S. Wade, and William J. Millikan Jr. "Muromonab CD–3: a review of its pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use in transplantation." *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 11.1 (1991): 26 – 37.
20. Huston, James S., et al. "Protein engineering of antibody binding sites: recovery of specific activity in an anti–digoxin single-chain Fv analogue produced in *Escherichia coli*." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 85.16 (1988): 5879 – 5883.
21. Ishino, Yoshizumi, et al. "Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product." *Journal of bacteriology* 169.12 (1987): 5429 – 5433.
22. Jinek, Martin et al. "A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity." *Science* 337.6096 (2012): 816 – 821.
23. Khvorova, Anastasia, and Jonathan K. Watts. "The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility." *Nature biotechnology* 35.3 (2017): 238.
24. Kohler, Georges, and Cesar Milstein. "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity." *nature* 256.5517 (1975): 495.
25. Kruger, Kelly, et al. "Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of *Tetrahymena*." *cell* 31.1 (1982): 147 – 157.

26. Kuroda, Daisuke, et al. "Computer-aided antibody design." *Protein engineering, design & selection* 25.10 (2012): 507 – 522.
27. Laffleur, Brice, et al. "Production of human or humanized antibodies in mice." *Antibody Methods and Protocols*. Humana Press, Totowa, NJ, 2012. 149 – 159.
28. Lambe, Teresa, et al. "Limited peripheral T cell anergy predisposes to retinal autoimmunity." *The Journal of Immunology* 178.7 (2007): 4276 – 4283.
29. Lieberman, Judy. "Tapping the RNA world for therapeutics." *Nature structural & molecular biology* (2018): 1.
30. Lu, Xiaobin, et al. "Antisense-mediated inhibition of human immunodeficiency virus (HIV) replication by use of an HIV typ-based vector results in severely attenuated mutants incapable of developing resistance." *Journal of virology* 78.13 (2004): 7079 – 7088.
31. Makarova, Kira S., et al. "A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action." *Biology direct* 1.1 (2006): 7.
32. Makarova, Kira S., et al. "An updated evolutionary classification of CRISPR–Cas systems." *Nature Reviews Microbiology* 13.11 (2015): 722.
33. Mali, Prashant, et al. "RNA-guided human genome engineering via Cas9." *Science* 339.6121 (2013): 823 – 826.
34. Matsuda, Fumihiko, et al. "The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus." *Journal of Experimental Medicine* 188.11 (1998): 2151 – 2162.
35. Meister, Gunter, et al. "Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs." *Molecular cell* 15.2 (2004): 185 – 197.
36. Mojica, Francisco JM, and Lluís Montoliu. "On the origin of CRISPR–Cas technology: from prokaryotes to mammals." *Trends in microbiology* 24.10 (2016): 811 – 820.
37. Mojica, Francisco JM, and Francisco Rodríguez-Valera. "The discovery of CRISPR in archaea and bacteria." *The FEBS journal* 283.17 (2016): 3162–3169.
38. Morrison, Sherie L., et al. "Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 81.21 (1984): 6851 – 6855.
39. Nian Hong, et al. "Characterization of autoreactive and bystander IL–17+ T cells induced in immunized C57BL/6 mice." *Investigative ophthalmology & visual science* 53.2 (2012): 897–905.
40. Panza, Francesco, et al. "Amyloid-directed monoclonal antibodies for the treatment of Alzheimer's disease: the point of no return?" *Expert Opinion on Biological Therapy* 14.10 (2014): 1465 – 1476.
41. Reese, Colin B. "The chemical synthesis of oligo-and poly-nucleotides: a personal commentary." *Tetrahedron* 44.58 (2002): 8893 – 8920.
42. Rous sarcoma virus, complete genome. The National Center for Biotechnology Information. NCBI Reference Sequence: NC_001407.1. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001407.1
43. Schatz, David G., and Yanhong Ji. "Recombination centres and the orchestration of V (D) J recombination." *Nature reviews immunology* 11.4 (2011): 251.
44. Stephenson, Mary L., and Paul C. Zamecnik. "Inhibition of Rous sarcoma viral RNA translation by a specific oligodeoxyribonucleotide." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 75.1 (1978): 285 – 288.
45. Travers, Paul, et al. *Janeway's immunobiology*. Garland Science, 2008.
46. Van Soolingen, D., et al. "Comparison of various repetitive DNA elements as genetic markers for strain differentiation and epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis*." *Journal of clinical microbiology* 31.8 (1993): 1987 – 1995.
47. Visser, C. M. "Evolution of biocatalysis 1. Possible pre-genetic-code RNA catalysts which are their own replicase." *Origins of life* 14.1-4 (1984): 291 – 300.
48. Yanagi, Yusuke, et al. "A human T cell-specific cDNA clone encodes a protein having extensive homology to immunoglobulin chains." *Nature* 308.5955 (1984): 145.
49. Zamecnik, Paul C., and Mary L. Stephenson. "Inhibition of Rous sarcoma virus replication and cell transformation by a specific oligodeoxynucleotide." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 75.1 (1978): 280 – 284.

