

















doi 10.18699/vjgb-26-57

## Концепция природной реконструкции генома.

### Часть 6. Анализ изменения частот встречаемости SNP в экзонах генов, ассоциированных с клональным гемопоэзом неопределенного потенциала у пациента с нейроэндокринной опухолью тонкой кишки в терминальной стадии прогрессии после модификации генома гемопоэтических стволовых клеток препаратом hDNA<sup>gr</sup> (клинический случай)

Д.Ю. Ощепков , В.С. Рузанова , С.Г. Ошихмина <sup>1,2</sup>, А.А. Траспов<sup>3</sup>, Е.В. Долгова , Г.С. Риттер , С.С. Кирикович , Е.В. Левитес , Я.Р. Ефремов , О.С. Таранов , Л.Ю. Гривцова<sup>3</sup>, С.В. Сидоров <sup>2,5</sup>, С.Д. Никонов<sup>6</sup>, О.Ю. Леплина , А.А. Останин , Е.Р. Черных , Н.А. Колчанов , А.С. Брюховецкий<sup>8#</sup>, С.С. Богачев <sup>1#</sup> 

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский национальный государственный исследовательский университет, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

<sup>4</sup> Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

<sup>5</sup> Городская клиническая больница № 1, Новосибирск, Россия

<sup>6</sup> Государственная областная Новосибирская клиническая туберкулезная больница, Новосибирск, Россия

<sup>7</sup> Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия

<sup>8</sup> АО Клинический госпиталь «НейроВита», Москва, Россия

 labmolbiol@mail.ru

**Аннотация.** В последней части цикла работ приводятся результаты пилотного исследования клинического случая (пациент К.), свидетельствующие о снижении частоты встречаемости SNP в экзонах генов, ассоциированных с клональным гемопоэзом неопределенного потенциала у пациента с нейроэндокринной опухолью тонкой кишки в терминальной стадии прогрессии при применении терапии, позволяющей реконструировать геном гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Основные принципы терапии состояли в следующем. У пациента отбирали контрольные образцы мононуклеаров периферической крови (нулевая точка). Затем проводились мобилизация и сбор CD34+ ГСК. Осуществляли модификацию генома ГСК с использованием технологии, позволяющей провести *ex vivo* коррекцию нуклеотидных последовательностей ДНК хромосом низкодифференцированных предшественников гемопоэза. Для этого собранную лейкоцитарную массу, обогащенную CD34+ ГСК, обрабатывали фрагментированной депротенизированной геномной ДНК, полученной от ~100 молодых здоровых рожениц (hDNA<sup>gr</sup>). Пациенту внутривенно реинфузировали обработанные клетки. За 5 дней до реинфузии пациент получал иммуносупрессивную терапию. Через 4, 8, 12 и 27 мес. также забирались образцы мононуклеаров периферической крови. Было проведено полноэкзомное секвенирование ДНК, выделенной из отобранных образцов клеток. В качестве критерия, отражающего изменения в геноме, была выбрана группа общепринятых генов клонального гемопоэза. В нулевой точке, в точках через 4, 8, 12 мес. использовались мультиплексные панели: MGI Easy Exome Capture V5 Probe set, Roche KAPA HyperExome, Nanodigmbio NEXome Plus Panel v1.0, охватывающие весь экзом и некодирующие области анализируемых генов, прилегающие к экзонам с покрытием ~100x. Для верификации выявленных мутаций и более точного определения их долей в прочтениях на последнем этапе анализа, через 27 мес. после терапии, использовалась панель с покрытием ~1000x (Nanodigmbio NanOnco Plus Panel v3.0), включающая выявленные в нулевой точке гены с мутантными аллелями. Также было выполнено полноэкзомное секвенирование препарата hDNA<sup>gr</sup> (Roche KAPA HyperExome), используемого для реконструкции генома ГСК, фрагменты которого в совокупности составляют полный геном человека. Несмотря на то что анализ прочтений полноэкзомного секвенирования ДНК, выделенной из мононуклеаров крови после проведенного лечения, не позволил выявить у пациента К. известных на данный момент признаков клонального гемопоэза с неопределенным потенциалом, нами обнаружено достоверное в рамках выбранного критерия снижение диапазона частот SNP до 18 % к 27-му месяцу наблюдения в 15 % гетерозиготных аллелей (*DNMT1*, *SF3B1(1-2)*). Последующий анализ частоты встречаемости контролируемых SNP и соответствующих данных по глубине их секвенирования, выполненный с использованием алгоритма All-FIT, свидетельствует, что к 27-му месяцу наблюдения доля клеток, несущих базовый набор SNP, значимо снижается на 12 % (доверительный интервал 5–16 %). Иными словами, в смеси клеток, гетерозиготных по этим SNP, появляется популяция клеток, несущая гомозиготу без SNP. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что для значимой доли клеток произошла коррекция SNP на альтернативный аллель и эта коррекция связана с обработкой исходных ГСК препаратом hDNA<sup>gr</sup>, причем обнаруженные изменения в группе генов клонального гемопоэза предполагают возможность коррекции других локусов по всему геному ГСК. Как следствие, клинические проявления в развитии патологии болезни имеют ярко выраженную положительную динамику, сохраняющуюся на протяжении четырех лет, до настоящего времени. Предполагается, что положительный клинический эффект после проведенной терапии реконструированными

© Ощепков Д.Ю., Рузанова В.С., Ошихмина С.Г., Траспов А.А., Долгова Е.В., Риттер Г.С., Кирикович С.С., Левитес Е.В., Ефремов Я.Р., Таранов О.С., Гривцова Л.Ю., Сидоров С.В., Никонов С.Д., Леплина О.Ю., Останин А.А., Черных Е.Р., Колчанов Н.А., Брюховецкий А.С., Богачев С.С., 2026

&, # Авторы внесли равный вклад.

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

стволовыми клетками крови связан с усилением регенеративного потенциала ГСК, произошедшего вследствие генетической коррекции неблагоприятных мутаций в геноме ГСК.















**Ключевые слова:** клональный гемопоэз; нейроэндокринная опухоль; технология реконструирования генома; полногеномное секвенирование; гемопоэтические стволовые клетки

**Для цитирования:** Ощепков Д.Ю., Рузанова В.С., Ошихмина С.Г., Траспов А.А., Долгова Е.В., Риттер Г.С., Кирикович С.С., Левитес Е.В., Ефремов Я.Р., Таранов О.С., Гривцова Л.Ю., Сидоров С.В., Никонов С.Д., Леплина О.Ю., Останин А.А., Черных Е.Р., Колчанов Н.А., Брюховецкий А.С., Богачев С.С. Концепция природной реконструкции генома. Часть 6. Анализ изменения частот встречаемости SNP в экзонах генов, ассоциированных с клональным гемопоэзом неопределенного потенциала у пациента с нейроэндокринной опухолью тонкой кишки в терминальной стадии прогрессии после модификации генома гемопоэтических стволовых клеток препаратом hDNA<sup>gr</sup> (клинический случай). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(4):541-556. doi 10.18699/vjgb-26-57

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в Институте цитологии и генетики (государственный бюджетный проект № FWNR-2026-0025) и при поддержке И.Н. Зайцевой и АО Клинический госпиталь «НейроВита».

## The concept of natural genome reconstruction.

### Part 6. Analysis of changes in the frequency of occurrence of SNPs in exons of the genes associated with clonal hematopoiesis of uncertain potential in a patient with a neuroendocrine tumor of the small intestine in the terminal stage of progression after modification of the hematopoietic stem cell genome with hDNA<sup>gr</sup> (a clinical case report)

D.Y. Oshchepkov , V.S. Ruzanova , S.G. Oshikhmina , A.A. Traspov<sup>3</sup>, E.V. Dolgova , G.S. Ritter , S.S. Kirikovich , E.V. Levites , Y.R. Efremov , O.S. Taranov , L.U. Grivtsova<sup>3</sup>, S.V. Sidorov , S.D. Nikonov<sup>6</sup>, O.Y. Leplina , A.A. Ostanin , E.R. Chernykh , N.A. Kolchanov , A.S. Bryukhovetskiy<sup>8#</sup>, S.S. Bogachev  

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup> National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia


<sup>4</sup> State Scientific Centre of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia

<sup>5</sup> City Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia

<sup>6</sup> State Regional Novosibirsk Clinical Tuberculosis Hospital, Novosibirsk, Russia

<sup>7</sup> Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia

<sup>8</sup> Clinical Hospital "NeuroVita", Moscow, Russia

 labmolbiol@mail.ru

**Abstract.** The final part of our series of studies reports the results of a pilot study of a clinical case (patient K.), indicating that therapy enabling reconstruction of the genome of hematopoietic stem cells (HSCs) reduces the frequency of SNPs in exons of the genes associated with clonal hematopoiesis of uncertain potential in a patient with a neuroendocrine tumor of the small intestine in the terminal stage of progression. The fundamental principles of the therapy were as follows. Control samples of peripheral blood mononuclear cells (baseline) were collected from the patient. CD34+ HSCs were then mobilized and collected. The HSC genome was modified using a technology enabling *ex vivo* correction of the nucleotide sequences of DNA chromosomes of poorly differentiated hematopoietic progenitor cells. For this purpose, the collected leukocyte suspension enriched with CD34+ HSCs was treated with fragmented deproteinized genomic DNA obtained from approximately 100 young healthy women in labor (hDNA<sup>gr</sup>). The patient was reinfused intravenously with the treated cells. Five days before reinfusion, the patient received immunosuppressive therapy. Samples of peripheral blood mononuclear cells were also collected 4, 8, 12, and 27 months after the therapeutic intervention. Full-exome sequencing of DNA isolated from selected cell samples was performed. A group of commonly accepted clonal hematopoiesis genes was selected as a criterion demonstrating changes in the genome. The following multiplex panels were used at the initial time point as well as time points after 4, 8, and 12 months: MGIEasy Exome Capture V5 Probe set, Roche KAPA HyperExome, Nanodigmbio NEXome Plus Panel v1.0, covering the entire exome and non-coding regions of the analyzed genes adjacent to exons with ~100× coverage. A ~1000× coated panel (Nanodigmbio NanOnco Plus Panel v3.0), including the genes with mutant alleles identified at the initial time point, was used to verify the identified mutations and more accurately determine their proportions in readings at the last stage of the analysis (27 months after the therapy). Whole-exome sequencing of hDNA<sup>gr</sup> (Roche KAPA HyperExome), which is used to reconstruct the genome of HSCs whose fragments collectively constitute the complete human genome, was also performed. Although the analysis of readings of whole-exome sequencing of DNA isolated from blood samples after treatment did not reveal any currently known signs of clonal hematopoiesis with uncertain potential in the patient K., we found a significant, within the framework of the selected criterion, decrease in the frequency range of SNPs to 18 % by 27 months of follow-up in 15 % cases of the heterozygous alleles (*DNMT1*, *SF3B1(1–2)*). Subsequent analysis of the frequency of occurrence of controlled SNPs and the corresponding data on the depth of their sequencing, performed using the All-FIT algorithm, indicates that by the 27th month of follow-up, the proportion of cells carrying the basic set of

SNPs significantly decreases by 12 % (confidence interval (CI) = 5–16 %). In other words, in a mixture of cells heterozygous for this SNP, a population of cells carrying a homozygote without an SNP appears. Our findings may indicate that a significant proportion of cells underwent correction of the SNP to an alternative allele, and this correction was associated with the treatment of the original HSCs with hDNA<sup>gr</sup>. The detected changes in the group of clonal hematopoiesis genes suggest the possibility of correcting other loci throughout the HSCs genome. Therefore, the clinical manifestations in the development of the disease show a pronounced positive trend, which has persisted for four years, until present. It is assumed that the positive clinical outcome after therapy with reconstructed hematopoietic stem cells is associated with an increase in the regenerative potential of HSCs, which resulted from the genetic correction of unfavorable mutations in the HSCs genome.

**Key words:** clonal hematopoiesis; neuroendocrine tumor; genome reconstruction technology; whole-genome sequencing; hematopoietic stem cells

**For citation:** Oshchepkov D.Y., Ruzanova V.S., Oshikhmina S.G., Traspov A.A., Dolgova E.V., Ritter G.S., Kirikovich S.S., Levites E.V., Efremov Y.R., Taranov O.S., Grivtsova L.U., Sidorov S.V., Nikonov S.D., Leplina O.Y., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Kolchanov N.A., Bryukhovetskiy A.S., Bogachev S.S. The concept of natural genome reconstruction. Part 6. Analysis of changes in the frequency of occurrence of SNPs in exons of the genes associated with clonal hematopoiesis of uncertain potential in a patient with a neuroendocrine tumor of the small intestine in the terminal stage of progression after modification of the hematopoietic stem cell genome with hDNA<sup>gr</sup> (a clinical case report). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(4):541-556. doi 10.18699/vjgb-26-57

## Введение

В настоящее время активное развитие получило такое направление, как регенеративная медицина. Ее целью является восстановление поврежденных и пораженных болезнью тканей и органов с применением стволовых клеток. Основным методом регенеративной медицины – трансплантация зрелых стволовых клеток. Наиболее широкое применение получили два типа стволовых клеток: мезенхимальные стволовые клетки и гемопоэтические стволовые клетки.

