Дата публикации: 01.09.2022
DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_03_9
УДК 575.191-001.6

Publication date: 01.09.2022
DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_03_9
УДК 575.191-001.6

МЕТОДОЛОГИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ГЕНЕТИЧЕСКИХ БИОМОДЕЛЯХ

В.В. Козлова, В.Ф. Репс, Л.А. Пигунова
Пятигорский научно-исследовательский институт курортологии – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» в г. Пятигорске, Россия

Аннотация. В статье проведены классификации биомоделей, пути получения линейных животных, критерии включения в исследование модельных организмов, а также проведен анализ литературных источников поисковых и патентных исследований для формирования методических подходов в моделировании генно-модифицированных патологий. Проведен анализ о роли фармакогенетики, полиморфизмов генов в развитии персонифицированной медицины.

Ключевые слова: биологические модели генетических нарушений, чистота линий лабораторных животных, полиморфизм генов, геномная медицина, точная медицина, персонифицированная медицина, генетические штаммы лабораторных крыс.

METHOD OF EXPERIMENTAL STUDIES ON GENETIC BIOMODELS

V.V. Kozlova, V.F. Reps, L.A. Pigunova
Pyatigorsk Research Institute of Balneology – Branch of the Federal State Budgetary Institution “North Caucasian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency” in Pyatigorsk, Russia

Annotation. We have carried out classifications of biomodels, ways of obtaining linear animals, criteria for inclusion of model organisms in the study, and analyzed the literature sources of search and patent studies to form methodological approaches in modeling genetically modified pathologies. The analysis of the role of pharmacogenetics, gene polymorphisms in the development of personalized medicine was also conducted.

Keywords: biological models of genetic disorders, genetic purity of laboratory animals, gene polymorphism, genomic medicine, precision medicine, personalized medicine, genetic laboratory rat strains.

Введение. Проблема моделирования генно-модифицированных патологий и биотестирование развивающихся генетических нарушений является актуальной для проведения доклинических испытаний современных фармакологических и других методов коррекции коморбидных состояний. Речь идет о разработке ряда методических подходов в изучении возможностей получения достоверного и устойчивого результата, позволяющих наиболее полно охарактеризовать намеченную генетическую аномалию. Каждый из подходов в решении этой проблемы является дополняющим к остальным, и только в совокупности эти направления позволяют достичь желаемого результата.

Достижение надежных и воспроизводимых результатов медико-биологического эксперимента возможно лишь при соблюдении стандартности всех его слагаемых и условий проведения, а также всех правил содержания лабораторных животных. Необходимо отметить, что в системе медико-биологического эксперимента состояние лабораторных животных зависит от воздействия многочисленных экзогенных и эндогенных факторов, влияние которых далеко не всегда представляется возможным определить и зарегистрировать, что в

ходе проведения экспериментальных исследований устанавливает состояние изучаемого живого объекта как наиболее уязвимое.

Одними из таких воздействий являются факторы инфекционной и инвазионной природы, в ходе влияния которых даже воздействие различных патогенных представителей вирусной и бактериальной флоры не всегда показывают клинически явную картину заболевания [1].

Цель исследования заключается в анализе методических подходов генетически-модифицированных патологий в эксперименте.

Методы и организация исследования. Проведен анализ научных публикаций по данным электронных баз PubMed, Web of Science, eLibrary с учетом критериев генномодифицированных патологий, результатов биотестирования развивающихся генетических нарушений и возможности их моделирования в эксперименте. Условием поиска были предусмотрены фильтры электронных публикаций, которые включали полный текст, связанные данные, мета-анализ, систематические обзоры.

Использованы следующие ключевые слова для идентификации публикаций на русском и английском языках: биологические модели генетических нарушений, чистота линий лабораторных животных, полиморфизм генов, геномная медицина (genomic medicine), точная медицина (precision medicine), персонифицированная медицина (personalized medicine), генетические штаммы лабораторных крыс (genetic laboratory rat strains).

Результаты исследования и их обсуждение. Создание и стандартизация биологических моделей различных патологических процессов весьма перспективное направление современной науки, являющееся основой для проведения биомедицинских исследований. При этом следует отметить, как показывает многолетний опыт экспериментальных исследований, биомодель является самым слабым звеном в цепи медико-биологических исследований. Среди факторов, влияющих на качество биомоделирования, можно отметить как влияние факторов окружающей среды (температура в помещении, освещенность, подстилочный материал), так и поступающие в организм питательные вещества (стандартизированный корм для лабораторных животных), зараженность патогенной и условно-патогенной микрофлорой [2].