References

1. Dzhanibekova U.H., Tlupova T.G., Dzhanibekov K.H. "Bioinformacionnyj aspekt targetnoj terapii virusnyh patologij // Uspekhi sovremennoj nauki. 2017. №5 (2). S. 47 – 49.
2. Kумыkova Z.YU. i dr. "K voprosu o targetnoj terapii onkologicheskikh patologij // Uspekhi sovremennoj nauki i obrazovaniya. 2016. №1 (8). S. 158 – 164.
3. Ministerstvo zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii. Departament monitoringa, analiza i strategicheskogo razvitiya zdravoohraneniya. Zabolevaemost' vsego naseleniya Rossii v 2017 godu // Statisticheskie materialy. CHast' I. Moskva 2018.
4. Adolf-Bryfogle, Jared, et al. "RosettaAntibodyDesign (RABD): A general framework for computational antibody design." *PLoS computational biology* 14.4 (2018): e1006112.
5. Ahmad, Zuhaida Asra, et al. "scFv antibody: principles and clinical application." *Clinical and developmental immunology* 2012 (2012).
6. Ahmed, Rizwan, et al. "A Public BCR Present in a Unique Dual-Receptor-Expressing Lymphocyte from Type 1 Diabetes Patients Encodes a Potent T Cell Autoantigen." *Cell* 177.6 (2019): 1583 – 1599.
7. Anderson, Mark S., and Maureen A. Su. "Aire and T cell development." *Current opinion in immunology* 23.2 (2011): 198 – 206.
8. Azinovic, Ignacio, et al. "Survival benefit associated with human anti-mouse antibody (HAMA) in patients with B-cell malignancies." *Cancer Immunology, Immunotherapy* 55.12 (2006): 1451 – 1458.
9. Blackwell T. Keith and Harold Weintraub. "Differences and similarities in DNA-binding preferences of MyoD and E2A protein complexes revealed by binding site selection." *Science* 250.4984 (1990): 1104 – 1110.
10. Bolotin, Dmitriy A., et al. "MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling." *Nature methods* 12.5 (2015): 380.
11. Charpentier, Emmanuelle, et al. "Biogenesis pathways of RNA guides in archaeal and bacterial CRISPR–Cas adaptive immunity." *FEMS microbiology reviews* 39.3 (2015): 428 – 441.
12. Chi, Xuan, Philip Gatti, and Thomas Papoian. "Safety of antisense oligonucleotide and siRNA–based therapeutics." *Drug discovery today* 22.5 (2017): 823 – 833.
13. Clementi, Nicola, et al. "Phage display-based strategies for cloning and optimization of monoclonal antibodies directed against human pathogens." *International Journal of Molecular Sciences* 13.7 (2012): 8273 – 8292.
14. Croke, Stanley T., et al. "Cellular uptake and trafficking of antisense oligonucleotides." *Nature biotechnology* 35.3 (2017): 230.
15. Elbashir, Sayda M., et al. "Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells." *nature* 411.6836 (2001): 494.
16. Fire, Andrew, et al. "Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*." *nature* 391.6669 (1998): 806.
17. Fitzgerald, Kevin, et al. "A highly durable RNAi therapeutic inhibitor of PCSK9." *New England Journal of Medicine* 376.1 (2017): 41 – 51.
18. Garneau, Josiane E., et al. "The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA." *Nature* 468.7320 (2010): 67.
19. Hooks, Michael A., Catherine S. Wade, and William J. Millikan Jr. "Muromonab CD-3: a review of its pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use in transplantation." *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 11.1 (1991): 26 – 37.
20. Huston, James S., et al. "Protein engineering of antibody binding sites: recovery of specific activity in an anti-digoxin single-chain Fv analogue produced in *Escherichia coli*." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 85.16 (1988): 5879 – 5883.
21. Ishino, Yoshizumi, et al. "Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product." *Journal of bacteriology* 169.12 (1987): 5429 – 5433.
22. Jinek, Martin, et al. "A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity." *Science* 337.6096 (2012): 816 – 821.
23. Khvorova, Anastasia, and Jonathan K. Watts. "The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility." *Nature biotechnology* 35.3 (2017): 238.
24. Kohler, Georges, and Cesar Milstein. "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity." *nature* 256.5517 (1975): 495.
25. Kruger, Kelly, et al. "Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of *Tetrahymena*." *cell* 31.1 (1982): 147 – 157.

