

ПОСЛЕДСТВИЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ *LEPR* У КРОЛИКА (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*)

Д.В. Попов*, О.И. Скобель, Д.Э. Высоцкий, Г.Ю. Косовский

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт пушного звероводства
и кролиководства имени В.А. Афанасьев»

140143, Российская Федерация, Московская обл., Раменский р-н, п. Родники, ул. Трудовая, 6

С использованием метода генного редактирования CRISPR/Cas и репродуктивных биотехнологий получены кролики с нокаутом гена рецептора системного регулятора метаболизма липидов — лептина (*lepr*). Выполненные с помощью клинической лабораторной и функциональной диагностики исследования позволили получить данные физиологических показателей и выявить некоторые последствия генного редактирования *lepr* у домашнего кролика. Полученные результаты свидетельствуют, что домашние кролики с нокаутом *lepr* могут служить биомедицинской моделью морбидного ожирения и метаболических нарушений, обусловленных мутациями в гене рецептора лептина.

Ключевые слова: нокаут, CRISPR/Cas, *lepr*, лептин, кролик

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование выполнено в рамках Государственного задания по теме НИР № FGGR-2024-0004.

Благодарности: работа выполнена с использованием УНУ «Коллекция линий генно-редактированных кроликов» ФГБНУ НИИПЗК.

Для цитирования: Попов Д.В., Скобель О.И., Высоцкий Д.Э., Косовский Г.Ю. Последствия редактирования *lepr* у кролика (*Oryctolagus cuniculus*). Биомедицина. 2025;21(4):22–26. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-4-22-26>

Поступила 02.04.2025

Принята после доработки 02.09.2025

Опубликована 10.12.2025

EFFECTS OF *LEPR* EDITING IN RABBITS (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*)

Dmitry V. Popov*, Olga I. Skobel, Denis E. Vysotskii, Gleb Yu. Kosovsky

V.A. Afanasyev Research Institute of Fur Farming and Rabbit Breeding

140143, Russian Federation, Moscow Region, Ramenskiy District, Rodniki Village, Trudovaya Str., 6

The CRISPR/Cas gene editing method and reproductive biotechnologies were used to create rabbits with a knockout of the gene for the receptor of the systemic regulator of lipid metabolism – leptin (*lepr*). Studies performed with clinical laboratory and functional diagnostics provided data on physiologic parameters and revealed some effects of *lepr* editing in the domestic rabbit. The results suggest that domestic rabbits with *lepr* knockout may serve as a biomedical model of morbid obesity and metabolic disorders caused in the leptin receptor gene.

Keywords: knockout, CRISPR/Cas, *lepr*, leptin, rabbit

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

Funding: the study was performed within the framework of the State assignment under the R&D topic No. FGGR-2024-0004.

Acknowledgments: the work was carried out with the use of LSRF “Collection of gene edited rabbits’ lines”.

For citation: Popov D.V., Skobel O.I., Vysotskii D.E., Kosovsky G.Yu. Effects of *lepr* Editing in Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal Biomed.* 2025;21(4):22–26. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-4-22-26>

Submitted 02.04.2025

Revised 02.09.2025

Published 10.12.2025

Введение

Методы генного и геномного редактирования формируют относительно новое направление моделирования различных патологий и, соответственно, исследований генов и генных ансамблей, вовлеченных в формирование фенотипических признаков. Особый интерес для генного редактирования представляют гены, вовлеченные в фундаментальные метаболические пути общего метаболизма млекопитающих, такие, в частности, как ген рецептора системного регулятора роста и метаболизма липидов лептина, рецептор лептина (*lepr*). Этот ген перекрывается с геном *lepr*, продукт которого участвует в контроле транспорта рецепторов лептина и соматотропного гормона к плазматической мембране, оба гена входят в тесный контакт с эволюционно консервативными по синтезу и генетическому сцеплению блоками из нескольких десятков генов. Гены этих блоков участвуют в фундаментальных внутриклеточных процессах (в работе сигнальных систем, регуляции транскрипции, сплайсинге, функциях, ассоциированных с цитоскелетом моторных белков, реакции на стресс и повреждения ДНК), а также связаны с высшей нервной деятельностью, что увеличивает вероятность негативных последствий редактирования гена *lepr* [4]. В результате совместных исследований с Институтом биологии гена РАН на базе ФГБНУ НИИПЗК впервые созданы кролики с нокаутом гена *lepr*, позволяющие оценить фенотипические последствия редактирования этого гена [5].

Цель работы — оценить фенотипические проявления у кроликов поколения F0, ассоциированные с нокаутом *lepr*.