Детальный анализ литературных источников, посвященных биомоделированию, указывает на имеющийся значительный пласт работ в этом направлении, позволяющий на сегодняшний день структурировать классификацию биомоделей [3, 4, 5, 6, 7].

В результате сложившейся классификации биомодели условно разделяют на:

1. Биомодели первого порядка – “first order” (животные, т.е. классические биологические модели, реакции которых на действие веществ и факторов во многом подобны их эффектам у человека);

2. Биомодели второго порядка или альтернативные (различные гидробиоты, бактерии, культуры клеток, ферменты и др.);

3. Биомодели третьего порядка, представляют собой математические модели, описывающие биологические процессы;

4. Модели четвертого и более высоких порядков используют для описания взаимодействия неспаренных электронов, квантово-химических и волновых процессов, синглетных и триплетных отношений и т.п.

Как уже ранее отмечалось, основными направлениями использования животных для биомоделирования являются:

- поисковые научные исследования – изучение влияния различных факторов (в том числе лекарственных препаратов) на отдельные метаболические звенья при различных фазах патогенеза социально-значимых заболеваний;

- доклинические исследования (ДКИ) лекарственных средств (ЛС) – получение научными методами оценок доказательств эффективности и безопасности ЛС на основе химических, физических,

биологических, микробиологических, фармакологических и токсикологических экспериментов [5].

Согласно требованиям отбора модельных организмов для лабораторных исследований по правилам надлежащей лабораторной практики (GLP – Good laboratory practice), определяются следующие основные критерии:

- животные легко растут в лабораторных условиях;
- быстро размножаются;
- доступны, что позволяет легко собирать коллекции мутантов с характерными свойствами;
- позволяют идентифицировать геном.

Стандартизация лабораторных животных включает в себя следующую классификацию лабораторных животных:

- категория 1: конвенциональные животные, т.е. содержащиеся в открытой системе;
- категория 2: улучшенные конвенциональные животные, содержащиеся в барьерной системе неполного типа. Исходными животными этой категории могут быть только животные более высокого класса качества (Specific Pathogen Free – SPF);
- категория 3: SPF-животные, содержащиеся в строгой барьерной системе;
- категории 4 и 5: гнотобиоты или безмикробные животные, содержащиеся в изоляторах.

К основным задачам современной биомедицины относятся профилактика и лечение различных заболеваний человека. Незаменимыми помощниками ученых в их решении являются лабораторные животные, в первую очередь – грызуны. Применять мышей и крыс в научных исследованиях стали относительно недавно, но к настоящему моменту они самые востребованные объекты для систематических исследований [2, 6].

Для решения конкретных задач было выведено большое количество линий и сублиний лабораторных мышей и крыс. Так, например, были получены крысы со спонтанной гипертонией (линия SHR), крысы-эпилептики, отличающиеся повышенной возбудимостью нервной системы и слабой активностью тормозных нейронов, несколько линий мышей, у которых развивается ожирение и/или диабет (линии NZO, PBB, KK, AY) и т.п.

Существует несколько путей получения определенных линий лабораторных животных:

1. Аутбридинг. Аутбридинг – метод разведения животных посредством скрещивания неродственных организмов, в том числе и принадлежащих к разным линиям/породам и даже видам. Потомков такого типа скрещивания называют гибридами, они превосходят по ряду признаков обе родительские формы – это явление носит название гибридной мощности или гетерозиса. Основным следствием аутбридинга является скрытие рецессивных признаков за счет перехода их в гетерозиготное состояние. Примеры использования аутбредных линий крыс Wistar: токсикология, фармакология, онкология. Использование аутбредных линий животных позволяет максимально унифицировать научные исследования, поскольку для проведения большинства биомедицинских и доклинических исследований может быть использована одна и та же линия.

2. Инбридинг. Исследования с использованием аутбредных линий продолжались вплоть до 1930-х годов, когда стало понятно, что данные линии животных не универсальны для всех экспериментов, так как при постановке опыта с использованием биологической тест-системы важно, чтобы животные были генетически однородными. В связи с этим ученые прибегают к инбридингу – близкородственному скрещиванию. Инбредные животные гомозиготны и генетически однородны, что обеспечивает получение полноценных воспроизводимых результатов и возможность их повторения в любой лаборатории. Генетическая однородность позволяет расходовать меньшее число

животных для получения доказательных результатов. В инбредных линиях генетическая однородность, или гомозиготность, животных сохраняется постоянным спариванием родных братьев и сестер в племенном ядре линии.