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) репарируют повреждения, используя различные механизмы. Они активируются провоспалительными цитокинами: интерфероном гамма (IFN- $\gamma$ ), фактором некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ), интерлейкином 1 бета (IL-1 $\beta$ ), а также различными лигандами толл-подобных рецепторов 3 (TLR3) и 4 (TLR4) (Waterman et al., 2010; English, 2013). Активные МСК выделяют различные цитокины и хемокины, такие как фактор роста фибробластов 2 (FGF2), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1), трансформирующий фактор роста бета (TGF $\beta$ ), простагландин E2 (PGE2), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерлейкины 6 (IL-6) и 13 (IL-13), индолеамин-2,3-диоксигеназа (IDO). За счет секретируемых факторов МСК воздействуют на многие клетки систем врожденного и адаптивного иммунитета, в том числе макрофаги, дендритные клетки, натуральные киллеры, Т-хелперные и регуляторные клетки, а также В-клетки, смещая локальный баланс в противовоспалительном направлении, что способствует регенерации тканей (Yin, Heit, 2021).

Паракринное действие МСК ингибирует окислительный стресс и обладает антиапоптотическими эффектами (Brown et al., 2019). *In vitro* было показано, что МСК могут мигрировать в направлении некоторых цитокинов и хемокинов, таких как стромальный клеточный фактор роста (SDF1), тромбоцитарный фактор роста-AB (PTGF-AB), IGF1, TNF $\alpha$ , эпидермальный фактор роста (EGF), высвобождающихся в межклеточное пространство в результате повреждения или ишемии, и запускать противовоспалительные реакции. МСК выделяют внеклеточные везикулы, в которых содержатся различные факторы роста, активирующие ангиогенез и клеточную пролиферацию, а

также микроРНК, тРНК, липиды, которые препятствуют апоптозу клеток и поддерживают мультипотентное состояние прогениторов (Maacha et al., 2020).

Еще одним механизмом регенерации является прямой перенос митохондрий МСК в клетки поврежденной ткани через нанотрубки, что, помимо усиления регенеративного потенциала целевых клеток, стимулирует антимикробную активность иммунных клеток (Islam et al., 2012; Li X. et al., 2014; Jackson et al., 2016). МСК способны дифференцироваться в различные типы клеток соединительных тканей, а именно остеобласты, хондроциты, адипоциты и миоциты. Они содержатся в костном мозге, пуповинной крови, плаценте, жировой ткани и др. и участвуют в восстановлении поврежденных клеток и тканей и ускоряют их регенерацию (Spees et al., 2016). Трансплантация МСК показала хорошие результаты в доклинических и клинических испытаниях при лечении множества дегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера (Wang et al., 2018), Паркинсона (Mendes Filho et al., 2018), боковой амиотрофический склероз (Gugliandolo et al., 2019). Помимо трансдифференцировки, была показана возможность слияния МСК с клетками реципиента, в том числе с клетками мозга, мышц, кишечника и печени, что способствовало восстановлению ткани органов (Fan et al., 2020).

Вклад гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в репаративный потенциал организма не менее масштабный. ГСК участвуют в репарации повреждений, в первую очередь связанных с активностью клеток крови. Они дифференцируются во все клетки крови и иммунной системы, тем самым обеспечивая постоянное их обновление в организме. Имеются данные, свидетельствующие о том, что ГСК могут трансдифференцироваться в соматические типы клеток, включая гепатоциты, кардиомиоциты, нейральные, эпителиальные и эндотелиальные клетки, приводя к регенерации соответствующих тканей (Lee, Hong, 2020; Li L. et al., 2021; Yuan et al., 2023). Тем не менее существует точка зрения, что репаративный потенциал ГСК в случае тканевых систем, отличных от лимфогематопоза, скорее всего, определяется паракринным действием ГСК, но не истинной трансдифференцировкой. Считается, что потенциал развития ГСК, как и других взрослых стволовых

клеток, ограничен врожденной системой типа стволовых клеток и тканью (Müller et al., 2016). Подобно МСК, ГСК воздействуют на клетки в очагах повреждения, секретируя различные молекулы, в том числе цитокины, хемокины, ростовые факторы, модулируя про- и противовоспалительные реакции и активируя репаративные механизмы таргетных клеток (Schwarting et al., 2008; Li N. et al., 2010; Wright et al., 2011; Liao et al., 2018; Fast et al., 2021; Biermann, Reya, 2022).

Известно, что репаративный потенциал стволовых клеток системы крови прежде всего зависит от их аллельного разнообразия, формирующего нормальный гемопоэз. Эта характеристика ГСК теряется в ходе жизни, и в стареющем организме гемопоэз приобретает клональные черты.

Классическая модель кроветворения, предполагающая строго иерархический процесс дифференцировки ГСК в зрелые клетки крови, претерпевает развитие. Современное представление о гемопоэзе связано с концепцией кроветворения как функционирования неоднородного пула ГСК и коммитированных клеток-предшественниц со всем множеством путей их дифференцировки и плавными переходами от одного состояния к другому (Jagannathan-Bogdan, Zon, 2013; Velten et al., 2017; Watcham et al., 2019). Гомеостаз гемопоэза обеспечивается сложной сетью взаимодействий механизмов регуляции транскрипции, эпигенетической модификации и метаболической адаптации, находящихся под влиянием внешних факторов, а также гуморальных и локальных сигналов микроокружения костного мозга (Pinho, Frenette, 2019). С возрастом в системе кроветворения происходят как количественные, так и качественные изменения. Пролиферативная активность стволовых клеток крови снижается, наблюдается смещение активности клеток иммунной системы в направлении провоспалительных реакций (Weiskopf et al., 2009; Ainciburu et al., 2023). Одной из причин указанных фенотипических изменений считается развитие клонального гемопоэза.

Нормальное кроветворение поддерживается множеством долго- и короткоживущих, сменяющих друг друга клонов кроветворных клеток. Костный мозг – одна из самых быстро пролиферирующих тканей. В организме человека каждый день производится примерно 1 триллион зрелых клеток крови (Doulatov et al., 2012). В основе системы кроветворения лежат стволовые кроветворные клетки, способные дифференцироваться во все зрелые клетки крови (Phillips, 1991; Bonnet, 2003). Потомство одной стволовой клетки крови представляет собой клон (Siminovitich et al., 1963). При устойчивом кроветворении система поликлональна, т. е. множество стволовых клеток крови одновременно участвует в поддержании нормальных показателей клеток периферической крови (Drize et al., 1996; Goyal, Zandstra, 2015; Carrelha et al., 2018). Менее 1.3 миллиона стволовых клеток крови поддерживают образование зрелых клеток периферической крови в течение жизни человека (Watson et al., 2020; Петинати, Дризе, 2021). Клональное кроветворение характеризуется непропорциональным увеличением числа потомков только нескольких стволовых клеток крови, несущих определенные мутации, по отношению ко множеству остальных клонов.

По сути, клональный гемопоэз является биологическим состоянием кроветворной системы, а не заболеванием.

Понятие клонального гемопоэза сформировалось после обнаружения типичных соматических мутаций в клетках периферической крови большой когорты пациентов (Genovese et al., 2014; Jaiswal et al., 2014). Во всех группах в образцах периферической крови были выявлены мутации в сходном наборе генов, при этом встречаемость мутаций зависела от возраста. Было идентифицировано более 70 различных генов, несущих определенные мутации (Sleptsov et al., 2023). Это, например, эпигенетические регуляторы (*DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*), гены репарации повреждения ДНК (DDR) (*TP53*, *PPM1D*, *CHEK2*, *ATM*), сигнальные гены клеточного роста (*JAK2*) и факторы сплайсинга (*SF3B1*, *SRSF2*). Наиболее часто мутирующими оказались гены *DNMT3A*, *TET2* и *ASXL1*, на долю которых приходится 80–90 % от всех детектируемых мутаций (Genovese et al., 2014; Jaiswal et al., 2014; Heyde et al., 2021; Joo et al., 2023). В настоящее время известно, что соматические мутации, возникшие и закрепившиеся в генах ГСК, в первую очередь относящихся к регуляторам эпигенетической модификации и клеточного цикла, являются основным движущим фактором клональной экспансии.

Соматические мутации в генах клонального гемопоэза – это результат стохастических событий, однако ускоренный темп их накопления во многом ассоциирован с возрастными изменениями ГСК, которые характеризуются снижением общего регенеративного потенциала (Geiger et al., 2013). Оказалось, что они наблюдаются у 10 % лиц старше 65 лет и лишь у 1 % лиц моложе 50 лет. При этом темпы накопления мутаций зависят непосредственно от гена. *DNMT3A*-мутантные клоны возникают в раннем возрасте и имеют постоянную скорость появления новых: ~5 % в год. Клоны, имеющие мутации в генах факторов сплайсинга (*SF3B1*, *SRSF2*), обнаруживаются в более позднем возрасте, а скорость появления новых составляет ~50 % в год. *TET2*-мутантные клоны постоянно возникают и фиксируются в течение всей жизни (Fabre et al., 2022).

Формирование мутантных ГСК происходит вследствие накопления мутаций, и клетка теряет свой регенеративный потенциал. В результате этого процесса мутировавший клон приобретает селективное пролиферативное преимущество, которое приводит к его клональной экспансии. Развивается клональный гемопоэз, и гемопоэтическая система теряет способность восстанавливать повреждения, возникшие в организме. Дополнительным механизмом клональной экспансии является элиминация мутантных клонов ГСК, накопивших соматические мутации, несовместимые с жизнеспособностью клетки. Данный защитный механизм сокращает стволовую и прогениторную пул клеток, что приводит к увеличению темпов накопления мутаций ввиду повышенной пролиферативной нагрузки на оставшиеся ГСК (Sleptsov et al., 2023).

Укорочение теломер, связанное с возрастом и возникающее в результате полуконсервативного механизма деления ДНК хромосом, увеличивает вероятность повреждений ДНК, тем самым тоже способствуя накоплению мутаций (D'Adda Di Fagnana et al., 2003).

Экспансия мутантных клонов не всегда сопровождается нарушением показателей крови и клиническими признаками. То есть количество клеток с соматической мутацией в периферической крови растет, но злокачественной трансформации еще не наблюдается. Такое состояние получило название «клональный гемопоэз с неопределенным потенциалом» (КГНП) (Heuser et al., 2016; Shlush, 2018; Steensma, 2018). Основным критерием КГНП считается определение частоты специфического вариантного аллеля, т. е. мутационной нагрузки, пропорциональной количеству аномальных клеток, которая при клональном гемопоэзе с неопределенным потенциалом равна или превышает 2 % (Duncavage, Tandon, 2015).

Существуют внешние причины, которые приводят к соматическому мутагенезу. Это возраст, генетическая предрасположенность, медикаментозная терапия и риски воздействия окружающей среды (Joo et al., 2023). Предлагаемые варианты, тем не менее, не дают понимания молекулярных и клеточных механизмов возникновения соматических мутаций в ГСК, что и является основой клональности предшественников гемопоэза.

На основании данных о существовании механизма интернализации экстраклеточной ДНК в стволовые клетки различного генеза можно предположить следующую логику накопления неблагоприятных SNP в ГСК.

В организме в периферийных тканях происходит постоянное появление и накопление мутаций (Шамаль, 2017; Cagan et al., 2022). После апоптотической или некротической гибели клетки с мутациями поставляют фрагменты, содержащие генетические нарушения, в кровотока (Anker et al., 1999; Jahr et al., 2001; Laktionov et al., 2004). Эти фрагменты достигают ГСК (и, по-видимому, других типов стволовых клеток) и интернализуются в них естественным природным механизмом за счет характерной структуры гликокаликса ГСК, отличающегося положительным зарядом (Dolgova et al., 2014; Petrova et al., 2022; Ritter et al., 2022; Potter et al., 2024). Доставленные в ГСК экстраклеточные фрагменты инициируют процесс терминальной дифференцировки ГСК, основным ярко выраженным событием которой является возникновение пангеномных однопочечных разрывов (Vatolin et al., 1997; Potter et al., 2024; Ruzanova et al., 2024). Это событие влечет за собой активацию репаративно-рекомбинационных систем клетки и индукцию так называемой рекомбиногенной ситуации (Likhacheva et al., 2008). Предполагается, что в процессе развития рекомбиногенной ситуации экстраклеточные фрагменты способны вступать в рекомбинационные отношения с геномной ДНК и интегрировать в геном в гомологичных локусах, замещая геномные последовательности (Yakubov et al., 2007; García-Olmo et al., 2012). Поскольку рекомбинация в условиях пангеномных однопочечных разрывов имеет высокую степень точности (Xu, 2015; Vriend, Krawczyk, 2017; Maizels, Davis, 2018; Zilio, Ulrich, 2021), такое замещение функционально и не будет нарушать последовательность ДНК генома, за исключением привнесения мутации. Со временем происходит накопление мутаций, и ГСК может приобрести клональные черты со всеми вытекающими последствиями. Этот механизм

становится более вероятным в случае активации апоптоза или появления очагов некротической деструкции в любой из тканей организма вследствие возникших патологий.

