

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-2-95-109>



МИНИПИГС — ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНАЯ ЛИНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ДЛЯ ЭКСТРАПОЛЯЦИИ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ЧЕЛОВЕКА

О.В. Алимкина*, Н.В. Петрова, Н.В. Станкова, Ю.В. Фокин, Е.С. Глотова,
Н.А. Ларюшина, И.А. Васильева

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

В статье представлены результаты исследований, проведенных на минипигсах в Научном центре биомедицинских технологий за последние 10 лет. Приведены сравнения с наиболее значимыми лабораторными животными, а также показаны перспективы участия минипигсов в различных биомедицинских манипуляциях как альтернатива обезьянам, для использования которых существует ряд ограничений.

Ключевые слова: минипигс, биомодель, гуманизированность, экстраполяция

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Алимкина О.В., Петрова Н.В., Станкова Н.В., Фокин Ю.В., Глотова Е.С., Ларюшина Н.А., Васильева И.А. Минипигс — предпочтительная линия лабораторных животных для экстраполяции биомедицинских исследований на человека. *Биомедицина*. 2024;20(2):95–109. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-2-95-109>

Поступила 12.02.2024

Принята после доработки 02.05.2024

Опубликована 10.06.2024

MINIPIGS AS PREFERRED LABORATORY ANIMALS FOR EXTRAPOLATION OF BIOMEDICAL RESEARCH DATA TO HUMANS

Oksana V. Alimkina*, Nataliya V. Petrova, Nataliia V. Stankova, Yuriy V. Fokin,
Elena S. Glotova, Nadezhda A. Laryushina, Irina A. Vasil'eva

Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

This article presents the results of 10-year research studies conducted using minipigs at the Scientific Center of Biomedical Technologies. Comparisons with the most significant laboratory animals are presented. Prospects for involving minipigs in various biomedical manipulations as an alternative to monkeys, whose use is restricted, are shown.

Keywords: minipigs, biomodel, humanization, extrapolation

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Alimkina O.V., Petrova N.V., Stankova N.V., Fokin Yu.V., Glotova E.S., Laryushina N.A., Vasil'eva I.A. Minipigs as Preferred Laboratory Animals for Extrapolation of Biomedical Research Data to Humans. *Journal Biomed*. 2024;20(2):95–109. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-2-95-109>

Submitted 12.02.2024
Revised 02.05.2024
Published 10.06.2024

Введение

Вклад исследований на животных в медицину трудно переоценить. Они широко используются в современной медицине, в научных исследованиях и в системе образования. Так, биомедицинские исследования с использованием животных необходимы для разработки и оценки новых методов лечения, фундаментальных исследований (биологических структур и функций, заболеваний и др.), создания биологических продуктов (вакцин, антител и т.п.) и других целей. Одними из наиболее близких к человеку по физиологии сердечно-сосудистой системы, органов пищеварения, строению зубов, почек, кожи, глаз, составу крови и показателям артериального давления являются свиньи, в частности минипигсы, которые были выведены в 1974 году в Научном центре биомедицинских технологий ФМБА России. Минипигсы удобны для содержания в лабораторных условиях и проведения на них различных манипуляций, поскольку обладают небольшой живой массой и малыми размерами. В их генотипе отсутствуют гены карликовости, но они отселектированы по малым размерам и небольшой массе тела. Эти количественные признаки закреплены в генотипе минипигсов в результате сложного кроссбридинга, а также последующего отбора на протяжении ряда поколений [5].

В данной работе мы дадим сравнение наиболее часто используемых лабораторных животных с минипигсами. Для различных исследований наибольшее распространение получили **лабораторные мыши** вида *Mus musculus* L. Они нашли широкое распространение как в России, так и за рубежом [8, 13, 14]. Геном мыши содержит 20 пар хромосом, что составляет около 2,7 млрд комплементарных пар оснований нуклеиновых кислот, а у человека —

23 пары хромосом (около 3,2 млрд нуклеотидов), что позволяет сравнивать напрямую генетические коды мыши и человека. В их геномах содержится примерно по 30 тыс. генов. 99% генов человека соответствуют генам мыши, и 80% из них абсолютно идентичны [10–12]. Мышей используют для научных целей в биологии, онкологии, токсикологии, фармакологии, физиологии, микробиологии, генетике, для определения токсичности лекарств и стандартизации химических и биологических препаратов, стандартизации гормональных препаратов, вакцин, сывороток, для изучения злокачественных опухолей, лейкозов, гнотобиотных процессов [1, 4].

Обезьяны. Обезьяны вследствие большого биологического сходства с человеком являются адекватной экспериментальной моделью для решения многих задач биологии и патологии человека. У макак ДНК на 93% совпадает с человеческой, что делает их кандидатами для создания гуманизированных моделей [20].

Отдельно стоит отметить ограничения, связанные с использованием обезьян в биомедицинских исследованиях. Использование приматов в Европейском союзе регулируется Директивой 2010/63/EU, вступившей в силу 1 января 2013 года. Она разрешает использование приматов, если отсутствуют другие альтернативные методы. Тестирование на приматах разрешено для фундаментальных и прикладных исследований, тестирования качества и безопасности лекарств, продуктов питания и других продуктов, а также исследований, направленных на сохранение вида. Использование человекообразных обезьян, как правило, не допускается, за исключением случаев, когда считается, что эти действия необходимы для сохранения вида или в связи с неожиданной вспышкой опасного для жизни

или изнуряющего клинического состояния у людей. Директива подчеркивает использование принципа 3R (замена, уточнение, сокращение) и благополучие животных при проведении тестирования на приматах [21].

Поправка 2013 года к Закону Германии о защите животных со специальными правилами для обезьян привела к почти полному запрету на использование человекообразных обезьян в качестве лабораторных животных. Последний раз человекообразные обезьяны использовались в лабораторных экспериментах в Германии в 1991 году.

Использование же грызунов и минипиггов ограничивается только правилом трех R, что делает их наиболее доступными для различных манипуляций.

В статье представлены некоторые данные, полученные Научным центром биомедицинских технологий ФМБА России, которые показывают значимость минипиггов в биомедицинских исследованиях и открывают перспективы их дальнейшего использования. В работе используются минипигсы, самцы и самки в возрасте 8–11 мес. со средней массой тела $18,5 \pm 0,74$ кг, выведенные в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Животные содержатся в одном помещении, в групповых станках по 4 особи, с оптимальными параметрами микроклимата и освещения для содержания крупных лабораторных животных. Используется стандартный тип кормления — полнорационный комбикорм СК-8 (норма — 320 г/сут на голову), поение без ограничений. Исследования проводятся в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/ЕС и Базельской декларацией от 2011 года о защите животных, используемых в научных целях. Все эксперименты одобрены биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России [6].