3. Трансгенные животные. Трансгенные формы несут сегмент чужой ДНК, который введен в геном путем гомологичной рекомбинации, вставкой инфекционным агентом – ретровирусным вектором или негомологичной вставкой (микроинъекцией в пронуклеус).

4. Нокаутные животные. Секвенирование генома мыши в 2002 г. расширило возможности исследователей. Манипуляции с генами позволяют получить «нокаутных» животных. На моделях трансгенных и «нокаутных» животных было показано, что развитие опухоли может быть результатом мутации в генах, играющих ключевую роль в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток. Нокаутные формы получают микроинъекцией генетически измененных эмбриональных стволовых клеток в бластоцисту хозяина. Разрушение, замещение или удвоение гена в стволовых клетках производят путем гомологичной рекомбинации между экзогенной ДНК и эндогенным геном (например, блокированием работы целевого гена встройкой гена резистентности к неомицину).

5. Коизогенные животные. Коизогенными (или конгенными) называют генетически идентичные линии, различающиеся только по одному локусу. Истинная коизогенность возможна только в случае единичной мутации в инбредной линии. Изогенное состояние достигается путем введения гена одной линии на генетическую основу другой линии. Конгенные линии, которые отличаются друг от друга по локусу тканевой совместимости и, следовательно, взаимно резистентны к трансплантату ткани друг друга, называются конгенно-резистентными линиями (КР), а пара таких линий – КР-парой.

6. Рандомбредные животные. Неинбредные, нелинейные животные закрытых колоний размножаются по определенной, в большинстве случаев – ротационной системе, обеспечивающей рандомизацию скрещиваний. Каждая такая колония характеризуется определенными частотами генов и генотипов, животные гетерозиготны по неопределенному числу генов, и поэтому сама колония и каждая выборка из нее генетически гетерогенны. Животные этой категории фенотипически менее однородны, чем гибриды. Необходимым условием сохранения биологических особенностей нелинейных животных и воспроизводимости результатов экспериментов является поддержание гетерозиготности при сохранении стабильности генетической структуры колонии.

7. Стандартные животные. Животные из закрытых колоний, размножаемые по ротационной системе на протяжении не менее 4 поколений при потере гетерозиготности менее 1% на поколение, принято считать стандартными.

В биомедицинских исследованиях следует применять аутбредные линии животных строго только первого поколения (F1). Так, например, при изучении зависимости массы тела от возраста было показано, что для половины линий крыс (самцов и самок) рост массы тела, указанный в источниках из исследовательских работ и из питомников, не совпадает (статистически значимо или в виде отчетливых тенденций), причем расхождение может начинаться или с некоторого момента (свойственно для линий Wistar Hannover, Sprague Dawley), или практически сразу после рождения животного (свойственно для линий Lewis, LongEvans). Обнаруженный феномен имеет значение для выбора объекта исследования. Отличия в возрасте при одной и той же массе животных в эксперименте и в питомниках могут приводить к ошибкам. То же самое касается биохимических и других показателей [7, 8].

Одной из основных проблем биомоделирования – это поддержание чистоты линии лабораторных животных. Каковы же методы и способы оценки чистоты линии

животных с биомоделями, в том числе генно-модифицированных нарушений?

Для поддержания чистоты линии необходимо достаточно регулярно проводить мониторинг животных и строго соблюдать методику разведения. Весь персонал, работающий с инбредными штаммами, должен быть хорошо подготовлен, т.е. быть высококвалифицированным.

Первые признаки нарушения чистоты линии можно отследить по 2 параметрам: плодовитость и поведение. Резкие изменения могут быть вызваны влиянием генетики или окружающей среды, в любом случае при наличии изменений требуется выяснение их причин.

Плодовитость необходимо регулярно отслеживать при воспроизведении животных для наиболее эффективного управления колонией. Внезапный рост плодовитости линейных животных может быть вызван гибридной мощностью, что не свойственно для инбредных животных.

Необходимо тщательно изучать поведение животных. Большинство линий обладает спокойным темпераментом, в то время как гибриды F1 бывают более активными и нервными. Изменения в темпераменте животных должны стать поводом для тщательного исследования с применением различных методов оценки чистоты линии, например, трансплантации кожи.

Не вызывает сомнения факт, что генетическое заражение нарушает чистоту линии и приводит к искажению результатов экспериментов. Нарушение чистоты линии возможно в результате отдельных мутаций, а также случайного участия в процессе разведения производителя из другой линии. Опасность генетической контаминации особенно велика, когда в одном помещении содержатся несколько линий с одинаковой окраской шерсти [9, 10].