26. Kuroda, Daisuke, et al. "Computer-aided antibody design." *Protein engineering, design & selection* 25.10 (2012): 507 – 522.
27. Laffleur, Brice, et al. "Production of human or humanized antibodies in mice." *Antibody Methods and Protocols*. Humana Press, Totowa, NJ, 2012. 149 – 159.
28. Lambe, Teresa, et al. "Limited peripheral T cell anergy predisposes to retinal autoimmunity." *The Journal of Immunology* 178.7 (2007): 4276 – 4283.
29. Lieberman, Judy. "Tapping the RNA world for therapeutics." *Nature structural & molecular biology* (2018): 1.
30. Lu, Xiaobin, et al. "Antisense-mediated inhibition of human immunodeficiency virus (HIV) replication by use of an HIV typ-based vector results in severely attenuated mutants incapable of developing resistance." *Journal of virology* 78.13 (2004): 7079 – 7088.
31. Makarova, Kira S., et al. "A putative RNA–interference–based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action." *Biology direct* 1.1 (2006): 7.
32. Makarova, Kira S., et al. "An updated evolutionary classification of CRISPR–Cas systems." *Nature Reviews Microbiology* 13.11 (2015): 722.
33. Mali, Prashant, et al. "RNA-guided human genome engineering via Cas9." *Science* 339.6121 (2013): 823 – 826.
34. Matsuda, Fumihiko, et al. "The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus." *Journal of Experimental Medicine* 188.11 (1998): 2151 – 2162.
35. Meister, Gunter, et al. "Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs." *Molecular cell* 15.2 (2004): 185 – 197.
36. Mojica, Francisco JM, and Lluís Montoliu. "On the origin of CRISPR–Cas technology: from prokaryotes to mammals." *Trends in microbiology* 24.10 (2016): 811 – 820.
37. Mojica, Francisco JM, and Francisco Rodríguez-Valera. "The discovery of CRISPR in archaea and bacteria." *The FEBS journal* 283.17 (2016): 3162–3169.
38. Morrison, Sherie L., et al. "Chimeric human antibody molecules: mouse antigen–binding domains with human constant region domains." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 81.21 (1984): 6851 – 6855.
39. Nian Hong, et al. "Characterization of autoreactive and bystander IL–17+ T cells induced in immunized C57BL/6 mice." *Investigative ophthalmology & visual science* 53.2 (2012): 897–905.
40. Panza, Francesco, et al. "Amyloid–directed monoclonal antibodies for the treatment of Alzheimer’s disease: the point of no return?" *Expert Opinion on Biological Therapy* 14.10 (2014): 1465 – 1476.
41. Reese, Colin B. "The chemical synthesis of oligo- and poly-nucleotides: a personal commentary." *Tetrahedron* 44.58 (2002): 8893 – 8920.
42. Rous sarcoma virus, complete genome. The National Center for Biotechnology Information. NCBI Reference Sequence: NC_001407.1. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001407.1
43. Schatz, David G., and Yanhong Ji. "Recombination centres and the orchestration of V (D) J recombination." *Nature reviews immunology* 11.4 (2011): 251.
44. Stephenson, Mary L., and Paul C. Zamecnik. "Inhibition of Rous sarcoma viral RNA translation by a specific oligodeoxyribonucleotide." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 75.1 (1978): 285 – 288.
45. Travers, Paul, et al. *Janeway's immunobiology*. Garland Science, 2008.
46. Van Soolingen, D., et al. "Comparison of various repetitive DNA elements as genetic markers for strain differentiation and epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis*." *Journal of clinical microbiology* 31.8 (1993): 1987 – 1995.
47. Visser, C. M. "Evolution of biocatalysis 1. Possible pre-genetic-code RNA catalysts which are their own replicase." *Origins of life* 14.1-4 (1984): 291 – 300.
48. Yanagi, Yusuke, et al. "A human T cell-specific cDNA clone encodes a protein having extensive homology to immunoglobulin chains." *Nature* 308.5955 (1984): 145.
49. Zamecnik, Paul C., and Mary L. Stephenson. "Inhibition of Rous sarcoma virus replication and cell transformation by a specific oligodeoxynucleotide." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 75.1 (1978): 280 – 284.

*Kharaeva Z.F., Doctor of Medical Sciences (Advanced Doctor), Professor,
Tlupova T.G., Candidate of Medical Sciences (Ph.D.), Associate Professor,
Kabardino-Balkarian State University named after Kh.M. Berbekov,
Dzhanibekova U.Kh., Food Processing Technologist, Independent Expert,
Kesheva D.A., Pharmacist, Independent Expert,
Dzhanibekov K.Kh., Senior Software Engineer,
Kabardino-Balkarian State University named after Kh.M. Berbekov*

BILATERAL TARGETED THERAPY: FROM CANCER AND INFECTIOUS PATHOLOGIES TO AUTOIMMUNE DISEASES

Abstract: the article analyzes forms of targeted therapy in the context of autoimmune pathologies. The molecular basis of modern targeted therapy – protein, DNA-analogs, protein-(DNA-analogs) constructs was outlined; genetic mechanisms of autoimmune pathologies. In relation to the latter, the use of bilateral targeted therapy is modeled and justified: antisense oligonucleotides are unique for each patient to block gene expression of the corresponding unique variable regions of autoreactive T and/or B lymphocytes.

Keywords: autoimmune pathologies, lymphocyte's genomes variable regions, targeted therapy, bilateral targeted therapy, antisense oligonucleotides, artificially acquired personal passive genome immunity