Минипигсы как биомодель

Атеросклероз. Оказалось, что минипигсы являются адекватной биомоделью для изучения патогенеза этого заболева-

ния. Изучены возрастные особенности изменения биохимических показателей и липидного обмена сыворотки крови этих животных. Было изучено содержание в сыворотке крови общего холестерина, триглицеридов, соотношение фракций липопротеидов у животных разного возраста. Минипигсы использовались при изучении роли экзогенных химических соединений, в т.ч. и фторидов, в патогенезе атеросклероза и ускорении естественных процессов старения [4].

Пневмоцитоз. Исследования проводились на молодняке минипиггов. У поросят болезнь протекала с явлениями пневмонии. После культивирования *Pn. Carinii* в культуре клеток была выявлена локализация возбудителя в цитоплазме.

Ишемия головного мозга. На минипигсах изучалась острая ишемия головного мозга. Полученные данные позволили охарактеризовать миниатюрных свиней как животных, которые легко переносят «выключение» обеих общих сонных артерий. При этом у них, как и у людей, при острых нарушениях мозгового кровообращения возникают проявления висцеральной патологии — нарушается функциональное состояние печени [6].

Язва пищевода и желудка. Исследования показали необычайно высокую частоту язвы пищевода и желудка у минипиггов. Изучаемые симптомы привлекают внимание ученых отчасти как результат существования связи между частотой заболевания и типом рациона, а также в связи с тем, что этиология и патогенез схожи с таковой у человека. У минипиггов объем секреции желудочного сока и концентрация гастринина в сыворотке крови сравнимы с человеческими.

Гнотобиоты. Большой интерес представляют безантигенные животные, контролируемые не только по микробному, но и по антигенному фактору. Гнотобиотическое животное подвергается действию трех факторов: отсутствия микрофлоры, стерильной диеты

и микроклимата изолятора. Суммарный эффект этих факторов формирует специфический морфофизиологический статус организма гнотобиота, для которого характерно недоразвитие дыхательной, лимфатической и пищеварительной систем, а также наличие структурных изменений в остальных органах и системах.

Моделирование алкоголизма. Минипигсы сходны с человеком по физиологии пищеварения, уровню многих ферментов метаболизма, строению и функциям различных систем и органов и, как оказалось, по поведенческим признакам опьянения. На минипигах моделируются главные черты этого заболевания, свойственные человеку, — добровольное потребление алкоголя и четкое разделение отдельных стадий заболевания. Изучались патологические изменения в тканях и органах при хроническом алкоголизме.

Дерматология. На минипигах производится изучение патогенетических механизмов восстановления стромально-эпителиальных возрастных изменений кожи с помощью клеточной трансплантации. Методами гистологии и иммуногистохимии оценивается приживаемость трансплантируемых клеток, возможное воспаление и структурные изменения, происходящие в дерме в результате трансплантации.

Группы крови. Работа по выявлению сходств и различий по эритроцитарным антигенам между человеком и минипигами проводилась путем постановки перекрестных реакций с использованием методики определения групп крови человека и методики определения групп крови свиней. В результате проведенных исследований выявлено четкое сходство между антигеном А системы АВ0 у человека и антигеном Аа системы А у минипигсов. А также между антигеном e(hr') системы Rh у человека и антигенами Еа и Ее системы Е у минипигсов. По остальным антигенам сходства не обнаружено. Установлена вы-

сокая степень сходства эритроцитарных систем АВ0 у человека и системы А у наших мини-свиней, а также системам Rh у человека и системы Е у мини-свиней. Выявлено сходство между генотипами человека по системе АВ0: 0 (I), А (II) и АВ (IV) и генотипами минипигсов по системе А: А./., Аа/. и Ао/. По остальным системам человека (Kell и MNs) и системам минипигсов (B, D, F, G, L) иммунологического сходства не установлено.

Спорт и восстановительная медицина. Отдельный интерес представляет изучение характеристики воздействия на организм человека физических нагрузок разной мощности при изучении процессов адаптации организма к физическим нагрузкам и применения в клинической спортивной и восстановительной медицине. Экстремальные физические нагрузки на мелких лабораторных животных имеют ограничения из-за больших различий в скорости метаболизма этих животных и человека, а также невозможности многократного забора крови. Мини-пиги представляют собой наиболее релевантную человеку биомодель с этой точки зрения.

Моделирование предельной физической нагрузки у светлогорских минипигсов (рис. 1) показало, что работа «до отказа» вызвала статистически значимое увеличение концентрации лактата в крови минипигсов на 60% к окончанию нагрузки ($p < 0,001$) по сравнению с исходным донагрузочным уровнем. Через 30 мин после окончания нагрузки уровень лактата всё ещё превышал исходный ($p < 0,05$) на 30%, но уже через 1 ч не отличался от исходного ($p > 0,05$). Эти результаты аналогичны наблюдаемым у человека [15].

Повышение уровня лейкоцитов после нагрузки у минипигсов совпадает с известным эффектом у человека. W. Winternitz (1893), E. Willebrand (1903) установили появление лейкоцитоза после мышечной деятельности.

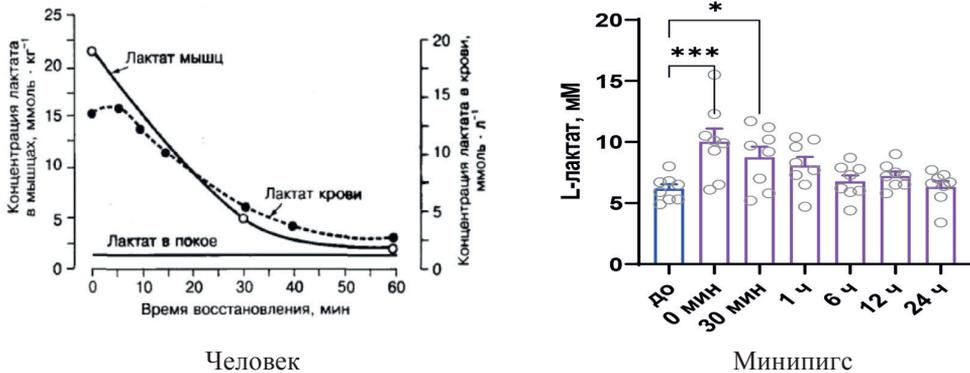


Рис. 1. Сравнение динамики утилизации лактата после перенесенной физической нагрузки у человека и минипигсов.

Fig. 1. Comparison of the dynamics of lactate utilization after physical exertion in humans and minipigs.

Таблица 1. Морфологический состав крови минипигсов до и после физической нагрузки

Table 1. Morphological composition of minipig blood before and after physical exertion

Параметры	До нагрузки	Сразу после	30 мин	1 ч	6 ч	12 ч	24 ч
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	12,5±0,77	11,7±0,60	14,4±1,19	14,6±1,01	15,8±0,78***	14,1±0,67	12,1±0,51
Эритроциты, 10 ¹² /л	8,2±0,11	8,0±0,11	7,8±0,15	7,9±0,09	7,8±0,13	7,7±0,13	7,6±0,10
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	385,3±32,13	393,3±32,12	370,4±37,46	376,5±38,29	323,3±31,50	274±22,75*	345,8±26,11
Гемоглобин, 10 ¹² /л	152,6±2,92	148±3,38	144,4±4,52	146,4±3,77	143,9±4,15	142,4±4,59	140,5±4,06

Первым исследователем, установившим закономерности изменения количества лейкоцитов под непосредственным влиянием физической нагрузки, был А.П. Егоров (1926). Он впервые дал качественную и количественную характеристику изменениям лейкоцитов и выделил три фазы лейкоцитоза.