Генетический контроль не может предотвратить нарушения чистоты линий, однако он очень важен для обеспечения качества лабораторных животных. Генетический контроль в зависимости от количества исследуемых маркеров может быть разделен на следующие 3 категории:

1. Одним из важных аспектов биомоделирования является характеризация линии. Данная процедура проводится для подтверждения генотипа инбредных линий и для создания генотипа новых линий путем проверки большого числа локусов – маркеров. В соответствии с биологическими функциями маркеры делятся на 6 групп: биохимические, морфологические, иммуногенетические, молекулярные генетические, фармакогенетические и цитогенетические. Наиболее подходящие с точки зрения точности, простоты исполнения, эффективности и экономичности – маркеры биохимической и иммуногенетической групп, поскольку количество локусов в них известно лучше, чем в других маркерах, и их обнаружение проще осуществить.

2. Мониторинг I. Проводится с целью периодического подтверждения генетического профиля линии, воспроизводимой в питомнике.

3. Мониторинг II. Проводится для подтверждения частных подгрупп, которые могут быть охарактеризованы минимальным набором маркеров, позволяющих выделять данную группу животных в обособленную линию. Так, например, 5 наиболее часто встречающихся инбредных линий (AKR, C3H/He, DBA/2, BALB/c и C57BL/6) можно распознать, используя 4 биохимических маркера (Hbb, Car-2, Gpi-1, Idh-1).

После внедрения каждая линия должна проходить характеризацию с целью подтверждения генотипа. Затем, если линия соответствует ожидаемым характеристикам, она с определенной периодичностью подвергается Мониторингу I. Через несколько лет повторяют процедуру характеризации. По необходимости проводят Мониторинг II.

Помимо исследования маркеров есть иные способы проверить чистоту линии лабораторных животных.

Реципрокная изотрансплантация кожи позволяет контролировать гомозиготность

по большому количеству генов, поскольку тканевая совместимость – полигенный признак. Этот прием позволяет выявить очень слабые генетические различия между животными одной линии, обусловленные остаточной гетерозиготностью или спонтанными мутациями. Метод достаточно прост технически и не требует больших материальных затрат. Мышей и крыс для контроля отбирают в возрасте 25-30 дней. Трансплантация осуществляется на 2-, 3-месячных мышах и 3-, 3,5-месячных крысах, но не раньше 6-недельного возраста [10].

Массовый SNV (single nucleotide variant, единичные нуклеотидные варианты) анализ позволяет дифференцировать особей и линии. Он заключается в поиске отличий в последовательности ДНК размером в один нуклеотид (A, T, G или C) в геноме. Однако данный метод недостаточно хорошо охарактеризован, часто возникают сложности разделения и ошибки секвенирования [10].

Полногеномное или полноэкзомное секвенирование позволяет сравнивать между собой геномы отдельных особей. Но в настоящее время данный метод является дорогостоящим, в связи с чем применение его в рутинных исследованиях нецелесообразно [11].

Использование микросателлитов в качестве ДНК-маркеров – самый популярный на сегодняшний день метод генетического мониторинга.

Микросателлиты – это короткие тандемные повторы, состоящие из 2-6 пар нуклеотидов. Они характеризуются стабильным наследованием, в связи с чем они чрезвычайно консервативны от одной генерации к другой, отличаются уникальностью для индивидуума, полной идентичностью для всех клеток одного и того же индивидуума, высокой степенью полиморфности среди разных линий.

Таким образом, микросателлитные последовательности широко применяются для персональной идентификации, в популяционной генетике и для построения филогенетических связей в систематике.

Существует несколько путей анализа микросателлитов. Все они основаны на использовании метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, комплементарными либо непосредственно микросателлитным последовательностям, либо участкам между ними. Кроме того, становится популярным метод мультиплексной ПЦР. В этом случае используется более 1 пары олигонуклеотидных праймеров. При этом контроль осуществляется сразу по нескольким ДНК-маркерам [12].

Таким образом, решающую роль в ускорении биомедицинских технологий сыграл ПЦР, позволяющий с помощью специфичных праймеров и термостабильной ДНК-полимеразы многократно воспроизводить интересующий ген в приборе-амплификаторе, а затем идентифицировать его различными методами – чаще всего с помощью электрофореза.

Преимуществом данного метода является то, что оценку чистоты линии можно проводить на любом этапе доклинического исследования или до него в кратчайшие сроки [13].

Если в процессе экспериментов произошло случайное скрещивание с животными другого генотипа, восстановить гомозиготность линии, сохранив исходный генотип, практически невозможно. Такие животные подлежат уничтожению.

