

Генетические проблемы суверенитета в биомедицинских исследованиях на лабораторных животных

Мошкин М.П.

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

mmp@bionet.nsc.ru

Медицинское импортозамещение предполагает формирование непрерывного цикла науки и производства, обеспечивающего продвижение в практику здравоохранения либо новых, либо репозиционированных лекарств. Обязательным звеном этого цикла является тестирование эффективности и безопасности средств профилактики и лечения болезней на лабораторных животных, среди которых первое место по масштабам использования занимают генетические линии мышей. И востребованность мышей фундаментальной наукой и фармакологией непрерывно растет, о чем свидетельствует позитивная динамика финансирования «мышинного животноводства». Тем не менее следует отметить, что использование животных в качестве тест-объектов критикуют не только озабоченные биоэтикой обыватели, но и профессиональные ученые. Последние обращают внимание на трудности получения воспроизводимых результатов, обусловленных фенотипической изменчивостью, присущей всем живым организмам.

С позиций современных требований тест-объекты доклинических испытаний должны: а) быть стандартизированными по своим феногенетическим характеристикам, б) быть свободными от возбудителей болезней (specific pathogen free – SPF), в) адекватно моделировать как массовые, так и орфанные патологии. Только при соблюдении этих требований возможно получение надежных результатов, в том числе и объединение результатов, полученных разными центрами неклинических испытаний. Блокирование контактов с мировыми депозитариями, поддерживающими разведение лабораторных животных в России, ставит вопрос об обеспечении функционирования российских питомников с сохранением высоких стандартов модельных организмов, опираясь на собственные технологические возможности. Итак, по порядку проблем:

Генетическое соответствие как основа поддержания феногенетического стандарта тест-объектов.

Спонтанные мутации и дрейф генов предопределяют неизбежные феногенетические изменения лабораторных линий животных. Несмотря на то что генетический дрейф имеет значение только в аутбредных популяциях, а частота спонтанных мутаций относится к крайне редким событиям, для гарантированного соответствия исходному генотипу племенные ядра меняют каждые 10 циклов размножения. Анализ отчетов биоресурсных коллекций (БРК), который проводился до 2021 г. в рамках одноименной программы ФАНО, показал, что в российских питомниках используют четыре подхода к поддержанию племенных ядер:

1. Практически бесконтрольное разведение с выбраковкой больных животных;

2. Разведение с выбраковкой особей с явным фенотипическим несоответствием разводимой линии и контролем совместимости кожных лоскутов;

3. Разведение и выбраковка при фенотипическом несоответствии, дополненные регулярной заменой племенных ядер из сертифицированных депозитариев;

4. Разведение и выбраковка при фенотипическом и генетическом несоответствии с регулярной заменой племенных ядер из собственного криоархива.

Как показал анализ отчетов биоресурсных коллекций (БРК), который проводился до 2021 г. в рамках одноименной программы ФАНО, только Центр генетических ресурсов (ЦГР) лабораторных животных ИЦиГ СО РАН обладает полным набором компетенций для суверенного обеспечения биомедицинских исследований модельными организмами надлежащего качества. В частности:

- наличие в ЦГР технологии криоконсервации позволяет преодолевать неизбежные последствия генетического дрейфа, выявляемого методом микросателлитного анализа, и поддерживать генетическое качество животных за счет обновления племенных ядер из криоархива;
- мониторинг здоровья в ЦГР в соответствии с европейскими требованиями (протокол FELASA) и использование вспомогательных репродуктивных технологий, включая экстракорпоральное оплодотворение, надежно обеспечивает поддержание SPF статуса;
- получение организмов, воспроизводящих патологии человека, обеспечено как собственным коллекционным фондом ЦГР – самым большим в РФ, так и наличием технологической платформы, обеспечивающей полный цикл создания требуемых моделей патологий методами геномного редактирования (CRISPR/Cas 9), селекции, хирургических вмешательств, фармакологии, манипуляциями с диетой и др.;
- верификация моделей патологий и оценка эффективности лекарственных и иных медицинских средств осуществляется широким набором методов прижизненного высокотехнологического фенотипирования, включая сверхвысокопольную магнитно-резонансную томографию;
- для выполнения сертифицированных протоколов определения безопасности новых лекарственных средств профилактики и лечения болезней на базе ЦГР создан Центр неклинических испытаний, аттестованный Росаккредитацией на соответствие требованиям надлежащей лабораторной практики (GLP).