Первая фаза (лимфоцитарная) возникает после относительно небольшой работы. Она характеризуется незначительным лейкоцитозом ((8–12)×10⁹/л), снижением относительного количества нейтрофилов, абсолютным и относительным увеличением количества лимфоцитов и относительным уменьшением количества эозинофилов. Вторая фаза (нейтрофильная) появляется после сравнительно большой работы. Она характеризуется большим увеличением количества лейкоцитов ((16–18)×10⁹/л).

Третья фаза (интоксикационная) протекает по двум типам: регенеративному и дегенеративному. При регенеративном типе происходит значительное увеличение количества лейкоцитов ((20–50)×10⁹/л), увеличение количества нейтрофилов со сдвигом влево, уменьшение количества лимфоцитов (1%), полное исчезновение эозинофилов. Дегенеративный же тип характеризуется хотя и менее выраженным лейкоцитозом ((10–15)×10⁹/л), но более резким сдвигом нейтрофилов влево, абсолютной лимфо- и эозинопенией и появлением патологических форм лейкоцитов. Интоксикационная фаза лейкоцитоза свидетельствует о крайней чрезмерности нагрузки (табл. 2).

Минипигсы демонстрируют повышение уровня лейкоцитов через 6 ч после перенесенной тяжелой физической нагрузки. Если

Таблица 2. Сравнение некоторых репродуктивных параметров наиболее значимых для биомедицинских исследований лабораторных животных, пригодных для трансгенеза

Table 2. Comparison of some reproductive parameters of the most significant laboratory animals, suitable for transgenesis

Вид	Продолжительность жизни	Возраст наступления половозрелости	Длительность беременности и оварийный цикл	Потомство	Интервал между родами	Интервал времени для создания устойчивой генно-модифицированной линии*
Макака-резус	До 21 года	3–4 года, около 18 лет — репродуктивный период	165 дней беременности, 28–29 дней менструальный цикл	1, реже 2, детёныша за цикл, 14–16 детёнышей за жизнь	360 дней	От 4-х лет — на 1 поколение, от 80 лет — на устойчивую линию
Мини-свинья	10–15 лет	5,5–7,5 мес.	114–118 дней беременности, 21 день оварийный цикл	5–12 детёнышей за цикл, ~25 за год (2 цикла)	~180 дней (2 приплода за год)	От 1 года на 1 поколение, от 20 лет — на устойчивую линию
Мышь	1–2 года	21–30 дней	18–24 дня беременности, 4–5 дней эстральный цикл	6–10 мышат за цикл	От 18 дней (могут оплодотворяться сразу после рождения мышат)	3–4 поколения в год, от 7 лет — на устойчивую линию

Примечание: * — принято, что генно-модифицированная линия считается устойчивой после 20 поколений.

На базе Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России создано 13 трансгенных, 5 трансгенно-нокаутных и 4 нокаутных линии мышей.

Note: * — accepted that a genetically modified line is considered stable after 20 generations.

At the Scientific Center for Biomedical Technologies of the FMBA of Russia, 13 transgenic, 5 transgenic-knockout, and 4 knockout mouse lines were created.

проводить аналогию с данными по человеку, полученные нами результаты указывают на тяжелую физическую нагрузку и неподготовленность организма минипигсов к выполнению данной мышечной работы.

На рис. 2 видно, что происходит резкое нарастание нейтрофилов через 30 мин после бега, указывающее на возникновение 2-й фазы лейкоцитоза (нейтрофильная фаза), что позволяет нам сделать вывод о тяжести физической нагрузки животных. При этом значительно уменьшается количество лимфоцитов. Эти данные также свидетельствуют о схожести физиологических процессов, наблюдаемых у человека после перенесенной тяжелой физической нагрузки [15].

Молекулярно-генетические маркеры, изученные на минипигсах. При изучении генов-мишеней именно *NFE2L2* оказался наиболее чувствителен к степени физической нагрузки у модельных животных, он может служить оценочным критерием при проведении молекулярно-генетиче-

ских исследований работоспособности и выносливости у минипигсов. Он рекомендован для проведения исследований влияния фармакологических препаратов на восстановительные свойства организма при возможном выборе фармнутриентов и биологически активных веществ и экстраполяции исследований на человека. Фактор транскрипции Nrf2 (ген *NFE2L2*) является мастер-регулятором антиоксидантной защиты организма, под контролем которого находится транскрипция генов, кодирующих ключевые белки антиоксидантных систем глутатиона (Gclc, Gclm, Gsr1, xCT) и тиоредоксина (Txn, Txnrd1, Srxn1), а также ферменты синтеза НАДФН (G6pd, Pgd, Idh1, Me1) и детоксикации АФК (Gpx1, Gsta1/2/3/5, Gstml/2/3, Gstp1, Nqo1) [10]. Nrf2 экспрессируется во всех органах в ответ на окислительный стресс. Было показано, что ген *NFE2L2*, кодирующий фактор транскрипции Nrf2, активно экспрессируется при физических нагрузках [7, 25].

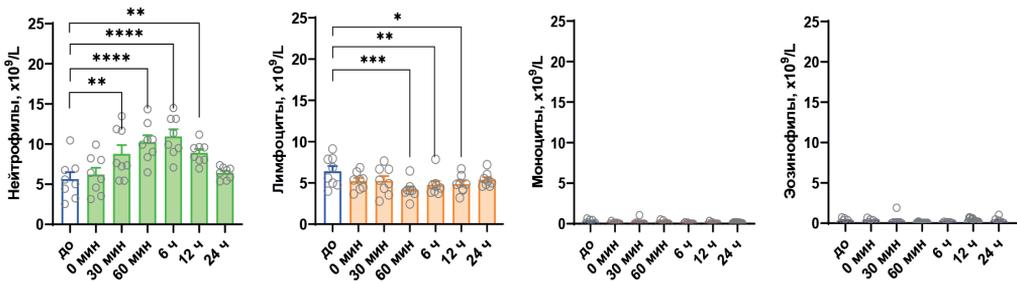


Рис. 2. Изменения лейкоцитарной фракции крови минипигсов до и после физической нагрузки.
Fig. 2. Changes in the leukocyte fraction of minipigs blood before and after physical exertion.

Также мишенями для молекулярных исследований являлись уровни экспрессии следующих генов: *IL-6*, *HMGBl*, *TNF* (гены, отвечающие за синтез белков, относящихся к группе цитокинов) и *SIRT* (трансфераза из семейства белков-сиртуинов).

