

Izmēģinājuma projekta „Ģenētiski pārveidotu dzīvnieku pavairošana un fenotipēšana” netehniskais kopsavilkums

Projekta mērķis ir pavairot ģenētiski pārveidotas vai orgānu specifiski izmainītas (himēriskas) peļu līnijas un veikt to fenotipēšanu, lai pētītu kardiovaskulāro, metabolo traucējumu un neurodeģeneratīvo saslimšanu attīstības mehānismus un rastu jaunas ārstēšanas iespējas. Kardiovaskulārā saslimšana pēdējos gados ir dramatiski pieaugusi, tā tiek diagnosticēta katram piektajam iedzīvotājam. Šobrīd kardiovaskulāro slimību pētīšanai visbiežāk izmantoto ķirurģiski vai farmakoloģiski izveidotos modeļus, kuros galvenokārt tiek izmantotas žurkas, kāmi un suņi. Neurodeģeneratīvās slimību skaits dramatiski pieaug populācijai novecojoties. Tiek prognozēts, ka 2050. gadā personas, kurām tiks diagnosticētas neurodeģeneratīvās slimības dubultosies, kas varētu būt 2 miljardi cilvēki, salīdzinot ar 2017. gadu. Līdz ar to noskaidrot mehānismus kardiovaskulāro un neurodeģeneratīvo slimību izraisīšanā ir aktuāla tēma. Līdz šim ģenētiski pārveidotu dzīvnieku izmantošana ir izrādījies ļoti vērtīgs instruments, lai modelētu zināmas cilvēku ģenētiskās vai dzīves laikā iegūtās slimības un meklētu tām atbilstošu ārstēšanu. Peles ir labs zīdītāju modeļorganisms, tajā skaitā cilvēku, jo 92% no cilvēku gēniem ir atrodami peļu gēnu analogi. Projektā paredzēts pētīt dažādas ģenētiski pārveidotas peļu līnijas (piemēram, karnitīna palmitoiltransferāzes 2 (*CPT2*), trimetilizīna hidroksilāzes (*TMLHE*) un Sigma-1 receptora), tām veikt fenotipēšanu, nosakot gan peļu izskatu, gan uzvedību, gan funkcionālos rādītājus, gan skeleta un bioķīmisko rādītāju izmaiņas. Projektā 5 gadu laikā tiks izmantotas 1430 peles.

Ieguvums, veicot izmēģinājuma projekta izstrādi. Projektā paredzēts pavairot vairākas ģenētiski pārveidotas peļu līnijas, kas varētu būt saistītas arī sirds-asinsvadu, metabolā sindroma un neiroloģisko slimību attīstību. Izmantojot ģenētiski pārveidotu peļu līnijas būs iespējams noskaidrot attiecīgo gēnu funkcijas dažādos audos, kā sirds, aknas, smadzenes. Zināms, ka *TMLHE* enzīma aktivitāte varētu būt saistīta ar sirds-asinsvadu un metabolā sindroma slimību aizkavēšanu, respektīvi sagaidāms, ka dzīvnieki būs labāk aizsargāti pret išēmiju un metabolo stresu. *CPT2* aktivitāti saista ar metabolo slimību attīstību, kas ir būtisks 2. tipa diabēta attīstības veicinātājs. Sigma-1 receptora darbību saista ar nervu sistēmu regulējošu darbību. Noskaidrojot pētāmo gēnu nozīmi ģenētiski izmainītajos dzīvniekos, iegūtie rezultāti ļaus labāk saprast, piemēram, sirds mazspējas attīstību, epileptoģenēzi, atrast jaunus zāļu mērķus kardiovaskulāro un neurodeģeneratīvo slimību gadījumā.

Paredzamais kaitējums dzīvniekiem saistīts ar iespējamu diskomfortu un sāpēm, jo tiks pārgriezta dzīvnieka āda, muskuļi, izmēģinājuma laikā. Tāpēc, lai maksimāli novērstu iespējamo diskomfortu un sāpes, ķirurģisku manipulāciju laikā izmēģinājuma dzīvnieki tiks anestezēti, izmantojot izoflurānu, kas nodrošina dziļu narkozi un vieglu tās vadāmību. Atsāpīnāšanai izmēģinājuma dzīvniekiem tiks izmantots karpofēnu injekcijas operācijas laikā. Izmēģinājuma dzīvniekiem tiks ņemti asins paraugi bioķīmisko mērījumu veikšanai un audu paraugs no auss priekš genotipēšanas. Projekta ietvaros pētāmiem ģenētiski pārveidotajiem dzīvniekiem varētu attīstīties sirds mazspēja, insulīna rezistence, aptaukošanās, izpausties ar autismu saistītas uzvedības izpausmes, izmainīta sāpju sajūta

un traucētiem atmiņas procesi. Projekta ietvaros nav paredzēts izveidot ģenētiski pārveidotus dzīvniekus ar smagiem funkcionāliem traucējumiem. Tiks ievēroti 3R pamatprincipi. Izmēģinājumos ar dzīvniekiem plānots izmantot minimāli nepieciešamo dzīvnieku skaitu, kas ir pietiekams objektīvu un statistiski ticamu pētījuma rezultātu iegūšanai.

Lai arī zinātnē ienāk arvien jaunas *in silico* un *in vitro* metodes, tomēr šobrīd esošo zināšanu apjoms neļauj pilnībā izvairīties no laboratorijas dzīvnieku izmantošanas. Turklāt dažādiem eikariotu modeļorganismiem novēro atšķirīgu cilvēkam analogo gēnu daudzumu, piemēram, augļu mušiņām (*Drosophila melanogaster*) – 44% un raugiem (*Saccharomyces cerevisiae*) – 25%, bet pelēm ar cilvēku ir 92% analogo gēnu. Dzīvnieku organismā pētāmie gēni parasti tiek atšķirīgi ekspresēti dažādos audos un attiecīgi arī orgānos (piemēram, gremošanas, nervu, asinsrites) un rezultātā novērotie organisma līmeņa efekti atšķiras no atsevišķu šūnu grupu reprezentētajiem rezultātiem *in vitro*. Tādējādi izmainītu gēnu darbību ietekmi uz fizioloģiskiem un patofizioloģiskiem procesiem organismā pilnvērtīgi iespējams konstatēt tikai *in vivo* eksperimentos. Dzīvnieku modeļi palīdz noskaidrotu proteīna nozīmi ne tikai šūnu vai audu (kā tas būtu *in vitro* metožu gadījumā), bet gan visa organisma kontekstā. Šīs iegūtās zināšanas ļaus mērķtiecīgāk izprast noteiktu mērķgēnu nozīmi organismā, kā arī izstrādāt jaunus savienojumus mūsdienu modernajā pasaulē izplatīto, reto un nāvējošo saslimšanu ārstēšanai. Pabeidzot *in vivo* eksperimentus, tiks pielietotas turpmākas alternatīvās jeb *ex vivo* metodes: veicot audu histoloģiskās, imunohistoķīmiskās un gēnu ekspresijas un dažādu faktoru sekrēcijas analīzes audos.

Lai izvairītos no datu dublēšanas, pirms projekta izstrādes, plaši tika izpētītas datu bāzes: Scopus, PubMed, Sciencedirect, GoogleScholar, Web of Science. Veikto eksperimentu rezultāti regulāri tiks publicēti starptautiskajos recenzētajos izdevumos, kongresos un konferencēs, lai informētu iespējami plašāku zinātnieku loku, tādējādi samazinot kopējo eksperimentos izmantojamo dzīvnieku skaitu un procedūru dublēšanu.