Таким образом, несмотря на кажущуюся простоту использования лабораторных грызунов, следует учитывать их генетические и физиологические особенности при постановке экспериментов, поскольку от выбора вида и линии зависит не только конечный результат, но и его воспроизводимость. Генетическая составляющая популяции имеет сложное строение, и для сохранения чистоты линий и подтверждения их генетического статуса повсеместно используется генетический мониторинг популяций и линий экспериментальных животных. Генетический мониторинг может включать в себя как дорогостоящее полногеномное секвенирование или

характеризацию по значительному списку специфических маркеров, так и менее затратные методы оценки, включающие в себя реципрокную изотрансплантацию кожи или ПЦР-анализ.

Наиболее распространенный метод – использование микросателлитов в качестве ДНК-маркеров, их преимуществом является то, что оценку чистоты линии можно проводить в кратчайшие сроки на любом этапе доклинического исследования [14]. Термин «сток» (англ. – “stock”) означает закрытые колонии (популяции) лабораторных животных, размножаемых любым способом, кроме инбридинга.

Фармакогенетика и персонализированная медицина – это те направления, по которым, в основном, проводятся биомедицинские поисковые исследования на генетических биомоделях.

В настоящее время, возможность получения генетической информации позволяет внедрить персонализированную медицину в практику. Полученные данные после проведенных генетических исследований показали, что некоторые лекарственные средства, при определенных условиях, более эффективны для одних пациентов и неэффективны, а иногда даже опасны для других. Развитие фармакологии на стыке с сопутствующими научными исследованиями прогрессировало и в отношении комплексного изучения генетических факторов в формировании ответа на введенное лекарственное вещество, что привело к развитию нового направления в фармакологии – фармакогенетики, связанной с выявлением изменений (полиморфизмов) в генах, кодирующих белки, ответственных за фармакокинетику или фармакодинамику лекарственных средств [15].

Полученная генетическая информация, в том числе и по полиморфизму определенного гена, позволяет врачу персонализированно выбрать как само лекарство, так и дозу для конкретного больного, обеспечивая максимальную эффективность и безопасность препарата.

Существуют два основных метода получения информации, способствующей индивидуализации лечения:

- изучение экспрессии гена, кодирующего тот или иной белок;
- определение содержания и/или характеристик самого белка.

Также выявлена ассоциация полиморфизма определенного аллеля, например гена FTO (взаимосвязи жировой массы и ожирения – fat mass and obesity associated), с метаболическими нарушениями у пациентов с уже имеющимся ожирением в популяционной выборке. Наличие определенного полиморфизма генотипа гена FTO предопределяет эффективность реабилитационного воздействия – снижение массы тела у пациентов с данными метаболическими нарушениями [16].

Все это свидетельствует о перспективности оценки полиморфизма определенного гена для прогнозирования эффективности реабилитационных мероприятий.

Профиль фармакогеномики достаточно предиктивен в отношении реакции на введенные лекарственные средства, и это может быть использовано для прогнозирования вероятных побочных эффектов и эффективности лечения у индивидуума еще до введения лекарственных средств, а также для выявления тех пациентов, которые тщательнее должны быть обследованы, для убеждения в достижении терапевтического уровня воздействия. Например, изменчивость в ответ на терапию антиаритмического препарата, как и изменчивость в ответ на другие формы фармакологической терапии, могут быть связаны с регулируемым распределением препарата.

Так, нарушение функции CYP2D6, который кодирует печеночный цитохром P450, ответственный за метаболизм приблизительно у 25% клинически используемых лекарственных средств, достаточно распространен. Особенно это касается медленных метаболизаторов [17].

Генетические тесты для индивидуального подбора препаратов и их дозировок

весьма востребованы в области ранней диагностики и лечения заболеваний. В настоящее время разработано более 2000 тестов, и количество их экспоненциально растет [18].

Подавляющее большинство тестов относятся к онкологии и кардиологии. Тесты позволяют оценивать пресимптомные риски того или иного медикаментозного вмешательства (например, увеличение Q-T интервала), способствовать правильному диагнозу и прогнозу исхода заболевания и, разумеется, оптимизировать лечение выявленной патологии [19].