Ген *IL-6* является провоспалительным цитокином, принимающим участие в воспалительной реакции, а также сильным эндогенным пирогеном, участвует в созревании ряда иммунокомпетентных тканей, в т.ч. В-клеток. Нарушение регуляции в синтезе данного белка ассоциируется с миксомой сердца, неалкогольной жировой болезнью печени, ревматоидным артритом, а также в клеточном массиве миеломы. Ген *TNF* кодирует полифункциональный цитокин. Данный белок продуцируется в основном клетками-макрофагами, способен вызывать гибель линий опухолевых клеток. Ассоциируется с неалкогольной жировой болезнью печени, различными формами рака, упоминается как инициатор цитокинового шторма при иммунотерапии раковых опухолей. Ген *HMGBl* кодирует белок-цитокин, принадлежащий суперсемейству High mobility Group-box. Данный белок участвует в организации и регуляции транскрипции ДНК. Обычно содержится в нуклеоплазме. Вне клетки он является индуктором ряда провоспалительных цитокинов. Его связывают с подавлением эпигенетических генов и рекомбинации рДНК. Его накопление вне цитоплазмы

клетки связывают с процессом старения и некоторыми возрастными патологиями. Ген *Sirt* (сиртуин 1), в отличие от вышеперечисленных генов, не является кодирующим цитокин. Данный ген кодирует белок-трансферазу. По некоторым данным белки этой группы способны положительно регулировать длину теломер. По указанным генам разработаны системы ПЦР-детекции, видоспецифичные праймеры и программы для анализа уровня экспрессии, которые могут представлять научный интерес в биомедицинских исследованиях [7].

Параметры мозга и высшей нервной деятельности. Размеры мозга у некоторых лабораторных животных: у мыши — в среднем 0,5 г; у мини-свиней — 45–70 г; у обезьяны (макак-резусов) — 73–120 г; у человека — в среднем 1500 г.

Несмотря на поверхностные различия, особенно в размере и весе, мозг мыши и его функции могут служить мощной моделью на животных для изучения заболеваний человеческого мозга или психических расстройств. Гены, ответственные за построение и функционирование мозга мыши и человека, на 90% идентичны. Трансгенные линии мышей также позволяют нейробиологам целенаправленно маркировать определенные типы клеток, чтобы исследовать нервную основу фундаментальных процессов. В коре головного мозга мыши около 8–14 млн нейронов, в то время как у людей их более 10–15 млрд.

Понимание нейрофизиологических основ функционирования мозга человека невозможно без использования животных моделей с применением инвазивных методов исследования. Наиболее близкими животными к человеку в эволюционном плане, а также по анатомическому строению и физиологическим особенностям являются обезьяны [20].

Среди всех известных видов обезьян макаки-резусы — самая распространенная животная модель для изучения процессов высшей нервной деятельности. Однако, учитывая явные различия во многих когни-

тивных способностях человека и обезьяны, в размере и строении их мозга, не всегда можно напрямую обобщать получаемые результаты.

Параметры психоэмоционального состояния. Нами изучены параметры ультразвуковой вокализации (УЗВ) животных, отражающей их функциональное и психоэмоциональное состояние (рис. 3).

Ультразвуковая вокализация в состоянии покоя характерна для всех исследованных нами лабораторных животных (мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики, мини-свиньи, обезьяны), а также челове-

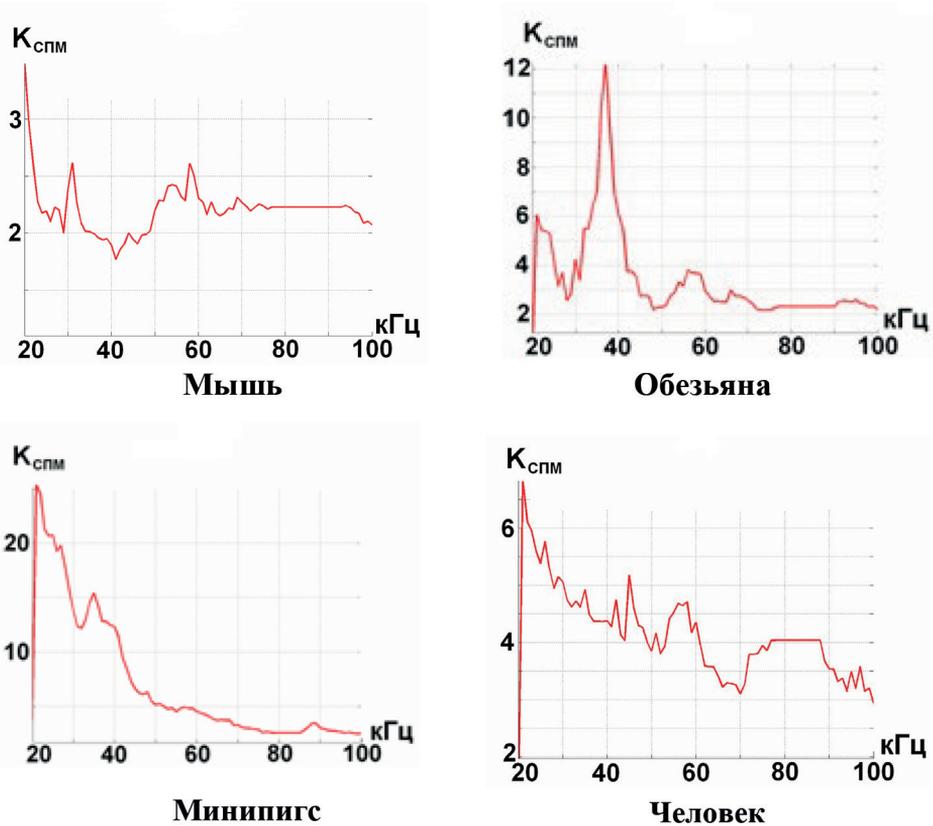


Рис. 3. Ультразвуковая вокализация (распределение числа случаев обнаружения ультразвука) наиболее значимых лабораторных животных и человека. По оси абсцисс — частота (кГц), по оси ординат — спектральная плотность мощности (коэффициент, $K_{спм}$).

Fig. 3. Ultrasonic vocalization (distribution of the number of ultrasound detection cases) of the most significant laboratory animals and humans. Abscissa axis – frequency (kHz); ordinate axis – power spectral density (coefficient, $K_{спм}$).

ку. Наиболее близкими к человеку по УЗВ животными, используемыми в качестве биомоделей в экспериментах по оценке функционального состояния методом анализа УЗВ, вероятно, являются минипигсы и мыши.

Основные методы трансгеноза. Привлекательность минипигсов как биомоделей не ограничивается использованием существующих популяций. Развитие технологий активного редактирования генома в совокупности с методами получения трансгенных животных позволяет с высокой эффективностью получать биомодели, отвечающие требованиям конкретного исследования. В табл. 2 отражены основные репродуктивные параметры наиболее распространённых лабораторных животных, используемых для трансгеноза.