В связи с вышесказанным анализ генов клонального гемопоэза естественным образом оказался главным направлением исследований для выяснения последствий проводимой терапии, поскольку, если предложенная концепция верна, то в прямом эксперименте, используя обработку ГСК препаратом фрагментированной ДНК (hDNA<sup>gr</sup>) и современные методы полногеномного секвенирования, можно обнаружить соответствующие изменения в маркерных генах клонального гемопоэза. Если в организме развился КГНП, то общепринятые гены этой группы со специфическими для такого состояния драйверными мутациями могут представлять собой адекватную модель, позволяющую детектировать произошедшие аллельные замещения в их нуклеотидных последовательностях. Причем в данном случае, если такие изменения будут найдены, то анализируемая группа генов может стать маркерной платформой, отражающей сам факт *ex vivo* коррекции, который можно будет экстраполировать на весь геном. Однако в случае, если ни одно из известных маркерных событий (в известных генах) клонального гемопоэза не будет обнаружено, найденные изменения частот SNP могут в принципе свидетельствовать об изменении клонального состава ГСК. Это, в свою очередь, будет говорить о потенциальной коррекции неблагоприятных аллелей других генов и появлении клонов с другим набором аллелей SNP, отвечающих за регенеративный потенциал ГСК. В клиническом плане коррекция мутантных аллелей, относящихся или к системе генов клонального гемопоэза, или ко всему другому разнообразию генов, участвующих в поддержании регенеративных свойств стволовых клеток крови, на альтернативные благоприятные аллели будет свидетельствовать о восстановлении исходного регенеративного потенциала ГСК.

В настоящей части цикла работ приведены данные пилотного исследования клинического случая, которые свидетельствуют, что после терапии МНК, обогащенными CD34+ стволовыми клетками крови, которые были обработаны препаратом двупочечной ДНК человека (hDNA<sup>gr</sup>), произошло снижение частоты встречаемости определенного набора SNP, маркирующих общепринятые гены КГНП.

В рамках выбранных критериев обнаружено изменение частот определенных зародышевых мутантных аллелей генов клонального гемопоэза *ASXL1*, *DNMT1*, *RAD21*, *SF3B1(1-3)*, находящихся в гетерозиготе: для них наблюдается снижение частоты нуклеотидных замен до 18 % от нормального распределения чистых гетерозигот 50 %. Это свидетельствует о значимом отклонении от ожидаемого распределения частот для одной клональной линии клеток с характерным для гетерозиготы набором SNP и о появлении смеси клональных линий, несущих исследуемые SNP в разных пропорциях.

Основываясь на данных по частотам аллелей SNP и соответствующей глубине их секвенирования с использованием платформы All-FIT (Loh et al., 2020), мы провели

оценку содержания клеток разных клональных линий с определенным набором SNP и обнаружили достоверное свидетельство появления 12 % (доверительный интервал (CI) от 5 до 16 %) клеток с альтернативным набором SNP. Выдвигается гипотеза, что в результате проведенного лечения произошла коррекция мутантных аллелей на немутантные. При этом восстановился регенеративный потенциал ГСК (возможно, и других типов стволовых клеток, например МСК), проявившийся яркими положительными клиническими изменениями состояния пациента. Предполагается, что это восстановление связано не только и не столько с коррекцией в генах клонального гемопоэза, сколько с восстановлением других мутантных локусов в значимой доле ГСК, генетические нарушения в которых стали причиной его ослабления.

## Материалы и методы

**Законодательная база клинических исследований.** При проведении исследования авторы руководствовались принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Клиническая часть регулировалась соответствующими Протоколами лечения и сопровождалась добровольным согласием пациента (Приложение 1)<sup>1</sup>.

**Препарат hDNA<sup>gr</sup>.** Для обработки клеток использовалась фрагментированная геномная ДНК человека (препарат hDNA<sup>gr</sup> ТУ 20.42.15-001-58179831-2023, патент № 2855434 от 02.02.2026), полученная от ~100 здоровых рожениц и прошедшая real-time ПЦР верификацию и несколько анализов, характеризующих эпидемиологическую чистоту препарата согласно нормативным документам.

**Пациент. Анамнез.** Онкологический пациент К., 67 лет, с выраженными сердечно-сосудистыми нарушениями. История болезни № 2022/0025, находился в клинике АО Клинический госпиталь «НейроВита» с 13.07.2022 по 29.07.2022, 16 койко-дней.

Диагноз основного заболевания: С17. Нейроэндокринная опухоль тонкой кишки Т3N0M0. Резекция тонкой кишки, формирование илеостомы. Гистологическое заключение от 29.10.2018: нейроэндокринная опухоль G2 с вовлечением стенки тонкой кишки, с признаками лимфососудистой инвазии и периневральной инвазии, без метастазов. Край резекции кишки без признаков опухолевого роста. Сопутствующие заболевания: ишемическая болезнь сердца, постинфарктный кардиосклероз, стенозирующий атеросклероз коронарных артерий.

29.10.2018 был проведен один курс программной химиотерапии по схеме XELOX. Лекарственная терапия октреотидом-депо (до 05.2019).

Прогрессирование заболевания 26.10.2021: рост очагов (вероятно, МТС) в печени, лекарственная терапия соматулином.

Химиоэмболизация сегментарных ветвей правой печеночной артерии иринотеканом от 11.11.2021. ТБКА со стентированием ПКА, ПМЖВ, АО от 19.11.2021.

Гипертоническая болезнь 3 ст., риск 4. Нарушение ритма и проводимости сердца: пароксизмальная форма фи-

брилляции предсердий, пароксизмальная наджелудочковая тахикардия, радиочастотная абляция медленного пути АВ-соединения, каватрикуспидального истмуса 31.01.2022. Атриовентрикулярная блокада 1 ст. Наджелудочковая экстрасистолия. ХСН 2а, 2 ФК (NYHA), субкомпенсация.

08.02.2022, терапия соматулином по 120 мг 1 раз в 28 дней. Стабилизация.

Осложнение заболевания: ДВС от 15.05.2022. Системная воспалительная реакция от 15.05.2022 без установленного патогена. Абсцесс печени от 16.02.2022. Нижнедолевая пневмония справа от 16.05.2022 в стадии разрешения. Кандидоз ротовой полости от 20.02.2022. Консилиумом онкологов больной признан некурабельным, предложено нахождение в хосписе для онкологических больных.

С 11.05.2022 отмечено повышение температуры тела выше 38.0 °С. Самостоятельно принимал Амоксиклав + НПВС – без эффекта. Лихорадка два-три раза в день выше 38.0 °С сохранялась до момента госпитализации. Госпитализирован в клинику «НейроВита» 13.07.2022 с явлениями лихорадки неясного генеза. Жалобы при поступлении: на боли в правом подреберье, общую слабость, вялость, периодические боли в области сердца, боли в суставах. Цель госпитализации: уточнение этиологии лихорадки неясного генеза и проведение корректирующей терапии.

У пациента прогрессирующее злокачественное новообразование с признаками резистентности к проводимой терапии. Пациент соответствовал критериям включения и был введен в «Протокол персонализированной адаптивной генотерапии в лечении злокачественных опухолей»: морфологически подтвержденный диагноз злокачественного новообразования, прогрессирование на фоне проводимой стандартной терапии или резистентность к терапии, возраст 18–85 лет.

**Основные фазы персонализированной адаптивной генотерапии.** Все терапевтические процедуры проводились в соответствии с регламентом, описанным в работах (Брюховецкий, Богачев, 2023; Брюховецкий, Шурдов, 2024), и с клиническим протоколом лечения (см. Приложение 1). По желанию и добровольному согласию пациента в рамках программы и согласно указанному протоколу выполнен забор гемопоэтических клеток крови и костного мозга. Первоначально проводились мобилизация и сбор CD34+ ГСК. Для этого пациент начиная с 22.06.2022 получал 8 инъекций гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) подкожно, с интервалом 10–12 ч в течение 4 дней, согласно стандартной методике стимуляции кроветворения с целью мобилизации ГСК в периферическое русло. Использовалась схема Г-КСФ (филграстим): на 1–2-й день – 4.4 мкг/кг в день, на 3–4-й день – 8.8 мкг/кг в день. На 5-й день был выполнен лейкоцитоферез и проведены сбор гемопоэтических стволовых клеток в составе мононуклеаров крови, а также трепанобиопсия и забор материала костного мозга. Клеточность полученного материала была достаточной для проведения дальнейших манипуляций. Для фракции мононуклеаров крови количество CD34+ ГСК составило ~2 %. Далее биоматериал аутологичных МНК пациента очищали от эритроцитов, тромбоцитов и гранулоцитов на градиенте фикола

<sup>1</sup> Приложения 1–4 см. по адресу:  
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx30.zip>

(«БиолоТ», Россия). Очищенный лейкоконцентрат МНК криоконсервировали согласно стандартному методу криоконсервации. К клеточной суспензии добавляли диметилсульфоксид (Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd, Китай) в конечной концентрации 6–10 %, смесь замораживали со скоростью 1 градус/мин до –80 °С и хранили в парах азота.

Клиническая часть терапии. С 13.07.2022 была начата иммуносупрессия метилпреднизолоном № 2, с 14.07.2022 – сиролимусом № 4. 19.07.2022 была выполнена *ex vivo* генотерапия в виде реинфузии реставрированных лекарственной субстанцией hDNA<sup>gr</sup>, аутологичных ГСК. Образец криоконсервированных МНК, обогащенных CD34+ ГСК, размораживали. Непосредственно перед реинфузией была проведена модификация генома ГСК с использованием технологии, позволяющей выполнить *ex vivo* коррекцию нуклеотидных последовательностей ДНК хромосом низкодифференцированных предшественников гемопоэза. Для этого собранную лейкоцитарную массу, обогащенную CD34+ ГСК, отмывали от консерванта, ресуспендировали в физиологическом растворе и обрабатывали фрагментированной депротенизированной геномной ДНК, полученной от ~100 молодых здоровых рожениц (hDNA<sup>gr</sup>), в течение 60 мин при 37 °С. Лейкоцитарную массу отмывали от препарата hDNA<sup>gr</sup>. С информированного согласия пациента К. в асептических условиях блока реанимации и интенсивной терапии внутривенно введен составной аутологичный клеточный генотерапевтический препарат, содержащий  $3.6 \times 10^{10}$  аутологичных мононуклеаров периферической крови в 100.0 мл полиглюкина. Трансфузию проводили в центральный венозный катетер. Начало трансфузии на фоне премедикации 2.0 мл супрастина внутримышечно. Гемодинамический контроль состояния пациента в период реинфузии: АД 170/70 мм рт. ст., PS 62 уд. в минуту, SpO<sub>2</sub> 97 %. В целях профилактики аллергических реакций по окончании процедуры внутривенно капельно был введен дексаметазон. Через час после инфузии гемодинамический контроль: АД 115/60 мм рт. ст., PS 67 уд. в минуту, SpO<sub>2</sub> 97–96 %. Пациент перенес процедуру удовлетворительно. Осложнений во время процедуры не было. Копии документов, сопровождающие «Протокол персонализированной адаптивной иммунотерапии в лечении прогрессирующего рака и других злокачественных новообразований», и информированное согласие пациента приведены в Приложении 1.

**Пациент. Катамнез на 28.10.2022.** Больной чувствует себя удовлетворительно, дома ходил в горы, купался в горном озере. При обследовании КТ с контрастным усилением данных, указывающих на прогрессирование онкологического процесса, нет. Вызывает внимание увеличение забрюшинных лимфоузлов на 1–2 мм. Состояние расценено как стабилизация онкологического заболевания.

**Пациент. Катамнез на 10.04.2023.** 10 апреля 2023 г. прибыл на стационарное обследование в госпиталь. Состояние удовлетворительное. При КТ/ПЭТ обследовании грудной полости, брюшной полости и малого таза данных, указывающих на прогрессирование заболевания, не выявлено. Онкомаркеры заболевания в пределах нормы. У больного отмечается улучшение состояния по кардиологии.

С учетом наличия сердечно-сосудистой недостаточности, ИБС и стентов в сердечных сосудах последние полгода более в сердце нет (до терапии приходилось вызывать скорую медицинскую помощь до 3–4 раз в неделю). Ушла подагра, которая беспокоила последние 5 лет, компенсировался геморрой. Восстановился цвет волос (ушла седина), волосы стали густые и шелковистые, восстановился нормальный цвет лица пациента. Живет обычной нормальной жизнью. Если бы не колостома, чувствовал бы себя абсолютно здоровым человеком.