Тесты, в которых выявляются аллельные варианты CYP2C9*2 и CYP2C9*3 гена, кодирующего изоформу CYP2C9 цитохрома P450, используются для прогнозирования кровотечений при применении варфарина. Генотипирование в данном случае необходимо для предсказания нестабильной антикоагуляции и риска развития кровотечения, зависящих от активности генов CYP2C9 и VKORC1, кодирующих 2,3-эпоксидредуктазу (витамин К). Влияние полиморфизма по VCORC1 в 35% случаев значительно выше, чем по CYP2C9. Так показано, что полиморфизм этих генов определяет около 60% случаев варьирования терапевтического эффекта варфарина [20].

Актуальной проблемой является моделирование патологий, связанных с множественными точечными мутациями в связи с полиморфизмом клинических проявлений, например, MELAS-синдром, относящийся к прогрессирующим митохондриальным заболеваниям и включающий в себя митохондриальную энцефаломиопатию, лактатацидоз, инсультоподобные эпизоды, которые могут сочетаться с поражением эндокринных желез (щитовидной, околощитовидных и поджелудочной желез) [21].

Заключение. Методология экспериментальных работ на генетических биомоделях зависит от типа генетической патологии, выбора вида животного, например, лабораторные мыши и крысы, оценки чистоты линии животных и диагностики патологических нарушений, связанных с генетическими модификациями.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каркищенко, Н. Н. Альтернативы биомедицины. Том 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования / Н. Н. Каркищенко. – М.: Изд-во ВПК, 2007. – 320 с.
2. Семакова, А. П. Современный подход к оценке качества лабораторных животных, используемых в экспериментальных целях / А. П. Семакова, В. Г. Германчук, Н. Ю. Шавина // Здоровье населения и среда обитания. – ЗНиСО. – 2021. – № 2. – С. 84-90. DOI: https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-332-2-84-90
3. Болотских, Л. А. Разработка и использование гнотобиологических методов в лабораторном животноводстве / Л. А. Болотских, Г. И. Подопригора. – В сб.: Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических исследований. – М, 1987. – 23 с.
4. Болотских, Л. А. Внедрение гнотобиотехнологии для создания лабораторных животных СПФ-статуса / Л. А. Болотских, Н. Н. Каркищенко, И. Ю. Егорова // Биомедицина. – 2011. – № 3. – С. 53-56.
5. Коробейникова, Е. П. Лабораторные животные – биомодели и тест системы в фундаментальных и доклинических исследованиях в соответствии со стандартами надлежащей лабораторной практики (НЛП/GLP) / Е. П. Коробейникова, Е. Ф. Комарова // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2016. – № 1. – С. 30-36.
6. Опыт организации и проведения экспериментальных исследований в ФБГУ «НМИЦ ТИО имени акад. В.И. Шумакова» / М.Ю. Шагидулин, Е.А. Волкова, С.Т. Метельский, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – № 19(4). – С. 104-112. DOI: https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-4-104-112.
7. Основные подходы к обеспечению качества биологических тест-систем в исследованиях

GLP-статуса / М.А.Зайцева, Е.Г. Потапенко, Т.В. Кашина, А.Б. Верведа // Лабораторные животные для научных исследований. – 2020. – № 2. DOI: https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-02-03.

8. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачева. – М.: Профиль 2С, 2010. – С. 88-101.

9. Origins of albino and hooded rats: implications from molecular genetic analysis across modern laboratory rat strains / Kuramoto T., Nakanishi S., Ochiai M.[et al] // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7(8). DOI: 10.1371/journal. pone.0043059.

10.Зависимость массы тела от возраста для беспородных белых и восьми линий лабораторных крыс: синтетические исследования данных из экспериментальных работ и питомников в аспекте связи с радиочувствительностью. Некоторые характеристики вида «крыса» / Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С. [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2018. – Т. 63(2). – С. 15-17. DOI: 10.12737/article_5ac6190e95da25.42157674.

11.Гайдай, Е. А. Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля / Е. А. Гайдай, Д. С. Гайдай // Лабораторные животные для научных исследований. – 2019. – № 4. DOI: https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-09.

12.Мониторинг чистоты линий лабораторных мышей с использованием ДНК-маркеров / Букреев Ю. М., Кособокова Е. Н., Кардашова С.С. [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2017. – Т. 16. – № 3.

13.Каркищенко, Н. Н. Основы биомоделирования / Н. Н. Каркищенко. – М.: Изд-во ВПК, 2005. – 608 с.

14.Гудратов, Н. О. Линейные мыши: достоинства и недостатки / Н. О. Гудратов // Биомедицина. – 2004. – № 4. – С. 40-42.

15.Клиническая фармакогенетика / Д.А. Сычев, И.В. Игнатьев, Г.В. Раменская, В.Г. Кукес. Под ред. В. Г. Кукеса, Н. П. Бочкова. – М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2007. – 248 с.