На сегодня для получения трансгенных и/или нокаутных крупных лабораторных животных применяются следующие методы: микроинъекции в пронуклеусы зигот, трансфекция векторами, модификация спермиев и сперматозоидов, перенос ядер модифицированных стволовых клеток [2, 3]. Каждый метод имеет свои преимущества и недостатки. Ввиду особенностей минипигов для получения трансгенных и нокаутных животных, как правило, используется метод переноса ядер модифицированных стволовых клеток (рис. 4). В сочетании с технологиями направленного активного редактирования генома (ZFN, TALENs, CRISPR/Cas9) данный метод позволяет не только получить трансгенное потомство с вероятностью 100%, но и провести предварительный генетический скрининг и отобрать для переноса ядер клеточные клоны, точно соответствующие целям эксперимента (копийность гена, гомо/гетерозиготность, уровень экспрессии, наличие генетических aberrаций в редактируемом локусе и пр.). Более того, данный метод позволяет получать животных с несколькими модификациями за одну стадию. К настоящему времени

мультитрансгенные мини-пиги были получены для ряда исследований, например совместного действия генов, вовлечённых в патогенез диабета [18, 23], или получения животных, экспрессирующих регуляторные факторы комплемента человека [17]. Последние в сочетании с нокаутом гена *GGTA1* представляют важнейшую модель для исследования возможности элиминирования сверхострой реакции отторжения при ксенотрансплантации тканей и органов от свиней приматам [2, 19, 20, 23].

Трансгенные мини-пиги. Исследования, связанные с безопасностью человека, такие как эффекты и методы лечения заболеваний, требуют создания моделей крупных лабораторных животных.

Свиньи были преобладающим объектом выбора при моделировании большинства заболеваний человека благодаря их высокой продуктивности и относительно небольшим финансовым затратам на содержание. С момента разработки методов гибридизации мини-свиньи использовались чаще, чем фермерские свиньи, из-за их примечательно меньшего размера, благодаря этому процесс выращивания был более контролируемым, снижалось количество соединений, которые, как следствие, требовали непомерно высоких затрат на эксперименты, и упрощалась работа с животными. Тем не менее, по сравнению с разведением мини-свиней путем гибридизации, трансгенные свиньи демонстрируют преимущества в сокращении периода разведения и снижении ограничений, таких как происхождение, для введения новых признаков, что в значительной степени влияет на улучшение моделей свиней на генетическом уровне.

Одним из примеров трансгенных мини-свиней Юкатана является создание самцов и самок свиней *LDLR^{-/-}* с помощью методов рекомбинантного аденоассоциированного вирусопосредованного нацеливания генов и переноса ядер соматических

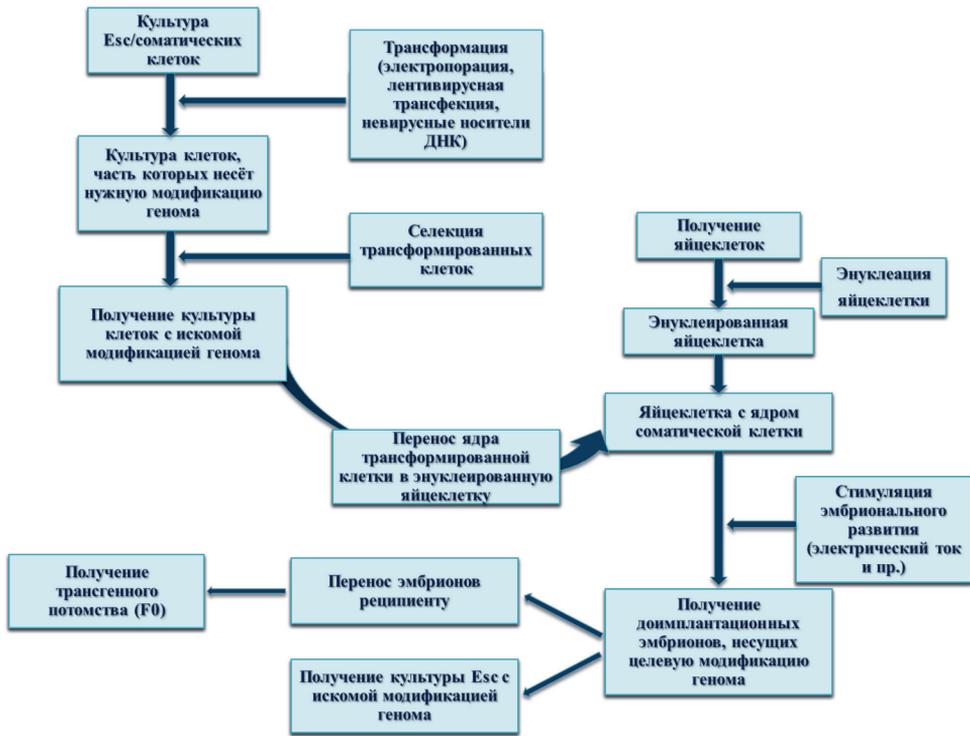


Рис. 4. Получение трансгенных животных методом пересадки ядер соматических клеток (SCNT).
 Fig. 4. Creation of transgenic animals using somatic cell nuclear transfer (SCNT).

клеток, что обеспечивает лучшую модель крупных животных с наследственной гиперхолестеринемией и атеросклерозом. Кроме того, в 2020 году компанией «Choi» были получены генетически наследуемые юкатанские миниатюрные свиньи с нокаутом *GGTA1* путем комбинирования эффекторной нуклеазы, подобной активатору транскрипции (TALEN), и ядерного переноса. Исследователи пришли к выводу, что TALEN может быть точным и безопасным инструментом для создания свиней с отредактированным геном, а модель юкатанской миниатюрной свиньи с *GGTA1*-нокаутом TALEN в этом исследовании может служить безопасным и эффективным ресурсом органов и тканей для клинических применений. В 2021 году было сообщено о другой юкатанской мини-свинье с технологией нокаута гена.

Тройной нокаут генов произошел в отношении *GGTA1*, гидроксилазы цитидинмонофосфат-N-ацетилнейраминовой кислоты (*CMAH*) и альфа-1,3-галактозилтрансферазы 2 (*A3GALT2*) у миниатюрных свиней Юкатана в отношении иммунной реактивности человека [16].

Геттингенская мини-свинья, обладающая хорошей плодовитостью и стабильной генетикой, также является широко используемой моделью мини-пиггов. Геттингенские миниатюрные свиньи обычно используются в качестве модели нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера.