**Полногеномное секвенирование.** Для анализа произошедших изменений в системе клеток гемопоэза после терапии (реинфузии МНК, обогащенных реставрированными лекарственной субстанцией hDNA<sup>gr</sup> аутологичными ГСК) был проведен забор клеточного материала. До мобилизации ГСК и сбора МНК были отобраны контрольные образцы костного мозга и периферической крови. После лечебной интервенции через 4, 8, 12 и 27 мес. также забиралась образцы костного мозга и периферической крови. Было проведено полноэкзомное секвенирование ДНК, выделенной из отобранных образцов клеток периферической крови. Также выполнено полноэкзомное секвенирование препарата hDNA<sup>gr</sup>, используемого для реконструкции генома ГСК, фрагменты которого в совокупности составляют полный геном человека.

Из всех собранных биологических образцов была выделена геномная ДНК и оценены изменения в генах клонального гемопоэза методом секвенирования нового поколения (NGS).

Целевое парноконцевое секвенирование осуществлялось на приборе MGISEQ-G400 (MGI, Китай) с использованием мультиплексных панелей MGIEasy Exome Capture V5 Probe set, Roche KAPA HyperExome, NanodigmBio NEXome Plus Panel v1.0 или NanodigmBio NanOnco Plus Panel v3.0 (указано в графе “Тест-система” в приведенных в Приложении 2 таблицах) с целью поиска герминальных мутаций и клональных соматических мутаций в генах, ассоциированных с клональным гемопоэзом (*AKT1*, *ASXL1*, *ASXL2*, *BCOR*, *BCORL1*, *BRCC3\**, *CBL*, *CTCF*, *CUX1\**, *DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3b*, *ETNK1\**, *GNAS*, *GNB1\**, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *MPL*, *MTOR*, *MYD88*, *NLRP3\**, *NRAS*, *PPM1D*, *PTEN*, *PTPN11*, *RAD21*, *RUNX1*, *SETBP1\**, *SF3B1*, *SOX2*, *SRSF2*, *TET2*, *TP53*, *U2AF1*, *UBA1\**). Гены, отмеченные звездочкой (\*), не входят в панель NanodigmBio NanOnco Plus Panel v3.0 и в таблице отмечены индексом н/д (нет данных). Целевое покрытие составляет ×100 для экзомных панелей (MGIEasy Exome Capture V5 Probe set, Roche KAPA HyperExome и NanodigmBio NEXome Plus Panel v1.0) (Schema for Exome Probesets – Exome Capture Probesets and Targeted Region, n. d.) и ~×1000 или более для NanodigmBio NanOnco Plus Panel v3.0 (NanOnco Plus Panel v3.0, n. d.).

Для обработки результатов секвенирования использовались два биоинформатических пайплайна, первый из которых был оптимизирован для поиска герминальных мутаций, а второй – соматических.

Для герминального пайплайна применялись следующие программные инструменты: выравнивание на референсный геном человека (GRCh37) – BWA-MEM2 v2.2.1, мар-

кирование и удаление ПЦР-дубликатов – StreamMD v4.3.0, фильтрация картированных вариантов – Sambamba v1.0.1, контроль качества и метрики картирования – GATK Picard, поиск нуклеотидных замен – Google DeepVariant v1.6.1, фильтрация вариантов – BCFtools v1.20, аннотация вариантов – Ensembl Variant Effect Predictor (VEP) release 112.

Для соматического пайплайна использовались: выравнивание на референсный геном человека (GRCh37) – BWA-MEM2 v2.2.1, маркирование и удаление ПЦР-дубликатов – StreamMD v4.3.0, фильтрация картированных вариантов – Sambamba v1.0.1, контроль качества и метрики картирования – GATK v4.4.0.0, поиск нуклеотидных замен – GATK Mutect 2, фильтрация вариантов – FINGRS v1.7.2, аннотация вариантов – Ensembl Variant Effect Predictor (VEP) release 112.

Кодирующие и некодирующие варианты приведены в Приложении 2. К кодирующим отнесены варианты, расположенные в белок-кодирующей части гена, включая синонимичные варианты, а также варианты донорных и акцепторных сайтов сплайсинга. К некодирующим отнесены варианты вне белок-кодирующей части гена, не включая варианты донорных и акцепторных сайтов сплайсинга.

Оценка риска патогенности выполнялась согласно рекомендациям ACMG (SF v2.0)/МГНЦ, включая критерии: низкой популяционной частоты (частота варианта 1000 genomes и/или ExAC C NM\_015338.6 < 0.01), повреждающий эффект (nonsense, frameshift), наличие информации о варианте в локус-специфических базах данных и др.

Данные о частотах вариантного аллеля (variant allele frequency, VAF) представлены в Приложении 2 и являются официальным отчетом о проведенном анализе МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ Радиологии» Минздрава России. Приведены данные в форме табличных значений. В обобщенной таблице по экзонам и прилегающим областям частоты вариантных аллелей визуализированы при помощи цветовой шкалы в оттенках зеленого цвета.

**Анализ частот встречаемости SNP программой All-FIT** (Loh et al., 2020) был проведен с настройками, выставленными по умолчанию. На вход подавались данные по выявленному на предыдущем этапе SNP и по глубине секвенирования (Приложение 2, табл. 1). Общее количество SNP составило 15. В результатах учитывались данные без удаления из расчета SNP зародышевой линии (germline), без LOH (Loss of Heterozygosity) и субклональных SNP, поскольку в клональном наборе ГСК не предполагалось наличия малигнизированных вариантов ткани. В расчетах программы All-FIT использовались только кодирующие варианты SNP, для которых были получены данные по VAF и в начальной (до обработки), и в конечной (27 мес. после обработки) точках. Таким образом, набор выбранных для расчетов SNP не отличался, и разница в результатах обусловлена только изменениями частот.

**Статистический анализ** проводился с использованием программного обеспечения Statistica 8 (StatSoft, Талса, США). Достоверность различий оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни. Выявленные различия считались статистически значимыми при \*  $P_v < 0.05$ .

## Результаты

### Общие данные по результатам полноэкзомного секвенирования. Выбор генной платформы для анализа изменения частоты встречаемости SNP

Была проведена терапия пациента К. с нейроэндокринной опухолью тонкой кишки в терминальной стадии прогрессии (4-я стадия с метастазами в печени, лимфатических узлах и левой почке) аутологичными МНК, обогащенными ГСК, обработанными препаратом hDNA<sup>®</sup>. Пациент К. был госпитализирован в клинику «НейроВита» с явлениями лихорадки неясного генеза с выпиской консилиума онкологов, в которой значилось, что пациент признан некурабельным. Предложено нахождение в хосписе для онкологических больных. Целью госпитализации являлось уточнение этиологии лихорадки неясного генеза и проведение коррегирующей терапии. У пациента прогрессирующее злокачественное новообразование с признаками резистентности к проводимой терапии. В ходе коррегирующей терапии установлено, что пациент соответствует критериям включения в «Протокол персонализированной адоптивной иммунотерапии в лечении прогрессирующего рака и других злокачественных новообразований», после чего он был включен в протокол.

В результате проведенной терапии состояние пациента К. резко и стабильно улучшилось. Ремиссия основного заболевания наблюдается в течение четырех лет до настоящего времени. Сделано предположение, что произошедшие позитивные изменения в клинических проявлениях основного и сопутствующих заболеваний у пациента К. связаны с воздействием на стволовые клетки крови, присутствующие в составе МНК. Мы предположили, что в результате такого воздействия произошла генетическая коррекция мутантных локусов в клетках-предшественниках гемопоэтической системы (Ruzanova et al., 2024, 2025) и восстановлен репаративно-регенеративный потенциал ГСК, что и стало причиной ярко выраженного клинического эффекта.

Известно, что терапия МНК в виде монопрепарата, или в различных сочетаниях с физическими (обработка ультрафиолетом) (Andreu et al., 1994; Greinix et al., 2000) либо гуморальными (например, IL-2) (Dummer et al., 1993; Mendelenko et al., 1997; Пальцев и др., 2000) дополнительными обработками, или использование кондиционной среды МНК (Beer et al., 2016) стимулирует противовоспалительный ответ на всех уровнях. Это связывают с факторами, высвобождающимися в результате апоптоза МНК, и активацией противовоспалительных свойств макрофагов различной локализации (Beer et al., 2016). Также трансфузия МНК стимулирует васкуляризацию, что активно изучается для случаев нарушения трофики при сахарном диабете первого типа, сердечно-сосудистых патологиях, включая ишемический инфаркт миокарда, и при инсульте. Этот эффект, как предполагается, связан с активацией эндотелиальных клеток-предшественников, присутствующих в лейкомассе (Zhang, Huang, 2012; Vahidy et al., 2016; Gurusamy et al., 2018; Yunir et al., 2021). Однако столь длительных и разнообразных клинических

эффектов, как в случае с пациентом К., для терапии МНК *per se* в проанализированной в PubMed научной литературе не обнаружено. Как уже было сказано, мы связываем восстановление регенеративного потенциала ГСК с исправлением закрепившихся в геноме ГСК соматических мутаций. Восстановленная способность ГСК эффективно репарировать повреждения различного типа в различных тканях и органах аддитивно и синергично накладывается на регенеративный потенциал, описанный для мононуклеарной массы, где эффект тканевой регенерации также может быть связан с активированными, но не реконструированными ГСК, что объясняет ограниченность видимого регенеративного спектра МНК *per se*.

Базовые элементы адаптивной клеточной терапии (генотерапии) представляют собой следующие манипуляции. Первоначально проводится мобилизация предшественников гемопоэза с использованием колониестимулирующего фактора. Терапевтическая процедура состоит из обработки МНК препаратом hDNA<sup>gr</sup>, исчерпывающей отмывки клеток от привнесенной, экстраклеточной ДНК и реинфузии обработанных мононуклеаров в кровотоки пациента. Реинфузируется мононуклеарная масса в исходном состоянии за исключением того, что присутствующие в лейкоконцентрате ГСК захватили экстраклеточные фрагменты дцДНК и в клетках стартовали процессы, приводящие к генетической реконструкции.

Фрагменты ДНК препарата hDNA<sup>gr</sup> в совокупности составляют полный геном человека и содержат широкую аллельную представленность здоровых аллелей по всем последовательностям генома. В результате проведенной обработки фрагменты дцДНК препарата hDNA<sup>gr</sup> интернализируются в ГСК естественным природным механизмом и индуцируют развитие рекомбиногенной ситуации (Likhacheva et al., 2008; Ruzanova et al., 2024). Согласно «концепции природной реконструкции генома», происходит обмен гомологичными последовательностями экстрахромосомальных фрагментов и геномной ДНК по механизму однопочечной ассимиляции (*ss assimilation*) (Leung et al., 1997; Langston, Symington, 2005; Symington, 2014; Yakubov et al., 2024). Такой обмен приводит к замещению мутантных аллелей генома на аллели фрагментов. Если аллели фрагментов представлены «не мутантной, здоровой нормой», то произойдет корректирующее восстановление мутантного локуса. Высказанные соображения позволяют предполагать, что ярко выраженный положительный клинический эффект проведенной терапии связан в большей степени с генетической коррекцией ГСК и, как было сказано выше, в меньшей степени с активацией неизвестных факторов интегральной популяции мононуклеаров крови.

В настоящем исследовании мы выдвинули гипотезу, что в результате стохастической реконструкции генома стволовые клетки крови вернули утраченный в течение жизни и вследствие развившейся патологии регенеративный потенциал и распространили его на организм в целом.

Для проверки предположения о том, что следствием обработки ГСК в составе МНК будет коррекция SNP и появление клонов ГСК с немутантными аллелями, было проведено полноэкзомное секвенирование образцов ДНК, выделенной из МНК пациента. Предполагалось, что ис-

правление мутантных аллелей приведет к восстановлению регенеративного потенциала ГСК, что будет являться причиной выраженного клинического эффекта. В анализ были взяты только результаты секвенирования образцов МНК крови. Контрольные образцы отбирали до лечебной интервенции. Через 4, 8, 12 и 27 мес. после процедуры образцы МНК крови были отобраны повторно. Из этих проб была выделена ДНК и выполнено полноэкзомное секвенирование. В нулевой точке, в точках через 4, 8, 12 мес. использовались мультиплексные панели MGIEasy Exome Capture V5 Probe set, Roche KAPA HyperExome, Nanodigmbio NEXome Plus Panel v1.0, охватывающие весь экзом с покрытием ~100× (Schema for Exome Probesets – Exome Capture Probesets and Targeted Region, n. d.). Для верификации выявленных мутаций и более точного определения их долей на последнем этапе анализа, через 27 мес. после проведенной терапии, использовалась таргетная панель с покрытием ~1000× (Nanodigmbio NanOnco Plus Panel v3.0) (NanOnco Plus Panel v3.0, n. d.), включающая определенные в нулевой точке гены с мутантными аллелями. Дополнительно были секвенированы некодирующие области анализируемых генов, прилегающие к экзонам. Также было проведено полноэкзомное секвенирование препарата hDNA<sup>gr</sup>, Roche KAPA HyperExome, используемого для реконструкции генома ГСК, фрагменты которого в совокупности составляют полный геном человека (Приложение 2, рис. 1). Использование нескольких мультиплексных панелей было техническим решением, при этом их специфичность при выбранном покрытии близка по требуемым для анализа критериям (мишень, вне-мишени, дупликации), что делает выбор приемлемым для оценки частот SNP (Schema for Exome Probesets – Exome Capture Probesets and Targeted Region, n. d.; Belova et al., 2025).