16.Ассоциация rs9939609 полиморфизма гена FTO с метаболическим здоровьем у пациентов с ожирением в популяции жителей Санкт-Петербурга / Бояринова М. А., Ротарь О. П., Костарева А. А. [и др.] // Доктор. Ру. – 2018. – № 8(152). – С. 20-24. DOI: 10.31550/1727-2378-2018-152-8-20-24.

17.Roden, D. M. Genomic medicine, precision medicine, personalized medicine what's in a name? / D. M. Roden, R. F. Tyndale // Clin Pharmacol Ther. – 2013. – № 94. – С. 169-172.

18.Mirnezami, R. Preparing for precision medicine / R. Mirnezami, J. Nicholson, A. Darzi // N. Engl. J. Med. – 2012. – № 366(6). – С. 489-491.

19.Offit, K. Personalized medicine: new genomics, old lessons / K. Offit // Hum Genet. – 2011. – № 130. – pp. 3-14.

20.Ofili, E. Conference Scene: The healthcare reform act, comparative ef-fectiveness research and personalized medicine / E. Ofili, D. Sproles // Personalized Medicine. – 2011. – № 8(2). – pp. 133-135.

21.MELAS-синдром как необычная причина гипопаратиреоза: клиническое наблюдение / Умярова Д. Ш., Гребенникова Т. А., Зенкова Т. С. [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2018. – № 21(3). – С. 30-35. DOI: https://doi.org/10.14341/osteo10094.

REFERENCES

1. Karkishchenko N.N. Alternatives of biomedicine. Volume 1. Fundamentals of biomedicine and pharmaceutical modeling. Moscow: Publishing House of the Military Industrial Complex, 2007. 320 p. (in Russ.)

2. Semakova A.P., Germanchuk V.G., Shavina N.Yu. Modern Approach to Assessing Quality of Laboratory Animals Used for Experimental Purposes. Public *Health and Life Environment – PH&LE*, 2021, no. 2, pp. 84-90. DOI: https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-332-2-84-90. (in Russ.)

3. Bolotskikh L.A., Podoprigora G.I. Development and use of gnotobiotic methods in laboratory animal breeding. From the collection: Topical Issues of Standardization of Laboratory Animals for Biomedical Research. Moscow, 1987. 23 p. (in Russ.)

4. Bolotskikh L.A., Karkishchenko N.N., Egorova I.Yu. Gnotobiotic introduction for creation of laboratory SPF-animals. *Biomedicine*, 2011, no. 3, pp. 53-56. (in Russ.)

5. Korobejnikova E.P., Komarova E.F. Laboratory animals – biomodels and test systems in fundamental and preclinical experiments according to the good laboratory practice (GLP) standards. *Journal of Fundamental Medicine and Biology*, 2016, no. 1, pp. 30-36. (in Russ.)

6. Shagidulin M.Yu., Volkova E.A., Metelskij S.T., Sevast'yanov V.I. Experience of organizing and management of experimental researches on animals in V.I. Shumakov National Medical Research