Материалы и методы

Исследования проведены на трех кроликах с нокаутом гена *lepr* (1 самец и 2 самки, возраст 5 мес.), полученных от кросса кроликов Родник [1] с использованием системы CRISPR/Cas9 [5] и репродуктивных биотехнологий, в качестве контроля взяты кролики исходной породы дикого типа. Выполнены лабораторные анализы крови: общий клинический анализ, биохимический анализ крови, в т.ч. углеводный обмен, липидный спектр и печеночный профиль. Кровь отбирали из ушной вены в пробирки с ЭДТА и с фактором свертываемости. Ультразвуковое исследование (обзорное УЗИ органов брюшной полости, забрюшинного пространства, трансторакальная эхокардиография) проводили с использованием аппарата SonoScape. Функциональные обследования выполнены у животных без применения седации, фиксировали с помощью ассистента. Состояние глазного дна оценено методом прямой офтальмоскопии с применением офтальмоскопа Heine 200 BETA, линз 20 и 40 диоптрий в стандартном белом освещении и с зеленым фильтром в условиях медикаментозного мидриаза (*Sol. Midriacil 0,01%* по 1 капле). Для оценки тяжести ретинопатии применена классификация Исследовательской группы по изучению раннего лечения диабетической ретинопатии (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, ETDRS).

Результаты и их обсуждение

Общеклинический анализ крови животных группы с подтверждённым нокаутом *lepr* продемонстрировал сниженную концентрацию всех клеток миелоцитарного и лимфоцитарного ряда с развитием клинически значимой тромбоцитопении, лейкопении, а также снижением уровня всех клеток гранулоцитарного ряда. Отмечалось незначительное снижение уровня эритроцитов и гемоглобина (анемия легкой степени), при этом цветовой показатель и ширина распределения эритроцитов по объему значимо не отличались, эритроциты у животных с нокаутом *lepr* характеризовались меньшим объемом и большей концентрацией гемоглобина. Выявленные гематологические изменения позволяют предположить значимую роль рецептора лептина в гемопоэзе и регуляции клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Электрофоретический анализ гемоглобина животных контрольной группы и кроликов с подтверждённым нокаутом *lepr* продемонстрировал значительное преобладание не А-подтипа гемоглобина, что требует разработки альтернативных моделей оценки конечных продуктов гликирования. А-тип гемоглобина у всех животных характеризовался значительным преобладанием А0 (негликанизированного подтипа), при этом гликанизированная глюкозой фракция HbA1c, используемая для оценки нарушений углеводного обмена, достоверно не определялась. Гликированные фракции гемоглобина у всех животных были представлены HbA1a (гликанизование фруктозой-1,6-дифосфат и глюкозой-6-фосфат) и HbA1b (гликанизование пируватом). У животных с подтверждённым нокаутом *lepr* продемонстрированы более высокие относительные и абсолютные концентрации гликозилированных фракций гемоглобина. Уровень фруктозамина у животных группы *lepr* был ниже, чем у контрольных животных.

Биохимический анализ крови показал, что кролики с нокаутом *lepr* характеризовались развитием атерогенной дислипидемии с преимущественным повышением уровня триглицеридов и холестерина фракций не-ЛПВП и ЛПОНП, что соответствует показателям при высокожировых диетах [2]. Кроме того, животные с нокаутом *lepr* характеризовались снижением общего белка и уровня альбумина, а также ГГТ и щелочной фосфатазы, повышением печёночных трансаминаз по сравнению с контролем, что может отражать вовлечённость пластической функции печени, включая синтез белка и желчных кислот в результате развития метаболически-ассоциированной болезни печени.

Ультразвуковое исследование внутренних органов самца с нокаутом *lepr* показало, что чашечно-лоханочная система мозгового вещества почки гипоэхогенна, однородна, конкременты не визуализируются. Отмечается увеличение почечной капсулы за счет жировой клетчатки, а также повышенная толщина подкожного жира. Структура печени неоднородна с гиперэхогенными включениями, печеночные сосуды нормальной эхоструктуры, с гиперэхогенной утолщенной стенкой, просвет гипоэхогенный, однородный. Жировая капсула печени утолщена. Отмечается диффузное неоднородное повышение эхогенности (жировой гепатоз). При исследовании сердца в полости левого желудочка в период систолы выявлена умеренная концентрическая гипертрофия с повышением толщины стенки миокарда левого желудочка и межжелудочковой перегородки, повышение эхогенности, утолщение перикарда за счет утолщения жировой капсулы. При ультразвуковом исследовании сердца в стадии протодиастолы наблюдали полное раскрытие клапанов полой вены и легочных вен, утолщение стенок, повышение эхогенности сосудистых пучков. При трансабдоминальном УЗИ кишечника линей-

ным трансдуктором выявлено увеличение в размерах большого сальника, висцерального жира. В общем, при ультразвуковом исследовании абдоминальных и торакальных отделов у кролика с нокаутом гена *lepr* обнаружено множественное скопление жировых отложений вокруг внутренних органов, что подтверждает имеющиеся нарушения липидного и углеводного обмена.