Для анализа изменений в геноме после проведенной обработки была выбрана группа генов, ассоциированных с КГНП. Выбор генной платформы обусловлен тем, что изменения, затрагивающие указанные гены, создают молекулярную основу механизма клональной экспансии мутировавшего клона ГСК. Возникшее доминирующее положение нескольких таких клонов является причиной развития клонального гемопоэза с неопределенным потенциалом, снижающего защитные функции организма.

Предполагалось, что в системе кроветворения у больного К. произошло формирование доминирующих клонов, что могло быть отягощающим фактором основной патологии.

Было сделано предположение, что одним из критериев, отражающих возможные изменения в геноме ГСК после проведенных обработок, могла стать оценка снижения частоты SNP в выбранной группе генов. Преимущества такого выбора заключаются в простой детекции изменений в экзومه с использованием современных методов секвенирования (NGS), относительной дешевизне метода и наличии биоинформационных технологий, позволяющих анализировать именно эту группу генов. Если будут обнаружены изменения на генетическом уровне в анализируемых генах, это будет означать высокую вероятность аналогичных событий по всему геному. Следует подчеркнуть, что восстановление регенеративного потенциала ГСК, скорее всего,

будет связано не только и не столько с коррекцией в генах клонального гемопоэза, сколько с восстановлением других мутантных локусов, генетические нарушения в которых стали причиной его ослабления. Если такие генетические изменения будут обнаружены, то они могут являться и показателем усиления регенеративного потенциала гемопоэтической системы, и одновременно маркером самого факта *ex vivo* коррекции. Более того, предполагается, что аналогичные события могут происходить с другими типами стволовых клеток, присутствующими в лейкомассе и интернализирующими экстраклеточные фрагменты (МСК, эндотелиальные предшественники) (Dolgova et al., 2014), что также будет значимым фактором усиления общего регенеративного потенциала организма.

По результатам полноэкзомного секвенирования не обнаружено известных на данный момент драйверных SNP, принадлежащих генам клонального гемопоэза и определяющих развитие этого состояния (Genovese et al., 2014; Jaiswal et al., 2014; Heyde et al., 2021; Joo et al., 2023). Это означает, что у пациента не было детектируемых на уровне генетического анализа системных изменений в гемопоэзе и, на основании текущих литературных данных, не возникло доминирующих клонов ГСК с нарушенными механизмами, определяющими их регенеративный потенциал. То есть фактически у пациента клональный гемопоэз в его классическом проявлении не детектируется. Одновременно сказанное предполагает, что выраженные позитивные изменения в состоянии пациента после проведенного лечения связаны с генетическими изменениями других мутантных аллелей генов ГСК, непосредственно участвующих в указанных выше механизмах регенерации.

В ходе анализа, тем не менее, были выявлены SNP, принадлежащие общепринятым генам клонального гемопоэза, но не относящиеся к их драйверным аллелям и, по всей видимости, имеющие герминальное происхождение (100 % частота встречаемости – гомозигота; ~50 % частота встречаемости – гетерозигота) (см. Приложение 2, табл. 1).

Первичный анализ показал, что у части выявленных герминальных SNP частота встречаемости в конечной точке наблюдения по сравнению с нулевой значительно падает. Возможно, в процессе взаимодействия экстраклеточных фрагментов ДНК и стволовой клетки крови в геноме части ГСК произошло замещение части SNP, влияющих на регенеративный потенциал ГСК, на альтернативные аллели, единственным источником которых мог быть препарат hDNA<sup>gr</sup>, т. е. обнаружена соматическая коррекция. В результате исправления мутантных SNP возникла новая клональная линия ГСК, отличная от линии, существовавшей до начала лечения.

Важно, что воздействие было оказано на аллели генов ГСК с герминальными SNP. Наличие герминальных SNP предполагает, что все клетки организма имеют только такой генотип и нет других стволовых клеток крови, которые могли бы нести альтернативный. Этот факт снимает вопросы, связанные с возможной активацией молчащих с момента эмбрионального развития ГСК, активированных обработками. То есть, если появились новые SNP (или исчезли существующие), то такие изменения могли прои-

зойти только в постгерминальном периоде и являются следствием соматических процессов.

Требовалось найти подходы, доказывающие достоверность таких изменений, где основным могла быть оценка частоты встречаемости выявленных SNP.

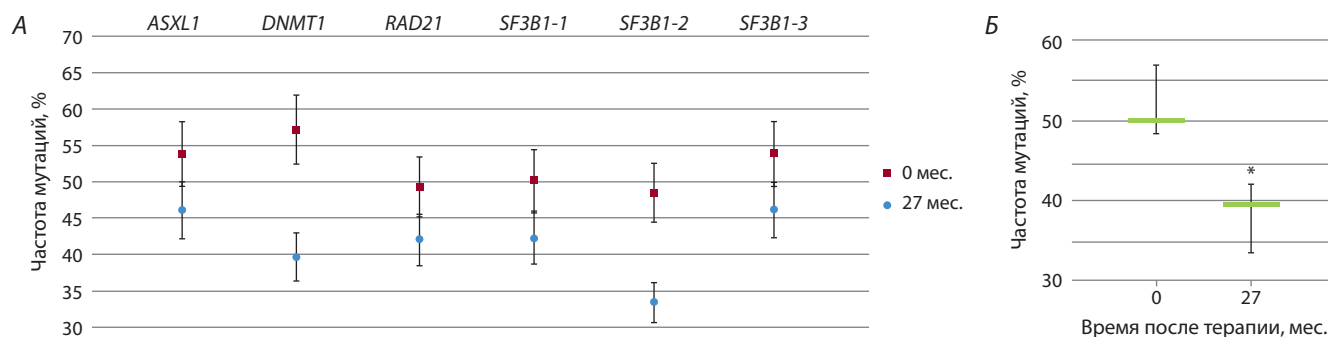
### Анализ частот встречаемости SNP

Для оценки частот встречаемости SNP было выбрано два подхода: сравнительный анализ изменения частот SNP выбранных генов в нулевой и конечной (27 мес.) точках наблюдения и алгоритм All-FIT (Loh et al., 2020) (см. Приложение 2, табл. 2).

**Анализ изменения частот SNP выбранных генов в нулевой и конечной (27 мес.) точках наблюдения.** В этой части работы, чтобы доказать факт замещения SNP на альтернативные аллели, был использован следующий подход. Суть его заключалась в том, что анализировались изменения частот в экзонах генов, имеющих гетерозиготное состояние. Результаты первоначально нормировались на имеющиеся литературные данные, полученные в различных лабораториях в разное время и на разных NGS платформах. На втором этапе была определена средняя ошибка оценки распределения частот в экзонах и прилегающих некодирующих областях гетерозиготных генов для данных исключительно настоящего исследования («внутренняя» ошибка эксперимента), где при анализе использовались четыре различные NGS платформы (см. Приложение 2, табл. 3).

Для сравнительного анализа были отобраны шесть генов (*ASXL1*, *RAD21*, *DNMT1*, *SF3B1-1*, *SF3B1-2*, *SF3B1-3*), у которых частота встречаемости SNP составляла ~40–60 %, т. е. эти аллели находились в гетерозиготе. Гомозиготные SNP во всех точках анализа демонстрировали частоту близкую к 100 %. Проведенное сравнение свидетельствует, что снижение частоты встречаемости SNP трех выбранных генов, *ASXL1*, *DNMT1*, *SF3B1-2*, в конечной точке наблюдения достоверно в рамках выбранного критерия (рис. 1) (логика и основные этапы анализа представлены в Приложении 3). По-видимому, обнаруженное снижение связано с генетической коррекцией SNP, произошедшей в результате гомологичного обмена мутантной последовательности генома на немутантный аллель, присутствующий во фрагментах экстраклеточной ДНК препарата hDNA<sup>gr</sup>.

**Алгоритм All-FIT (Allele-Frequency-based Imputation of Tumor Purity – оценка чистоты опухоли на основе частоты аллелей).** Во втором подходе была использована биоинформационная платформа All-FIT, позволяющая методом взвешенных наименьших квадратов через итерационные шаги на основе частот аллелей вариантов (Variant Allele Frequency, VAF) SNP, обнаруженных в данных высокопроизводительного целевого клинического секвенирования, и глубины секвенирования каждого из выбранных аллелей определить в операционном образце опухоли долю опухолевых клеток и сопутствующей соматической ткани (клеток) с соответствующим доверительным интервалом (CI). С помощью смоделированных и клинических данных была продемонстрирована точность и улучшенная производительность All-FIT по сравнению



**Рис. 1.** Снижение частоты SNP анализируемых генов в конечной точке наблюдения через 27 мес. после проведенного вмешательства.

А – графики перекрытия значений суммарной процентной ошибки для значений частот встречаемости SNP гетерозиготных генов в нулевой и конечной точках наблюдения; Б – изменения частот встречаемости SNP выбранных гетерозиготных генов в нулевой и конечной точках наблюдения, значения которых в нулевой точке колеблются вокруг 50 % (три SNP аллеля). Сравниваются медианы частот с учетом суммарной процентной ошибки значений, полученных при использовании разных мультиплексных панелей. \* Отличия достоверны,  $P_v < 0.05$ , U-критерий Манна–Уитни.

с аналогичными ведущими вычислительными подходами. Программа была апробирована на конкретных клинических образцах и показала высокую предсказательную эффективность (Loh et al., 2020).

Следуя идее целевого назначения платформы, с использованием предлагаемого алгоритма можно определить соотношение доли клеток, несущих разный набор SNP, по анализу изменения частот (VAF) небольшого количества доступных для анализа SNP и глубины секвенирования, отражающей достоверность получаемых оценок частот. Снижение частоты анализируемых аллелей от установленных алгоритмом маркерных (якорных) частот будет свидетельствовать об уменьшении количества клеток, несущих обобщенный набор выбранных SNP, что полностью соответствует задачам нашего исследования.

В работе были проанализированы частоты SNP генов, относящихся к группе клонального гемопоэза, поскольку исходно было высказано предположение о наличии КГНП. Согласно полученным результатам, у пациента клонального гемопоэза не наблюдается. Тем не менее полученное ограниченное количество доступных для анализа частот (VAF) SNP (с данными по глубине секвенирования), относящихся только к генам выбранной группы, позволяет провести All-FIT анализ, который будет указывать на достоверное изменение частот встречаемости контролируемых SNP, если таковое будет обнаружено.

Гемопоэтические стволовые клетки в составе МНК крови были обработаны препаратом hDNA<sup>gr</sup>, содержащим смесь из ~100 образцов различных ДНК, включающих, как ранее сказано, всю совокупность последовательностей генома человека (100×). На основании концепции природной реконструкции генома и ее экспериментального подтверждения фрагменты ДНК, интернализированные в ГСК, стохастически и гомологично будут рекомбинировать с доступными участками гомологии геномной ДНК. Сделано предположение, что, если будет обнаружено снижение частот выявленных SNP, то это может свидетельствовать о замене части SNP, в том числе за пределами исследуемого набора SNP, на альтернативные аллели вследствие указан-

ного гомологичного обмена. Произшедшая коррекция привела к изменению соотношения VAF наблюдаемых SNP, которое, как предполагается, можно будет обнаружить с помощью расчета программой All-FIT. Существует наиболее обоснованный источник такой коррекции – это фрагменты экстраклеточной геномной дцДНК, которые захватили ГСК, находящиеся в массе МНК. Результаты проведенного сравнения представлены на рис. 2.