Устойчивое функционирование ЦГР в условиях санкционного давления обеспечивается высококвалифицированными кадрами ЦГР и работающими на его базе научными сотрудниками ИЦиГ СО РАН. Таким образом, в современных реалиях ЦГР ИЦиГ СО РАН может стать центральной инфраструктурой, обеспечивающей поддержание, создание и распространение модельных организмов надлежащего качества.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 23-14-00179.

Genetic challenges to sovereignty in biomedical research on animal subjects

Moshkin M.P.

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

mmp@bionet.nsc.ru

Medical import substitution implies forming an integration cycle between research and industry that provides continuous adoption of new drugs into medical practice. The essential part of such an integration cycle is animal testing that ensures the effectiveness and safety of pharmaceutical agents and treatment strategies. Mice strains play a primary role in biomedical animal research, both in terms of genetic sophistication and in terms of sheer scale; the demand on genetic mice strains both in fundamental and applied research constantly grows as evidenced by the influx of investment into mouse breeding. However, it must be acknowledged that animal testing has its downsides. Apart from ethical concerns voiced by the general public, there is a professional critique coming from researchers themselves. The latter point out reproducibility problems that are inherent to animal testing because all living organisms have phenotypic variance.

By modern standards, clinical trial test subjects must: (a) have standard phenogenetic traits, (b) be specific pathogen free (SPF) and (c) adequately model mass and orphan pathologies. Only when these conditions are met, it is possible to produce reliable data and, importantly, to join the data acquired by different nonclinical trial institutions. Severing of the contacts with international depositaries, that have previously greatly facilitated laboratory animal breeding in Russia, poses a challenge to maintain steady work of vivaria and to keep the high standards of animal models, relying only on our own technological capabilities. In this light, one of the cardinal problems is the maintenance of animal test subjects' genetic coherence, which ensures a high phenogenetic standard of test subjects.

The phenogenetic discrepancy inside laboratory animal strains arises from spontaneous mutations and genetic drift. Despite the fact that genetic drift is significant only for out-bred populations and the fact that non-neutral spontaneous mutations are extremely rare events, to guarantee the maintenance of the original genotype, the stock nucleus must be changed every 10 breeding cycles. Analysis of bioresource collections reports that was conducted until 2021 under the eponymous programme of Federal Agency of Scientific Organizations has shown that Russian vivaria practice 4 different approaches to maintaining stock nucleus:

1. Virtually uncontrolled breeding, only sick animals are removed;
2. Breeding with removal of animals with obvious phenotypic aberrations and control of skin graft compatibility;
3. Breeding with removal of phenotypic mismatches, augmented by regular replacement of stock nuclei from certified depositaries;
4. Breeding and removal of phenotypic and genotypic mismatches, with regular replacement of stock nuclei from the local cryo archive.

The reports from the above mentioned “bioresource collections” project indicate that only the Center for Genetic Resources (CGR) for laboratory animals of ICG SB RAS possesses the full spectrum of qualifications for independently supplying biomedical research with high quality model animals. In particular:

- The CGR has cryoconservation technology that allows to counter otherwise inevitable genetic drift. This is done by assessing the drift via DNA microsatellite analysis and resupplying the stock nucleus from cryo archive as needed;
- The CGR has animal health monitoring compliant with European standards (FELASA protocol) and utilizes assisted reproductive technologies, including in-vitro fertilization, which help to maintain the SPF animal status;
- The CGR can create animal models of human pathologies, as it has an extensive strain collection – largest in Russian Federation, as well as the full stack of technologies for genetic modification — genome editing methods (CRISPR/Cas 9), breeding and selection methods, surgical equipment and personnel, pharmacological administration methods, diet manipulation ability, etc;
- The CGR can perform verification of animal models of human pathology and assessment of pharmaceutical agents and therapies, due to a wide range of high-tech phenotyping methods, including super-high field magnetic resonance imaging;
- The CGR has a nonclinical trial center, which is accredited by Rosaccreditation (Russian accreditation) government agency for a good laboratory practices (GLP) compliance. This allows it to assess novel drug safety using certified protocols.

Stable functioning of the Center for Genetic Resources under economic sanctions regime is maintained by scientists of ICG SB RAS and other highly trained employees of the center. Thus, in today’s challenging reality, the Center for Genetic Resources ICG SB RAS can become the central piece of biomedical infrastructure that ensures creation, maintenance, and distribution of high-quality animal models.

Funding: The study is supported by the Russian Science Foundation (grant No. 23-14-00179).