Мышей с мутацией в гене *lepr* используют в качестве модели для изучения диабетической ретинопатии, одного из наиболее распространенных осложнений, связанных с диабетом как 1-го, так и 2-го типа, и являющегося основной причиной слепоты во всем мире [3]. Для проверки наличия аналогичного осложнения у кроликов проведена офтальмоскопия самки с нокаутом гена *lepr*, при которой визуализированы извитой ход артерий сетчатки, микроаневризмы артерий сет-

чатки. Картинка глазного дна у самки кролика соответствовала начальной стадии непролиферативной диабетической ретинопатии (ETDRS 30), гипертонической ангиопатии.

Заключение

Таким образом, генно-редактированные по гену *lepr* кролики с помощью системы CRISPR/Cas9 по ряду фенотипических характеристик демонстрируют большую близость к человеку по сравнению с другими традиционными моделями нарушений липидного обмена, что позволяет использовать их в целях имитации и коррекции ряда отдельных метаболических нарушений, обусловленных мутациями в гене рецептора лептина человека, а также исследований влияния отдельных генов на метаболические пути и их фенотипическое проявление у млекопитающих.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Шумилина А.Р. Динамика продуктивных показателей кроликов при создании финального трехпородного кросса. *Кролиководство и звероводство*. 2019;6:9–15. [Shumilina A.R. Dinamika produktivnyh pokazatelej krolikov pri sozdaniii final'nogo trehporodnogo krossa] [The dynamics of rabbit productive indicators at the creation of the final three-breed cross]. *Krolikovodstvo i zverovodstvo [Rabbit breeding and fur farming]*. 2019;6:9–15. (In Russian)]. DOI: 10.24418/KIPZ.2019.6.0002.
2. Alarcon G., et al. High fat diet-induced metabolically obese and normal weight rabbit model shows early vascular dysfunction: mechanisms involved. *Int. J. Obes (Lond)*. 2018;42(9):1535–1543. DOI: 10.1038/s41366-019-0020-6.
3. Dharmarajan S., Carrillo C., Qi Z., Wilson J.M., Baucum A.J. 2nd, Sorenson C.M., Sheibani N., Belecky-Adams T.L. Retinal inflammation in murine models of type 1 and type 2 diabetes with diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 2023;66(11):2170–2185. DOI: 10.1007/s00125-023-05995-4.
4. Kosovsky G.Yu., Skobel O.I., Glazko T.T. Potential sources of negative effects of gene editing in animals. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2024;59(6):1118–1130. DOI: 10.15389/agrobiology.2024.6.1118eng.
5. Silaeva Y.Y., Safonova P.D., Popov D.V., et al. Generation of LEPR Knockout Rabbits with CRISPR/CAS9 System. *Dokl. Biol. Sci.* 2024;518:248–255. DOI: 10.1134/S0012496624600234

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Попов Дмитрий Владимирович*, к.б.н., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»;
e-mail: popov.bio@gmail.com

Dmitry V. Popov*, Cand. Sci. (Biol.), V.A. Afanasyev Research Institute of Fur Farming and Rabbit Breeding;
e-mail: popov.bio@gmail.com

Скобель Ольга Игоревна, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»;
e-mail: skobelolga@gmail.com

Высоцкий Денис Эдуардович, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»;

e-mail: visotskiydenis@mail.ru

Косовский Глеб Юревич, д.б.н., чл.-корр. РАН, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»;

e-mail: niipzk@mail.ru

Olga I. Skobel, V.A. Afanasyev Research Institute of Fur Farming and Rabbit Breeding;
e-mail: skobelolga@gmail.com

Denis E. Vysotskii, V.A. Afanasyev Research Institute of Fur Farming and Rabbit Breeding;

e-mail: visotskiydenis@mail.ru

Gleb Yu. Kosovsky, Dr. Sci. (Biol.), Corr. Member of the Russian Academy of Sciences, V.A. Afanasyev Research Institute of Fur Farming and Rabbit Breeding;

e-mail: niipzk@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author