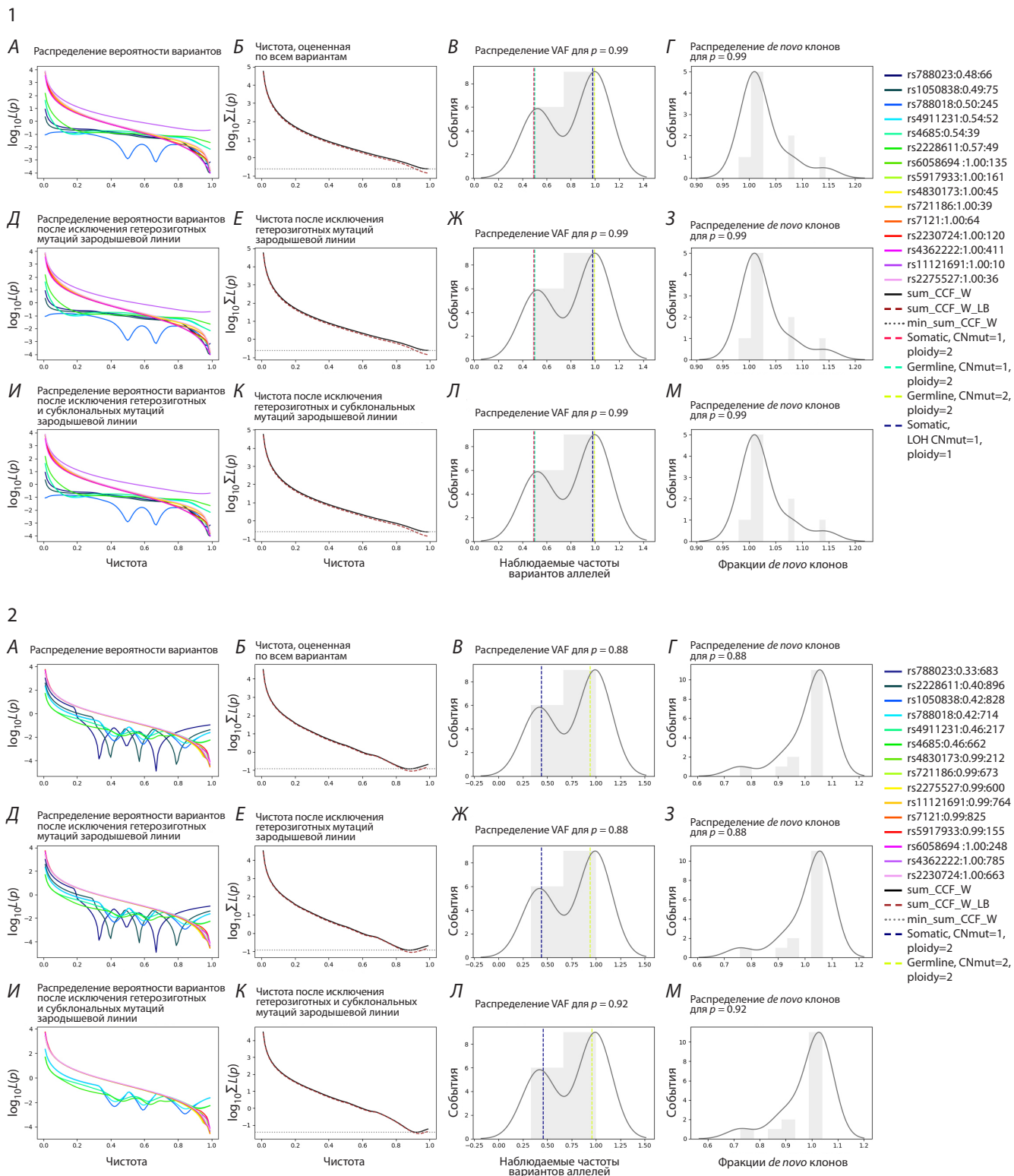
Установлено, что в нулевой точке чистота, т. е. доля клеток, несущих исходный набор SNP, составила 0.99, доверительный интервал (CI) варьировал от 92 до 99 %, что фактически означает наличие одного «клона». При этом через 27 мес. наблюдения чистота составила уже 0.88, а доверительный интервал изменялся от 84 до 95 %. Это указывает на то, что появилось около 12 % (CI = 5–16 %) клеток с другим набором аллелей SNP, причем в смеси клеток, гетерозиготных по контролируемому SNP, возникла клональная линия клеток, несущая гомозиготу без SNP. Наиболее вероятным объяснением полученных значений может быть произошедшее замещение части аллелей SNP альтернативными аллелями, находящимися в препарате hDNA<sup>gr</sup>, закрепившимися в части линий ГСК и имеющими (повышенный) регенеративный потенциал.

Полученные данные двух независимых подходов позволяют с большей уверенностью говорить о том, что провозглашенный механизм взаимодействия экстраклеточных фрагментов дцДНК и ДНК хромосом объективно существует. То есть предполагаемая концепция природной реконструкции генома имеет право на существование.

Гипотетический сценарий происходящих событий при реинфузии пациенту К. реконструированных ГСК приведен в Приложении 4.

## Обсуждение

В целом полученные данные находятся в согласии с предложенной концепцией реконструкции генома природным механизмом (Ruzanova et al., 2024, 2025; Yakubov et al., 2024). Главным вопросом всего исследования является вопрос возможности негомологичной интеграции в геном



**Рис. 2.** Представление результатов All-FIT анализа для обнаруженных вариантов генов клонального гемопоэза (Loh et al., 2020). Анализировались частоты аллелей SNP в экзонах генов клонального гемопоэза, полученные в нулевой точке (1) и в конечной точке (2) наблюдения (27 мес. после проведенной терапии).

А – вклад каждого варианта в сумму вероятностей; Б – сумма вероятностей по всем вариантам, а также кривая  $2\sigma$  (коричневая штриховая линия). Точки пересечения кривой  $2\sigma$  и линии, касательной к логарифму суммы вероятностей при ее минимуме (серая штриховая линия), указывают доверительный интервал (CI) вокруг расчетного значения чистоты  $p$ . В – распределение наблюдаемых частот аллелей. Штриховые линии представляют ожидаемые частоты аллелей включенных мутационных моделей для предполагаемого  $p$ . Г – распределение доли клонов для предполагаемого  $p$ ; Д–З – результаты после исключения нефилтрированных гетерозиготных вариантов зародышевой линии; И–М – результаты после исключения субклональных соматических вариантов. В условных обозначениях указаны мутировавшие гены и VAF каждого обнаруженного варианта.

и точности гомологичной интеграции. От ответа на этот вопрос зависит клиническая применимость концепции.

Несомненно, в ядре происходят определенные события, в результате которых возможны репаративно-рекомбинационные отношения между внехромосомными фрагментами экстраклеточной дцДНК и ДНК хромосом. Об этом свидетельствуют следующие данные.

Ранее мы показали, что при интернализации в ГСК фрагментов дцДНК возрастает количество теломерной ДНК, что может быть сопряжено как с истинной интеграцией теломерных повторов в геном, так и с активностью механизма альтернативного увеличения теломерной ДНК (Ruzanova et al., 2025). Кроме того, появляются кольцевые формы ДНК, которые состоят из замыкающихся в кольцо внехромосомных экстраклеточных фрагментов, формируют множественные ассоциаты с нитями ДНК хромосом, сохраняются до метафаз и детектируются FISH или прямым анализом распределения флуоресцентно меченого ДНК-зонда (Ruzanova et al., 2025).

Результаты настоящего исследования демонстрируют, что, по-видимому, происходит восстановление мутантных аллелей генов стволовых клеток гемопоэтической системы, что, предположительно, отражает основную идею концепции, а именно стохастическое замещение различных участков ДНК хромосом гомологиями из внехромосомных экстраклеточных фрагментов, интернализированных в ГСК. Важным обстоятельством в этом вопросе является тот факт, что на основании данных полногеномного секвенирования, выполненного в работах (Oshikhmina et al., 2026), не обнаруживается негомологичной интеграции зонда, а значит, более вероятен именно вариант гомологичного аллельного замещения.

Витальные тесты свидетельствуют, что процедура сингенной реинфузии ГСК мышей и крыс, обработанных гетерологичной человеческой ДНК (hDNA<sup>gr</sup>), не вызывает сиюминутных и отдаленных (один год) патологических последствий. Это также предполагает отсутствие незаконной интеграции в геном в генетически активных локусах хромосом экстрахромосомальной чужеродной ДНК и, как следствие, отсутствие генетических аномалий, выраженных в немедленном функциональном ответе (Ruzanova et al., 2025).

Важнейшим результатом проделанного исследования можно считать данные клинического случая с пациентом К., у которого произошла длительная стабилизация онкологического процесса. Помимо стабилизации прогрессии основного заболевания, прослеживаются явные позитивные процессы в кардиоваскулярной системе. Феномен роста новых волос свидетельствует о процессе миграции стволовых клеток и их фиксации в волосяных фолликулах. Но главным в этом клиническом случае является детекция изменений на генетическом уровне мутантных гетерозиготных аллелей герминального происхождения. ***То есть нами обнаружена соматическая коррекция в стволовых клетках крови, произошедшая естественным путем в результате захвата гемопоэтическими предшественниками экстраклеточных дцДНК фрагментов.***

Основным критическим вопросом всей технологии (в том числе для приведенного примера) был вопрос воз-

можности длительного (до 4, 9, 12 и 27 мес.) сохранения экстраклеточных фрагментов ДНК, исходно попавших в ГСК, в их потомках, с возможной детекцией этих ДНК (SNP) в клетках лейкомаксы при полноэкзомном секвенировании по прошествии времени. Мы полагаем, что такой исход, а именно длительное сохранение внехромосомной экстраклеточной ДНК в потомках кровяных клеток, которое может давать артефакт присутствия, маловероятен. Данные наших исследований свидетельствуют, что активированные препаратом дцДНК ГСК постоянно делятся, по крайней мере до 15 сут наблюдения (Ruzanova et al., 2024). Через 8 мес. клетки крови, которые потенциально могли содержать экстраклеточные фрагменты, доставшиеся им от материнской ГСК, способной захватить до 1 % от гаплоидного генома (Dolgoва et al., 2013, 2016; Potter et al., 2024), или будут элиминированы по признаку продолжительности жизни, или будут составлять исчезающе малую долю от всех клеток крови, так что детекция этих фрагментов будет невозможна по количественным соображениям. Более того, в нашем исследовании (статья находится в редакции) достоверно показано, что в клетках через ~22 дня не остается экстраклеточного ДНК материала. То есть результаты полноэкзомного секвенирования образцов МНК пациента К. через 4, 8, 12 и 27 мес. после проведенной терапии отражают реальную картину изменений в геноме и появления генетически реконструированных, обновленных клонов гемопоэтических стволовых клеток.

Интересен факт, что гомозиготные герминальные аллели генов не претерпели корректирующих изменений. Это предполагает, что они находятся под давлением отбора. Коррекции подверглись гены, на которые отбор не действует и которые находятся в гетерозиготе, при этом достоверно и значительно увеличился регенеративный потенциал терапии. Появление во внутреннем пространстве ГСК экстраклеточных фрагментов сопровождается гомологичной коррекцией и одновременно инициирует деление клеток (Potter et al., 2024; Ruzanova et al., 2024). Причем делятся предшественники как симметрично, так и несимметрично (Potter et al., 2024; Ruzanova et al., 2024). Их потомки, появившиеся в результате как симметричного, так и несимметричного деления, циркулируют в периферической крови. Можно предположить, что коррекции подверглись гены, отвечающие за регенерацию тканей, вследствие чего был восстановлен исходный регенеративный потенциал ГСК, и что именно за счет этих клеток, получивших новый «статус», произошла масштабная регенерация в организме пациента К.

## Заключение

В совокупности можно считать, что технология природной реконструкции генома с использованием терапевтической hDNA<sup>gr</sup> (патент № 2855434 от 02.02.2026) может быть использована при лечении пациентов с болезнями цивилизации и возрастных пациентов без выраженных патологий. Тем не менее требуются серьезные экспериментальные исследования всех тонкостей молекулярных и клеточных процессов, которые запускаются при взаимодействии стволовой клетки, в частности ГСК, и фрагментов экстраклеточной ДНК.