Свиньи Учжишань были на грани исчезновения в 1980-х годах, это обнаружили китайские ученые при проведении исследований видов животных. Вначале эта порода использовалась для увеличения воспроиз-

водства, а затем было установлено, что она является подходящим видом для модели мини-свиньи. В одном случае путем клонирования вручную были получены трансгенные мини-свиньи Учжишань с нарушенной системной активностью GHR, и в ходе научных исследований оценивался профиль их роста и метаболизм глюкозы. В исследованиях был сделан вывод, что эта модель может быть полезна при изучении функций гормона роста в отношении рака, диабета и долголетия.

Мини-свинка Бама — это миниатюрный вид свиней из китайской провинции Гуанси. В исследовании сообщалось об оптимизации эффективности производства трансгенных мини-свиней Бама с помощью SCNT, в результате чего был сделан вывод о том, что способность трансгенных эмбрионов мини-свиней Бама к развитию *in vitro* и *in vivo* была улучшена с использованием донорских клеток для SCNT, обработанных ретровирусом. Результат обеспечил как оценку, так и создание производственных трансгенных моделей свиней для биомедицинских целей [16].

Иммунологические исследования. Грызуны — биологические модели, одни из наиболее распространенных и часто используемых в сфере иммунологии, фармакодинамики и генетики ввиду ряда очевидных преимуществ, в основном экономических и в, частности, физиологических (например, высокая скорость воспроизведения потомства и т.п.).

Грызуны обладают высокой генетической гомогенностью с геномом человека, поэтому на данных моделях эффективно тестируются различные препараты, в т.ч. и вакцины. Например, в ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» путем прямого введения ts-мутаций из генов, кодирующих белки полимеразного комплекса ряда холодаадаптированных штаммов-доноров аттенуации вируса гриппа в геном вирулентного штамма A/WSN/33 (H1N1),

были получены сайт-специфические мутанты — кандидаты в живые гриппозные вакцины [9].

Тем не менее у грызунов, используемых в качестве моделей человеческого иммунного ответа, наблюдается несколько особенностей. Основной проблемой является слабо контролируемый инбридинг, приводящий к учащению проявлений рецессивных мутаций, а также реактивный иммунитет и быстрое течение заболеваний. Самыми распространенными заболеваниями грызунов являются опухоли, а именно опухоли молочных желез, респираторные заболевания, почечная и сердечная недостаточность.

Также недавно было обнаружено, что с возрастом у мышей определенных видов не происходит накопления больших популяций долгоживущих клеток памяти; это позволяет сохранить разнообразие наивных Т-клеток и избежать старческих аутоиммунных заболеваний [9], в отличие от человека, — со старением в нашем организме просматриваются противоположные тенденции.

Различия в иммунном ответе и развитии побуждают к поиску иных животных-био-моделей, закрывающих научные потребности в схожести с нашим организмом.

Мини-пиги могут выступать в роли более деликатных иммунологических моделей, учитывая возможность оценки влияния стресса и социального взаимодействия на развитие патологий наряду с инфекционными агентами, и на сегодня имеется значительное количество исследований в этой области.

Также отмечается практическое удобство в использовании мини-пиггов, позволяющих проводить базовые манипуляции (например, забор крови, биологических тканей и т.п.) прижизненно.

Например, в ходе доклинических испытаний моноклональных антител за основу была взята линия мини-пиггов Гёттинген.

Были созданы два вектора экспрессии: один — с сегментами гена *IGH*, которые при реаранжировке дают последовательности, кодирующие разнообразные секреторные тяжелые цепи иммуноглобулинов IgG1; другой — с сегментами гена *IGK*, соответственно, дающий легкие цепи Ig-к. Эти генные элементы должны генерировать растворимые IgG человека, при этом не влияя на репертуар свиных антител (такое может произойти только при экспрессии мембраносвязанных иммуноглобулинов).

Векторами трансфицировали фибробласты почек, полученные от самцов мини-пиггов; после ПЦР-скрининга на трансгенность отобранные ядра пересадили в яйцеклетки. Удалось получить восемь трансгенных поросят, четверо достигли половой зрелости, из них трое экспрессировали как тяжелую, так и легкую цепи IgG человека. Все потомки животных-основателей демонстрировали менделевское наследование трансгенов, что указывает на встройку в один геномный локус и стабильный уровень человеческого иммуноглобулина в сыворотке крови. Анализ матричной РНК подтвердил, что реаранжировка генных сегментов идет адекватно, а вариабельная последовательность содержит аминокислотные замены из-за соматических мутаций. Мини-пигги не страдали от повышенной инфекционной нагрузки, морфология селезенки, лимфоузлов и костного мозга не изменилась. Реакция на модельный антиген — гемоцианин лимфы улитки — оказалась нормальной.

В ходе исследования реакции гуманизированных мини-пиггов на прототипные препараты человеческих терапевтических антител (бевацизумаб и даратумумаб) животным сделали семь инъекций и регулярно определяли антитела против антител в крови. Антитела против бевацизумаба были у свиней дикого типа, но не у гуманизированных. Антител против даратумумаба не появилось ни у тех, ни у других. По-видимому, оба эти препарата неиму-

ногенны для людей. Затем оценили иммуногенность терапевтических антител атезолизумаба или цергугтузумаба, которые индуцируют антительные ответы у 39 и 70% пациентов соответственно; аналогичная разница в иммуногенности наблюдалась и у свиней [16].

Таким образом, трансгенные мини-пигги являются идеальной моделью для оценки безопасности терапевтических антител и прогнозирования возможных побочных эффектов.

Заключение

Релевантность использования минипиггов в качестве моделей для биомедицинских исследований подтверждается множеством работ. Физиолого-биохимическая, анатомическая, генетическая и поведенческая схожесть минипиггов с человеком позволяет моделировать различные патологические ситуации и получать уникальные научно-практические данные, которые невозможно получить при использовании мелких лабораторных животных (мышей) в силу уровня развития их центральной нервной системы, размеров тела, особенностей метаболизма и других причин. При этом использование минипиггов не накладывает на исследователей ограничения, которые являются неотъемлемой частью работы с приматами, включая биоэтические аспекты и экономическую составляющую. Немаловажную роль для использования минипиггов в качестве биомоделей играет сравнительно недолгий срок беременности и возраст наступления половозрелости, что позволяет отслеживать наследуемость признаков, а также возможные патологические эффекты у потомства в ряду поколений. Особенное значение этот факт приобретает при исследовании фармакобезопасности препаратов нового поколения, вакцин, а также лекарств из класса генной терапии.

События последних лет диктуют нам необходимость развития отечественных

центров по разведению лабораторных животных для научных исследований. Стимулирование собственного сектора биомоделирования позволит обеспечить исследователей адекватными моделями и сохранить темпы развития науки и технологии, а также высокое качество проводимых исследований.

В НЦБМТ ФМБА России более 10 лет проводятся работы по созданию различных трансгенно-нокаутных биомоделей. За этот период нами успешно создано более 20 гуманизированных трансгенных и/или нокаутных линий мышей, часть которых уже имеет статус чистых линий. В нашем Центре также были созданы конструкции для создания гуманизированных свиней.