Center of Transplantology and Artificial Organs. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*, 2017, no. 19(4), pp. 104-112. DOI: https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-4-104-112. (in Russ.)
7. Zajtseva M.A., Potapenko E.G., Kashina T.V., Verveda A.B. Basic approaches to quality assurance of biological test systems in GLP-studies. *Laboratory Animals for Science*, 2020, no. 2. DOI: https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-02-03. (in Russ.)
8. Guidelines on laboratory animals and alternative models in biomedical research. Ed. by N.N. Karkishchenko, S.V. Gracheva. Moscow: Profil' 2C, 2010. pp. 88-101. (in Russ.)
9. Kuramoto T., Nakanishi S., Ochiai M., Nakagama H., Voigt B., Serikawa T. Origins of albino and hooded rats: implications from molecular genetic analysis across modern laboratory rat strains. *PLoS ONE*., 2012, vol. 7(8). DOI: 10.1371/journal. pone.0043059.
10. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Zubenkova E.S., Vainson A.A., Biryukov A.P., Samoilov A.S. Dependence of body mass on age for mongrel white and eight lines of laboratory rats: synthetic studies of data from experimental works and nurseries in the aspect of communication with radiosensitivity. Some characteristics of the "rat" species. *Medical Radiology and Radiation Safety*, 2018, vol.63, no. 2, pp. 15-17. DOI: 10.12737/article_5ac6190e95da25.42157674. (in Russ.)
11. Gajdaj E.A., Gajdaj D.S. Genetic variety of laboratory mice and rats: history of occurrence, methods of obtaining and control. *Laboratory Animals for Science*, 2019, no. 4. DOI: https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-09. (in Russ.)
12. Bukreev Yu. M., Kosobokova E. N., Kardashova S. S., Pinyugina M. V., Kosorukov V. S. DNA-markers for genetic monitoring of laboratory mouse. *Russian Journal of Biotherapy*, 2017, 3, vol.16. (in Russ.)
13. Karkishchenko N.N. Fundamentals of biomodeling. Moscow: Publishing House of the Military Industrial Complex, 2005. 608 p. (in Russ.)
14. Gudratov N.O. Linear mice: pros and cons. *Biomedicine*, 2004, no. 4, pp. 40-42. (in Russ.)
15. Sychev D.A., Ignat'ev I.V., Ramenskaya G.V., Kukes V.G. Clinical pharmacogenetics. Ed. by V.G. Kukes, N.P. Bochkov. Moscow: GEOTAR-MEDIA, 2007. 248 p. (in Russ.)
16. Boyarinova M.A., Rotar O.P., Kostareva A.A., Khromova N.V., Vasil'eva E.Yu., Solntsev V.N., Baranova E.I., Konradi A.O. Association between the FTO Gene rs9939609 Polymorphism and Metabolic Health in Obese Patients Living in St. Petersburg. *Doctor. Ru*, 2018, no. 8(152), pp. 20-24. DOI: 10.31550/1727-2378-2018-152-8-20-24.
17. Roden D.M., Tyndale R.F. Genomic medicine, precision medicine, personalized medicine what's in a name? *Clin Pharmacol Ther*, 2013, no. 94, pp. 169-172.
18. Mirnezami R., Nicholson J., Darzi A. Preparing for precision medicine. *N. Engl. J. Med*, 2012, no. 366(6), pp. 489-491.
19. Offit K. Personalized medicine: new genomics, old lessons. *Hum Genet*, 2011, no. 130, pp. 3-14.
20. Ofili E., Sproles D. Conference Scene: The healthcare reform act, comparative effectiveness research and personalized medicine. *Personalized Medicine*, 2011, no. 8(2), pp. 133-135.
21. Umarova D.Sh., Grebennikova T.A., Zenkova T.S., Sorokina E.L., Belaya J.E. MELAS syndrome, an unusual cause of hypoparathyroidism: clinical case. *Osteoporosis and bone diseases*, 2018, no. 21(3), pp. 30-35. DOI: https://doi.org/10.14341/osteo10094. (in Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Виктория Вячеславовна Козлова – кандидат фармацевтических наук, заведующая отдела изучения физических факторов, ПНИИК ФФГБУ СКФНКЦ ФМБА России в г. Пятигорске, e-mail: OIMDFF@bk.ru.

Валентина Федоровна Репс – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела изучения физических факторов, ПНИИК ФФГБУ СКФНКЦ ФМБА России в г. Пятигорске, e-mail: v.reps@mail.ru.

Людмила Александровна Пигунова – научный сотрудник отдела изучения физических факторов, ПНИИК ФФГБУ СКФНКЦ ФМБА России в г. Пятигорске, e-mail: OIMDFF@bk.ru.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Victoria Vyacheslavovna Kozlova – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Head of the Department of Physical Factor Study, Pyatigorsk Research Institute of Balneology – Branch of the Federal State Budgetary Institution "North Caucasian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency" in Pyatigorsk, e-mail: OIMDFF@bk.ru.

Valentina Fedorovna Reps – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher of the Department of Physical Factor Study, Pyatigorsk Research Institute of Balneology – Branch of the Federal State Budgetary Institution "North Caucasian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency" in Pyatigorsk, e-mail: v.reps@mail.ru.
Lyudmila Aleksandrovna Pigunova – Researcher of the Department of Physical Factor Study, Pyatigorsk Research Institute of Balneology – Branch of the Federal State Budgetary Institution "North Caucasian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency" in Pyatigorsk, e-mail: OIMDFF@bk.ru.

Для цитирования: Козлова, В. В. Методология экспериментальных исследований на генетических биомоделях / В. В. Козлова, В. Ф. Репс, Л. А. Пигунова // Современные вопросы биомедицины. – 2022. – Т. 6. – № 3. DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_03_9

For citation: Kozlova V.V., Reps V.F., Pigunova L.A. Method of experimental studies on genetic biomodels. *Modern Issues of Biomedicine*, 2022, vol. 6, no. 3. DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_03_9