## Список литературы / References

- Брюховецкий А.С., Богачев С.С. На переднем крае борьбы с клональным гемопоэзом при болезнях цивилизации: от трансплантации костного мозга к персонализированной геноориентированной и протеом-основанной реституции костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток. *Национальная ассоциация ученых*. 2023;97-2:26-45. doi 10.31618/NAS.2413-5291.2023.2.97.845  
[Bryukhovetskiy A.S., Bogachev S.S. At the front edge of the fight against clonal hematopoiesis in diseases of civilization: from bone marrow transplantation to personalized gene-oriented and proteome-based restitution of bone marrow and hemopoietic stem cells. *National Association of Scientists*. 2023;97(2):26-45. doi 10.31618/nas.2413-5291.2023.2.97.845 (in Russian)]
- Брюховецкий А.С., Шурдов М.А. Старение и антиэйджинг: медико-биологические подходы к увеличению продолжительности жизни и активному долголетию. *Ridero*, 2024  
[Bryukhovetskiy A.S., Shurdov M.A. Aging and Anti-aging: Biomedical Approaches to Increasing Life Expectancy and Active Longevity. *Ridero*, 2024 (in Russian)]
- Пальцев А.В., Овечкин А.В., Захарова Н.Ф., Ровина А.К., Леплина О.Ю., Шевела Е.Я., Останин А.А., Черных Е.Р. Цитокины в лечении генерализованной хирургической инфекции. *Анестезиология и реаниматология*. 2000;2:27-30  
[Pal'tsev A., Ovechkin A., Zakharova N., Rovina A., Leplina O., Shevela E., Ostanin A., Chernykh E. Cytokines in the treatment of a generalized surgical infection. *Anesteziol Reanimatol*. 2000;2:27-30 (in Russian)]
- Петинати Н.А., Дризе Н.И. Клональное кроветворение и его роль в развитии гематологических заболеваний. *Гематология и трансфузиология*. 2021;66(4):580-592. doi 10.35754/0234-5730-2021-66-4-580-592  
[Petinati N.A., Drize N.J. Clonal hematopoiesis and its role in the development of hematological diseases. *Gematologiya i Transfuziologiya = Russ J Hematol Transfusiol*. 2021;66(4):580-592. doi 10.35754/0234-5730-2021-66-4-580-592 (in Russian)]
- Шамаль Н.В. Соматические мутации в природе. Институт радиобиологии НАН Беларуси, 2017. URL: <https://www.irb.basnet.by/ru/somaticheskie-mutacii-v-prirode/>  
[Shamal N. Somatic Mutations in Nature [www document]. 2017. Available at: <https://www.irb.basnet.by/ru/somaticheskie-mutacii-v-prirode/> (in Russian)]
- Ainciburu M., Ezponda T., Berastegui N., Alfonso-Pierola A., Vilas-Zornoza A., Martin-Uriz P.S., Alignani D., ... Diez-Campelo M., Valcarcel D., Hernaez M., Romero J.P., Prosper F. Uncovering perturbations in human hematopoiesis associated with healthy aging and myeloid malignancies at single-cell resolution. *eLife*. 2023;12:e79363. doi 10.7554/eLife.79363
- Andreu G., Leon A., Heshmati F., Tod M., Menkes C.J., Baudelot J., Laroche L. Extracorporeal photochemotherapy: evaluation of two techniques and use in connective tissue disorders. *Transfus Sci*. 1994;15(4):443-454. doi 10.1016/0955-3886(94)90178-3
- Anker P., Mulcahy H., Chen X.Q., Stroun M. Detection of circulating tumour DNA in the blood (plasma/serum) of cancer patients. *Cancer Metastasis Rev*. 1999;18(1):65-73. doi 10.1023/A:1006260319913
- Beer L., Mildner M., Gyöngyösi M., Ankersmit H.J. Peripheral blood mononuclear cell secretome for tissue repair. *Apoptosis*. 2016;21(12):1336-1353. doi 10.1007/S10495-016-1292-8
- Belova V., Vasiliadis I., Repinskaia Z., Samitova A., Shmitko A., Poni-karovskaya N., Suchalko O., Cheranev V., Shatalov P., Shegai P., Kaprin A., Rebrikov D., Korostin D. Comparative evaluation of four exome enrichment solutions in 2024: Agilent, Roche, Vazyme and Nanodigmbio. *BMC Genomics*. 2025;26(1):76. doi 10.1186/S12864-024-11196-Z
- Biermann M., Reya T. Hematopoietic stem cells and regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2022;14(8):a040774. doi 10.1101/CSHPERSPECT.A040774
- Bonnet D. Biology of human bone marrow stem cells. *Clin Exp Med*. 2003;3(3):140-149. doi 10.1007/S10238-003-0017-9
- Brown C., McKee C., Bakshi S., Walker K., Hakman E., Halassy S., Svinarich D., Dodds R., Govind C.K., Chaudhry G.R. Mesenchymal stem cells: cell therapy and regeneration potential. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019;13(9):1738-1755. doi 10.1002/TERM.2914
- Cagan A., Baez-Ortega A., Brzozowska N., Abascal F., Coorens T.H.H., Sanders M.A., Lawson A.R.J., ... Gerstung M., Campbell P.J., Murchison E.P., Stratton M.R., Martincorena I. Somatic mutation rates scale with lifespan across mammals. *Nature*. 2022;604(7906):517-524. doi 10.1038/s41586-022-04618-z
- Carrelha J., Meng Y., Kettle L.M., Luis T.C., Norfo R., Alcolea V., Boukarabila H., ... Lord A.M., Sanjuan-Pla A., Woll P.S., Nerlov C., Jacobsen S.E.W. Hierarchically related lineage-restricted fates of multipotent haematopoietic stem cells. *Nature*. 2018;554(7690):106-111. doi 10.1038/NATURE25455
- D'Adda Di Fagnana F., Reaper P.M., Clay-Farrace L., Fiegler H., Carr P., Von Zglinicki T., Saretzki G., Carter N.P., Jackson S.P. A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature*. 2003;426(6963):194-198. doi 10.1038/NATURE02118
- Dolgova E.V., Efremov Y.R., Orishchenko K.E., Andrushkevich O.M., Alyamkina E.A., Proskurina A.S., Bayborodin S.I., ... Omigov V.V., Minkevich A.M., Rogachev V.A., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Delivery and processing of exogenous double-stranded DNA in mouse CD34+ hematopoietic progenitor cells and their cell cycle changes upon combined treatment with cyclophosphamide and double-stranded DNA. *Gene*. 2013;528(2):74-83. doi 10.1016/j.gene.2013.06.058
- Dolgova E.V., Alyamkina E.A., Efremov Y.R., Nikolin V.P., Popova N.A., Tyrinova T.V., Kozel A.V., ... Mayorov V.I., Shurdov M.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Bogachev S.S. Identification of cancer stem cells and a strategy for their elimination. *Cancer Biol Ther*. 2014;15(10):1378-1394. doi 10.4161/cbt.29854
- Dolgova E.V., Potter E.A., Proskurina A.S., Minkevich A.M., Chernykh E.R., Ostanin A.A., Efremov Y.R., Bayborodin S.I., Nikolin V.P., Popova N.A., Kolchanov N.A., Bogachev S.S. Properties of internalization factors contributing to the uptake of extracellular DNA into tumor-initiating stem cells of mouse Krebs-2 cell line. *Stem Cell Res Ther*. 2016;7(1):76. doi 10.1186/s13287-016-0338-8
- Doulatov S., Notta F., Laurenti E., Dick J.E. Hematopoiesis: a human perspective. *Cell Stem Cell*. 2012;10(2):120-136. doi 10.1016/j.stem.2012.01.006
- Drize N., Keller J., Chertko J. Local clonal analysis of the hematopoietic system shows that multiple small short-living clones maintain life-long hematopoiesis in reconstituted mice. *Blood*. 1996;88(8):2927-2938. doi 10.1182/blood.V88.8.2927.bloodjournal8882927
- Dummer R., Becker J.C., Eilles C., Schafer E., Borner W., Burg G. T cells migrate to tumour sites after extracorporeal interleukin 2 stimulation and reinfusion in a patient with metastatic melanoma. *Br J Dermatol*. 1993;128(4):399-403. doi 10.1111/J.1365-2133.1993.TB00198.X
- Duncavage E.J., Tandon B. The utility of next-generation sequencing in diagnosis and monitoring of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(S1):115-121. doi 10.1111/IJLH.12361
- English K. Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. *Immunol Cell Biol*. 2013;91(1):19-26. doi 10.1038/ICB.2012.56
- Fabre M.A., de Almeida J.G., Fiorillo E., Mitchell E., Damaskou A., Rak J., Orrù V., ... Campbell P.J., McKinney E.F., Cucca F., Gerstung M., Vassiliou G.S. The longitudinal dynamics and natural history of clonal haematopoiesis. *Nature*. 2022;606(7913):335-342. doi 10.1038/S41586-022-04785-Z
- Fan X.L., Zhang Y., Li X., Fu Q.L. Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy. *Cell Mol Life Sci*. 2020;77(14):2771-2794. doi 10.1007/S00018-020-03454-6
- Fast E.M., Sporrij A., Manning M., Rocha E.L., Yang S., Zhou Y., Guo J., Baryawno N., Barkas N., Scadden D., Camargo F., Zon L.I. External signals regulate continuous transcriptional states in hematopoietic stem cells. *eLife*. 2021;10:e66512. doi 10.7554/eLife.66512
- García-Olmo D.C., Picazo M.G., García-Olmo D. Transformation of non-tumor host cells during tumor progression: theories and evidence. *Expert Opin Biol Ther*. 2012;12(Suppl.1):S199-207. doi 10.1517/14712598.2012.681370

- Geiger H., De Haan G., Florian M.C. The ageing haematopoietic stem cell compartment. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(5):376-389. doi 10.1038/NRI3433
- Genovese G., Kähler A.K., Handsaker R.E., Lindberg J., Rose S.A., Bakhoum S.F., Chambert K., ... Sullivan P.F., Sklar P., Grönberg H., Hultman C.M., McCarroll S.A. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med.* 2014;371(26):2477-2487. doi 10.1056/NEJMoa1409405
- Goyal S., Zandstra P.W. Stem cells: chasing blood. *Nature.* 2015; 518(7540):488-490. doi 10.1038/nature14203
- Greinix H., Volc-Platzer B., Kalhs P., Fischer G., Rosenmayr A., Keil F., Hönigsmann H., Knobler R. Extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a pilot study. *Blood.* 2000;96(7):2426-2431. doi 10.1182/blood.V96.7.2426
- Gugliandolo A., Bramanti P., Mazzon E. Mesenchymal stem cells: a potential therapeutic approach for amyotrophic lateral sclerosis? *Stem Cells Int.* 2019;2019:3675627. doi 10.1155/2019/3675627
- Gurusamy N., Alsayari A., Rajasingh S., Rajasingh J. Adult stem cells for regenerative therapy. In: Teplow D.B. (Ed.) *Progress in Molecular Biology and Translational Science.* Vol. 160. Academic Press, 2018;160:1-22. doi 10.1016/bs.pmbts.2018.07.009
- Heuser M., Thol F., Ganser A. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113(18):317-322. doi 10.3238/arztebl.2016.0317
- Heyde A., Rohde D., McAlpine C.S., Zhang S., Hoyer F.F., Gerold J.M., Cheek D., ... Craig M., Swirski F.K., Nahrendorf M., Nowak M.A., Naxerova K. Increased stem cell proliferation in atherosclerosis accelerates clonal hematopoiesis. *Cell.* 2021;184(5):1348-1361.e22. doi 10.1016/j.cell.2021.01.049
- Islam M.N., Das S.R., Emin M.T., Wei M., Sun L., Westphalen K., Rowlands D.J., Quadri S.K., Bhattacharya S., Bhattacharya J. Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury. *Nat Med.* 2012;18(5):759-765. doi 10.1038/NM.2736
- Jackson M.V., Morrison T.J., Doherty D.F., McAuley D.F., Matthay M.A., Kissenpfennig A., O’Kane C.M., Krasnodembskaya A.D. Mitochondrial transfer via tunneling nanotubes is an important mechanism by which mesenchymal stem cells enhance macrophage phagocytosis in the in vitro and in vivo models of ARDS. *Stem Cells.* 2016;34(8):2210-2223. doi 10.1002/stem.2372
- Jagannathan-Bogdan M., Zon L.I. Hematopoiesis. *Development.* 2013; 140(12):2463-2467. doi 10.1242/dev.083147
- Jahr S., Hentze H., Englisch S., Hardt D., Fackelmayer F.O., Hesch R.D., Knippers R. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res.* 2001;61(4):1659-1665
- Jaiswal S., Fontanillas P., Flannick J., Manning A., Grauman P.V., Mar B.G., Lindsley R.C., ... Atzmon G., Wilson J.G., Neuberger D., Altshuler D., Ebert B.L. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med.* 2014;371(26):2488-2498. doi 10.1056/NEJMoa1408617
- Joo L.J., Bradley C.C., Lin S.H., Scheet P.A., Nead K.T. Causes of clonal hematopoiesis: a review. *Curr Oncol Rep.* 2023;25(3):211-220. doi 10.1007/S11912-023-01362-Z
- Laktionov P.P., Tamkovich S.N., Rykova E.Y., Bryzgunova O.E., Starikov A.V., Kuznetsova N.P., Sumarokov S.V., Kolomiets S.A., Sevostianova N.V., Vlassov V.V. Extracellular circulating nucleic acids in human plasma in health and disease. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2004;23(6-7):879-883. doi 10.1081/NCN-200026035
- Langston L.D., Symington L.S. Opposing roles for DNA structure-specific proteins Rad1, Msh2, Msh3, and Sgs1 in yeast gene targeting. *EMBO J.* 2005;24(12):2214-2223. doi 10.1038/sj.emboj.7600698
- Lee J.Y., Hong S.H. Hematopoietic stem cells and their roles in tissue regeneration. *Int J Stem Cells.* 2020;13(1):1-12. doi 10.15283/IJSC19127
- Leung W.Y., Malkova A., Haber J.E. Gene targeting by linear duplex DNA frequently occurs by assimilation of a single strand that is subject to preferential mismatch correction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94(13):6851-6856. doi 10.1073/pnas.94.13.6851
- Li L., Zhang S., Ge C., Ji L., Lv Y., Zhao C., Xu L., Zhang J., Song C., Chen J., Wei W., Fang Y., Yuan N., Wang J. HSCs transdifferentiate primarily to pneumocytes in radiation-induced lung damage repair. *Aging (Albany NY).* 2021;13(6):8335-8354. doi 10.18632/aging.202644
- Li N., Zhang L., Li H., Fang B. Human CD34+ cells mobilized by granulocyte colony-stimulating factor ameliorate radiation-induced liver damage in mice. *Stem Cell Res Ther.* 2010;1(3):22. doi 10.1186/SCRT22
- Li X., Zhang Y., Yeung S.C., Liang Y., Liang X., Ding Y., Ip M.S.M., Tse H.F., Mak J.C.W., Lian Q. Mitochondrial transfer of induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells to airway epithelial cells attenuates cigarette smoke-induced damage. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;51(3):455-465. doi 10.1165/rcmb.2013-0529OC
- Liao F.L., Tan L., Liu H., Wang J.J., Ma X.T., Zhao B., Chen Y., Bihl J., Yang Y., Chen R.L. Hematopoietic stem cell-derived exosomes promote hematopoietic differentiation of mouse embryonic stem cells in vitro via inhibiting the miR126/Notch1 pathway. *Acta Pharmacol Sin.* 2018;39(4):552-560. doi 10.1038/aps.2017.130
- Likhacheva A.S., Rogachev V.A., Nikolin V.P., Popova N.A., Shilov A.G., Sebeleva T.E., Strunkin D.N., Chernykh E.R., Gel’fagat E.L., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Involvement of exogenous DNA in the molecular processes in somatic cell. *Informatsionny Vestnik VOGiS = The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeders.* 2008;12(3):426-473 (in Russian)
- Loh J.W., Guccione C., Di Clemente F., Riedlinger G., Ganesan S., Khiabani H. All-FIT: allele-frequency-based imputation of tumor purity from high-depth sequencing data. *Bioinformatics.* 2020; 36(7):2173-2180. doi 10.1093/bioinformatics/btz865
- Maacha S., Sidahmed H., Jacob S., Gentilcore G., Calzone R., Grivel J.C., Cugno C. Paracrine mechanisms of mesenchymal stromal cells in angiogenesis. *Stem Cells Int.* 2020;2020:4356359. doi 10.1155/2020/4356359
- Maizels N., Davis L. Initiation of homologous recombination at DNA nicks. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(14):6962-6973. doi 10.1093/nar/gky588
- Mendelenko M.M., Kravtsov S.A., Rodionov E.P. Clinical effectiveness of immunotherapy with extracorporeally activated blood mononuclear cells for complex treatment of sepsis. *Russ J Immunol.* 1997; 2(3-4):191-198
- Mendes Filho D., Ribeiro P.D.C., Oliveira L.F., De Paula D.R.M., Capuano V., De Assunção T.S.F., Da Silva V.J.D. Therapy with mesenchymal stem cells in Parkinson disease. *Neurologist.* 2018;23(4): 141-147. doi 10.1097/NRL.0000000000001188
- Müller A.M., Huppertz S., Henschler R. Hematopoietic stem cells in regenerative medicine: astray or on the path? *Transfus Med Hemother.* 2016;43(4):247-254. doi 10.1159/000447748
- NanOnco Plus Panel v3.0 n.d. <https://nanodigmbo.com/Solid-Tumor/819.html>
- Oshikhmina S.G., Ruzanova V.S., Ritter G.S., Dolgova E.V., Kirikov S.S., Levites E.V., Efremov Y.R., ... Ostanin A.A., Chernykh E.R., Kolchanov N.A., Proskurina A.S., Bogachev S.S. Concept of natural genome reconstruction. Part 4. Integration of extracellular double-stranded DNA fragments into the genome of hematopoietic stem cells and the formation of extrachromosomal intermediates. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(2):163-180. doi 10.18699/vjgb-26-18
- Petrova D.D., Dolgova E.V., Proskurina A.S., Ritter G.S., Ruzanova V.S., Efremov Y.R., Potter E.A., Kirikov S.S., Levites E.V., Taranov O.S., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Kolchanov N.A., Bogachev S.S. The new general biological property of stem-like tumor cells. Part II: Surface molecules, which belongs to distinctive groups with particular functions, form a unique pattern characteristic of a certain type of tumor stem-like cells. *Int J Mol Sci.* 2022;23(24): 15800. doi 10.3390/IJMS232415800/S1
- Phillips R. Hematopoietic stem cells: concepts, assays, and controversies. *Semin Immunol.* 1991;3(6):337-347
- Pinho S., Frenette P.S. Haematopoietic stem cell activity and interactions with the niche. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20(5):303-320. doi 10.1038/s41580-019-0103-9