Многолетний опыт создания и поддержания биомоделей позволяет нам эффективно и качественно реализовывать стратегию обеспечения исследователей релевантными моделями, соответствующими требованиям эксперимента. Центр оснащён современным оборудованием, а научный персонал владеет методами создания и поддержания трансгенных животных, что позволяет нам в наикратчайшие сроки создавать и генотипировать животных с заданными свойствами. Содержание собственной популяции минипигсов позволяет рассматривать этих животных в качестве источника уникальных трансгенных биомоделей для широкого класса как фундаментальных, так и научно-практических исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Алексеев В.И. Нокаутные животные. В кн.: *Актуальные вопросы иммунопатологии*. СПб, 2007:76–82. [Alekseev V.I. Nokautnye zivotnyye. [Knockout Animals]. V kn.: *Aktual'nye voprosy immunopatologii* [In the book: *Topical issues of immunopathology*]. Saint Petersburg, 2007:76–82. (In Russian)].
2. Зиновьева Н.А., Мелерзанов А.В., Петерсен Е.В., Климык Н., Волкова Н.А., Дух А.С., Трусова И.А., Вольф Э., Брем Г. Использование трансгенных GAL-KO свиней в ксенотрансплантации: проблемы и перспективы. *Сельскохозяйственная биология*. 2014;2:42–49. [Zinovieva N.A., Melerzanov A.V., Petersen E.V., Klimyuk N., Volkova N.A., Dukh A.S., Trusova I.A., Wolf E., Brem G. Ispol'zovanie transgenykh GAL-KO svinej v ksenotransplantacii: problemy i perspektivy [Use of transgenic GAL-KO pigs in xenotransplantation: problems and prospects]. *Sel'skohozyajstvennaya biologiya* [Agricultural biology]. 2014;2:42–49. (In Russian)].
3. Зиновьева Н.А., Волкова Н.А., Багиров В.А., Брем Г. Трансгенные сельскохозяйственные животные: современное состояние исследований и перспективы. *Экологическая генетика*. 2015;13(2):58–76. [Zinovieva N.A., Volkova N.A., Bagirov V.A., Brem G. Transgenyye sel'skohozyajstvennyye zivotnyye: sovremennoe sostoyanie issledovaniy i perspektivy [Transgenic farm animals: current state of research and prospects]. *Ecological genetics*. 2015;13(2):58–76. (In Russian)].
4. Капанадзе Г.Д. Использование миниатюрных свиней в биомедицинских экспериментах. *Биомедицина*. 2006;2:40–52. [Kapanadze G.D. Ispol'zovanie miniaturnykh svinej v biomeditsinskih eksperimentah [The use of miniature pigs in biomedical experiments]. *Biomedicina* [Journal Biomed]. 2006;2:40–52. (In Russian)].
5. Капанадзе Г.Д., Ашуев Ж.А. Светлогорская популяция мини-свиней. *Биомедицина*. 2009;6:70–80. [Kapanadze G.D., Ashuev Zh.A. Svetlogorskaya populyaciya mini-svinej [Svetlogorsk mini-pig population]. *Biomedicina* [Journal Biomed]. 2009;6:70–80. (In Russian)].
6. Каркищенко Н.Н. *Основы биомоделирования*. М.: Изд-во ВПК, 2004:607. [Karkischenko N.N. *Osnovy biomodelirovaniya* [Fundamentals of biomodelling]. Moscow: VPK Publ., 2004:607. (In Russian)].
7. Каркищенко Н.В., Петрова Н.В., Станкова Н.В., Слободенюк В.В., Алимкина О.В., Кулакова М.И., Васильева И.А. Исследование и оценка молекулярно-генетических признаков экспрессии гена *NFE2L2* при адаптации к физическим нагрузкам у мини-пиггов. *Биомедицина*. 2020;16(1):42–52. [Karkischenko V.N., Petrova N.V., Stankona N.V., Slobodenyuk V.V., Alimkina O.V., Kulakova M.I., Vasilyeva I.A. Issledovanie i ochenka molekulyarno-geneticheskikh priznakov ekspressii gena *NFE2L2* pri adaptacii k fizicheskim nagruzkam u mini-pigov [Study and evaluation of molecular genetic signs of the *NFE2L2* gene expression during adaptation to physical loads in mini pigs]. *Biomeditsina* [Journal Biomed]. 2020;16(1):42–52. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-16-1-42-55.
8. Каркищенко Н.В., Болотских Л.А., Капанадзе Г.Д., Каркищенко Н.Н., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Матвеев Е.Л., Петрова Н.В., Рябых В.П., Ревякин А.О., Станкова Н.В., Семёнов Х.Х. Соз-

- дание линий трансгенных животных-моделей с генами человека *NAT1* и *NAT2*. *Биомедицина*. 2016;(1):74–84. [Karkischenko V.N., Bolotskih L.A., Kapanadze G.D., Karkischenko N.N., Koloskova E.M., Maksimenko S.V., Matveyenko E.L., Petrova N.V., Ryabih V.P., Revyakina A.O., Stankova N.V., Semenov Kh.Kh. Sozdanie linij transgennyh zhivotnyh-modelej s genami cheloveka *NAT1* i *NAT2* [Creation of transgenic animal model lines with human *NAT1* and *NAT2* genes]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2016;1:74–84. (In Russian)].
9. Каркищенко Н.Н., Глотова Е.С., Петрова Н.В., Слободенюк В.В., Ларюшина Н.А., Петров Д.В., Васильева И.А., Дерябин К.Е. Генетический скрининг новой трансгенной гуманизированной по HLA-A*02:01:01:01 и hβ2m линии мышей. *Биомедицина*. 2023;19(3E):10–24. [Karkischenko N.N., Glotova E.S., Petrova N.V., Slobodenyuk V.V., Laryushina N.A., Petrov D.V., Vasil'eva I.A., Deryabin K.E. Geneticheskij skрининг novej transgennoj gumanizirovannoj po HLA-A*02:01:01:01 i hβ2m linii myshej [Genetic Screening of a New Transgenic Mouse Line Humanized for HLA-A*02:01:01:01 and hβ2m]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2023;19(3E):10–24. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2713-0428-19-3E-10-24.
 10. Каркищенко Н.Н., Капанадзе Г.Д., Петрова Н.В. Новая модель оценки избирательной токсичности антибластомных средств на трансгенных мышях с генами *Nat1* homo человека. *Биомедицина*. 2015;3:4–19. [Karkischenko N.N., Kapanadze G.D., Petrova N.V. Novaya model' ocenki izbiratel'noj toksichnosti antiblastomnyh sredstv na transgennyh myshah s genami *Nat1* homo cheloveka [A new model for assessing selective toxicity of antitumor agents in transgenic mice with human *Nat1* homo genes]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2015;3:4–19. (In Russian)].
 11. Каркищенко В.Н., Петрова Н.В., Савченко Е.С., Огнева Н.С., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Манувера В.А., Бобровский П.А., Лазарев В.Н. Создание полных гибридных ДНК-конструкций с геном человека *HLA-A*02:01:01:01*. *Биомедицина*. 2021;17(1):10–23. [Karkischenko V.N., Petrova N.V., Savchenko E.S., Ogneva N.S., Koloskova E.M., Maksimenko S.V., Manuvera V.A., Bobrovsky P.A., Lazarev V.N. Sozdanie polnyh gibridnyh DNK-konstrukcij s genom cheloveka *HLA-A*02:01:01:01* [Chimeric Construct Engineering with Human Variant *HLA-A*02:01:01:01*]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2021;17(1):10–23. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-17-1-10-23.
 12. Каркищенко Н.Н., Рябых В.П., Каркищенко В.Н., Колоскова Е.М. Создание гуманизированных мышей для фармакотоксикологических исследований (успехи, неудачи и перспективы). *Биомедицина*. 2014;1(3):4–22 [Karkischenko N.N., Ryabih V.P., Karkischenko V.N., Koloskova E.M. Sozdanie gumanizirovannyh myshej dlya farmakotoksikologicheskikh issledovanij (uspehi, neudachi i perspektivy) [Creation of humanised mice for pharmacotoxicological studies (successes, failures and prospects)]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2014;1(3):4–22. (In Russian)].
 13. Кит О.И., Максимов А.Ю., Протасова Т.П., Гончарова А.С., Кутилин Д.С., Лукбанова Е.А. Гуманизированные мыши: методы получения, модели и использование в экспериментальной онкологии (обзор). *Биомедицина*. 2019;15(4):67–81. [Kit O.I., Maksimov A.Yu., Protasova T.P., Goncharova A.S., Kutilin D.S., Lukbanova E.A. Gumanizirovannye myshi: metody polucheniya, modeli i ispol'zovanie v eksperimental'noj onkologii (obzor) [Humanized Mice: Creation, Models and Use in Experimental Oncology (Review)]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2019;15(4):67–81. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-15-4-67-81.
 14. Петрова Н.В., Скрипкина М.М. Особенности организации содержания и выведения трансгенных линий мышей в НЦБМТ ФМБА России. *Биомедицина*. 2021;17(3E):70–75. [Petrova N.V., Skripkina M.M. Osobennosti organizacii soderzhaniya i vyvedeniya transgennyh linij myshej v NCzBMT FMBA Rossii [Maintenance and Breeding of Transgenic Mouse Strains at the Scientific Center of Biomedical Technologies of the FMBA of Russia]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2021;17(3E):70–75. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2713-0428-17-3E-70-75.
 15. Станкова Н.В., Алимкина О.В., Помыткин И.А., Каркищенко В.Н. Анализ изменений базовых показателей биологических сред мини-пиггов, перенёсших экстремальные физические нагрузки. *Биомедицина*. 2022;18(4):39–47. [Stankova N.V., Alimkina O.V., Pomytkin I.A., Karkischenko V.N. Analiz izmenenij bazovyh pokazatelej biologicheskikh sred mini-pigov, perenysshih ekstremal'nye fizicheskie nagruzki [Analysis of Variations in the Basic Indicators of Mini Pigs under Extreme Physical Exertion]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2022;18(4):39–47. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-18-4-39-47.
 16. Flisikowska T., et al. A humanized minipig model for the toxicological testing of therapeutic recombinant antibodies. *Nature Biomedical Engineering*. 2022;6:1248–1256. DOI: 10.1038/s41551-022-00921-2.
 17. Jeong Y.-H., Park C.-H., Jang G.-H., Jeong Y.-I., Hwang I.-S., Yw J.-w., Kim Y.-K., Shin T., Kim N.-H., Hyun S.-H., Jeung E.-B., Hwang W.-S. Production of Multiple Transgenic Yucatan Miniature Pigs Expressing Human Complement Regulatory Factors, Human CD55, CD59, and H-Transferase Genes. *PLoS One*. 2013;8(5):e63241. DOI: 10.1371/journal.pone.0063241.
 18. Kong S., Ruan J., Xin L., Fan J., Xia J., Liu Z., Mu Y., Yang S., Li K. Multi transgenic minipig models exhibiting potential for hepatic insulin resistance and pancreatic apoptosis. *Molecular medicine reports*. 2016;13(1):669–680. DOI: 10.3892/mmr.2015.4582.
 19. Ko N., Shim J., Kim H.-J., Lee Y., Park J.-K., Kwak K., Lee J.-W., Jin D.-I., Kim H., Choi K. A desirable transgenic strategy using GGTA1 endogenous promoter-mediated knock-in for xenotransplantation model. *Scientific Reports*. 2022;12(1):9611.

20. Lin C.C., Cooper D.K.C., Dorling A. Coagulation dysregulation as a barrier to xenotransplantation in the primate. *Transplant Immunology*. 2009;21(2):75–80.
21. Mayor S. Research bodies disappointed by decision to cancel primate research laboratory. *British Medical Journal*. 2004;328:306.
22. Morton D.B. The Welfare of Non-human Primates in Research in the EU. *ATLA*. 2004;32(Suppl. 1):307.
23. Pan D., Liu T., Lei T., Zhu H., Wang Y., Deng S. Progress in multiple genetically modified minipigs for xenotransplantation in China. *Xenotransplantation*. 2019;26(1):e12492.
24. Shi L., Luo X., Jiang J., Chen Y., Liu C., Hu T., Li M., Lin Q., Li Y., Huang J., Wang H., Niu Y., Shi Y., Styner M., Wang J., Lu Y., Sun X., Yu H., Ji W., Su B. Transgenic rhesus monkeys carrying the human MCPH1 gene copies show human-like neoteny of brain development. *National Science Review*. 2019;6(3):480–493. DOI: 10.1093/nsr/nwz043.
25. Tonelli C., Chio I.I.C., Tuveson D.A. Transcriptional Regulation by Nrf2. *Antioxid Redox Signal*. 2018;29(17):1727–1745. DOI: 10.1089/ars.2017.7342.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Алимкина Оксана Владимировна*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: alimkina@scbmt.ru

Oksana V. Alimkina*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: alimkina@scbmt.ru

Петрова Наталья Владимировна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

Nataliya V. Petrova, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

Станкова Наталия Владимировна, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: snv@scbmt.ru

Nataliia V. Stankova, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: snv@scbmt.ru

Фокин Юрий Владимирович, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: fokin@scbmt.ru

Yuriy V. Fokin, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: fokin@scbmt.ru

Глотова Елена Сергеевна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: savelaine@gmail.com

Elena S. Glotova, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: savelaine@gmail.com

Ларюшина Надежда Андреевна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: kichi09@mail.ru

Nadezhda A. Laryushina, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: kichi09@mail.ru

Васильева Ирина Андреевна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: rozhtsul@mail.ru

Irina A. Vasil'eva, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: rozhtsul@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author