- Potter E.A., Dolgova E.V., Proskurina A.S., Ruzanova V.S., Efremov Y.R., Kirikovich S.S., Oshikhmina S.G., ... Grivtsova L.U., Kolchanov N.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Bogachev S.S. Stimulation of mouse hematopoietic stem cells by angiogenin and DNA preparations. *Braz J Med Biol Res.* 2024;57:e13072. doi 10.1590/1414-431X2024e13072
- Ritter G.S., Dolgova E.V., Petrova D.D., Efremov Y.R., Proskurina A.S., Potter E.A., Ruzanova V.S., Kirikovich S.S., Levites E.V., Taranov O.S., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Kolchanov N.A., Bogachev S.S. The new general biological property of stem-like tumor cells. Part I. Peculiarities of the process of the double-stranded DNA fragments internalization into stem-like tumor cells. *Front Genet.* 2022;13:954395. doi 10.3389/fgene.2022.954395
- Ruzanova V.S., Oshikhmina S.G., Proskurina A.S., Ritter G.S., Kirikovich S.S., Levites E.V., Efremov Y.R., ... Ostanin A.A., Chernykh E.R., Kolchanov N.A., Dolgova E.V., Bogachev S.S. A concept of natural genome reconstruction. Part 2. Effect of extracellular double-stranded DNA fragments on hematopoietic stem cells. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed.* 2024;28(8):993-1007. doi 10.18699/vjgb-24-106
- Ruzanova V.S., Oshikhmina S.G., Ritter G.S., Dolgova E.V., Kirikovich S.S., Levites E.V., Efremov Y.R., ... Ostanin A.A., Chernykh E.R., Kolchanov N.A., Proskurina A.S., Bogachev S.S. Concept of natural genome reconstruction. Part 3. Analysis of changes in the amount of telomeric DNA in colony cells as a new amplified feature that arose during the processing of hematopoietic bone marrow stem cells. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(4):479-495. doi 10.18699/vjgb-25-52
- Schema for Exome Probesets – Exome Capture Probesets and Targeted Region [www document]. URL [https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTables?db=hg38&hgta\\_group=map&hgta\\_track=exomeProbesets&hgta\\_table=KAPA\\_HyperExome\\_hg38\\_capture\\_targets&hgta\\_doSchema=describe+table+schema](https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTables?db=hg38&hgta_group=map&hgta_track=exomeProbesets&hgta_table=KAPA_HyperExome_hg38_capture_targets&hgta_doSchema=describe+table+schema) (Accessed 5.27.25)
- Schwarting S., Litwak S., Hao W., Bähr M., Weise J., Neumann H. Hematopoietic stem cells reduce postischemic inflammation and ameliorate ischemic brain injury. *Stroke.* 2008;39(10):2867-2875. doi 10.1161/STROKEAHA.108.513978
- Shlush L.I. Age-related clonal hematopoiesis. *Blood.* 2018;131(5):496-504. doi 10.1182/blood-2017-07-746453
- Siminovitch L., McCulloch E.A., Till J.E. The distribution of colony-forming cells among spleen colonies. *J Cell Comp Physiol.* 1963;62:327-336. doi 10.1002/jcp.1030620313
- Sleptsov A.A., Nazarenko M.S., Puzryev V.P. Common in atherogenesis and carcinogenesis: clonal hematopoiesis. *Russ J Cardiol.* 2023;28(10):57-65. doi 10.15829/1560-4071-2023-5511
- Spees J.L., Lee R.H., Gregory C.A. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7(1):125. doi 10.1186/S13287-016-0363-7
- Steensma D.P. Clinical implications of clonal hematopoiesis. *Mayo Clin Proc.* 2018;93(8):1122-1130. doi 10.1016/j.mayocp.2018.04.002
- Symington L.S. End resection at double-strand breaks: mechanism and regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6(8):a016436. doi 10.1101/cshperspect.a016436
- Vahidy F.S., Rahbar M.H., Zhu H., Rowan P.J., Bambhroliya A.B., Savitz S.I. Systematic review and meta-analysis of bone marrow-derived mononuclear cells in animal models of ischemic stroke. *Stroke.* 2016;47(6):1632-1639. doi 10.1161/STROKEAHA.116.012701
- Vatolin S.Y., Okhapkina E.V., Matveeva N.M., Shilov A.G., Baiborodin S.I., Philimonenko V.V., Zhdanova N.S., Serov O.L. Scheduled perturbation in DNA during in vitro differentiation of mouse embryonic-derived cells. *Mol Reprod Dev.* 1997;47(1):1-10. doi 10.1002/(SICI)1098-2795(199705)47:1<1::AID-MRD1>3.0.CO;2-R
- Velten L., Haas S.F., Raffel S., Blaszkiewicz S., Islam S., Hennig B.P., Hirche C., ... Ho A.D., Huber W., Trumpp A., Essers M.A.G., Steinmetz L.M. Human haematopoietic stem cell lineage commitment is a continuous process. *Nat Cell Biol.* 2017;19(4):271-281. doi 10.1038/ncb3493
- Vriend L.E.M., Krawczyk P.M. Nick-initiated homologous recombination: protecting the genome, one strand at a time. *DNA Repair (Amst).* 2017;50:1-13. doi 10.1016/j.dnarep.2016.12.005
- Wang X., Ma S., Yang B., Huang T., Meng N., Xu L., Xing Q., ... Zhang T., Wu J., Yang G.L., Guan F., Wang J. Resveratrol promotes hUC-MSCs engraftment and neural repair in a mouse model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res.* 2018;339:297-304. doi 10.1016/j.bbr.2017.10.032
- Watcham S., Kucinski I., Gottgens B. New insights into hematopoietic differentiation landscapes from single-cell RNA sequencing. *Blood.* 2019;133(13):1415-1426. doi 10.1182/blood-2018-08-835355
- Waterman R.S., Tomchuck S.L., Henkle S.L., Betancourt A.M. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype. *PLoS One.* 2010;5(4):e10088. doi 10.1371/journal.pone.0010088
- Watson C.J., Papula A.L., Poon G.Y.P., Wong W.H., Young A.L., Druley T.E., Fisher D.S., Blundell J.R. The evolutionary dynamics and fitness landscape of clonal hematopoiesis. *Science.* 2020;367(6485):1449-1454. doi 10.1126/science.aay9333
- Weiskopf D., Weinberger B., Grubeck-Loebenstein B. The aging of the immune system. *Transpl Int.* 2009;22(11):1041-1050. doi 10.1111/j.1432-2277.2009.00927.x
- Wright K.T., El Masri W., Osman A., Chowdhury J., Johnson W.E.B. Concise review: bone marrow for the treatment of spinal cord injury: mechanisms and clinical applications. *Stem Cells.* 2011;29(2):169-178. doi 10.1002/stem.570
- Xu S.Y. Sequence-specific DNA nicking endonucleases. *Biomol Concepts.* 2015;6(4):253-267. doi 10.1515/bmc-2015-0016
- Yakubov L.A., Rogachev V.A., Likhacheva A.C., Bogachev S.S., Sebeleva T.E., Shilov A.G., Baiborodin S.I., Petrova N.A., Mechetina L.V., Shurdov M.A., Wickstrom E. Natural human gene correction by small extracellular genomic DNA fragments. *Cell Cycle.* 2007;6(18):2293-2301. doi 10.4161/cc.6.18.4729
- Yakubov L.A., Taranov O.S., Sidorov S.V., Nikonov S.D., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Kolchanov N.A., Bogachev S.S. The concept of natural genome reconstruction. Part I. Basic provisions of the "natural genome reconstruction" concept. Changing the genome of hematopoietic stem cells using several natural cellular mechanisms that are inherent in the hematopoietic cell and determine its biological status as "the source of the body's reparative potential". *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed.* 2024;28(7):696-705. doi 10.18699/vjgb-24-78
- Yin C., Heit B. Cellular responses to the efferocytosis of apoptotic cells. *Front Immunol.* 2021;12:631714. doi 10.3389/fimmu.2021.631714
- Yuan N., Wei W., Ji L., Qian J., Jin Z., Liu H., Xu L., ... He Y., Wang M., Tang L., Fang Y., Wang J. Young donor hematopoietic stem cells revitalize aged or damaged bone marrow niche by transdifferentiating into functional niche cells. *Aging Cell.* 2023;22(8):e13889. doi 10.1111/acel.13889
- Yunir E., Kurniawan F., Rezaprasga E., Wijaya I.P., Suroyo I., Matondang S., Irawan C., Soewondo P. Autologous bone-marrow vs. peripheral blood mononuclear cells therapy for peripheral artery disease in diabetic patients. *Int J Stem Cells.* 2021;14(1):21-32. doi 10.15283/ijsc20088
- Zhang M., Huang B. The multi-differentiation potential of peripheral blood mononuclear cells. *Stem Cell Res Ther.* 2012;3(6):48. doi 10.1186/scrt139
- Zilio N., Ulrich H.D. Exploring the SSBreakome: genome-wide mapping of DNA single-strand breaks by next-generation sequencing. *FEBS J.* 2021;288(13):3948-3961. doi 10.1111/FEBS.15568

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

Поступила в редакцию 05.07.2025. После доработки 14.07.2025. Принята к публикации 12.12.2025.