

Poglavje 3

Prašič kot modelni organizem za študij bolezni

Daša Jevšinek Skok^{1,2}, *Franja Prosenč*¹, *Milena Kovač*¹, *Tanja Kunej*¹

Izvleček

V prispevku je kratek prikaz uveljavitev prašiča kot biomedicinskega modelnega organizma. Vseh bolezni oz. biomedicinskih tematik ne moremo raziskovati le na miših in podganah, saj glodalci pogosto ne razvijejo bolezni, ki se pojavljajo pri ljudeh. Prašič je zelo dober modelni organizem predvsem zaradi fiziološke in genetske podobnosti s človekom ter zaradi podobnega napredovanja bolezni. Na prašičjem modelu raziskujejo fiziologijo srca, reproduktivne funkcije, transplantacije, fiziologijo prebavil in prehrano, tkivni inženiring, respiratorne in druge funkcije. Med domačimi živalmi se je prašič izkazal kot najboljši model tudi za melanom, saj se pri njem bolezen pojavlja precej pogosto ter spontano.

Ključne besede: prašič, biomedicinski model, modelni organizem, biomedicinske raziskave

Abstract

Title of the paper: **Pig as model organism for disease research.**

This article shortly reviews applications of pig as a biomedical model organism. Rodents often do not develop diseases that occur in humans, therefore, not all diseases or biomedical issues can be studied in mice and rats. Pig represents a very good model organism because of its physiological and genetic similarities to humans and most importantly because of its similar disease progression. Swine model is used for studying heart physiology, reproductive functions, transplantation, gut physiology and nutrition, tissue engineering, respiratory functions and many others. Among domestic animals is pig the most appropriate model for melanoma, because of high occurrence of spontaneous melanomas.

Keywords: pig, biomedical model, model organism, biomedical research

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale

²E-pošta: dasa.jevsinek.skok@bf.uni-lj.si

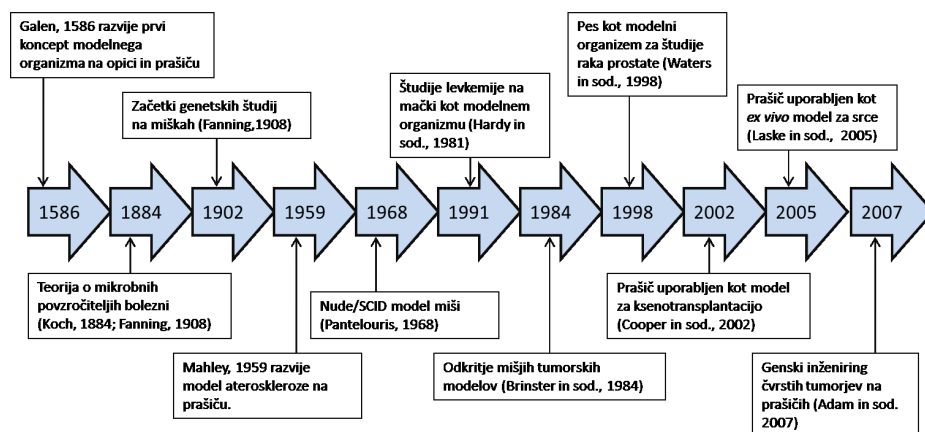
3.1 Uvod

Modelne organizme proučujemo kot model za človeka, ker je poseganje v človeka, brez predhodne utemeljitve na drugih sistemih, moralno in etično sporno. Poznamo modelne organizme za genomske študije, prehranske študije in metabolizem, fiziološke raziskave, proučevanje bolezni ter za predklinične raziskave farmacevtskih učinkovin. V splošnem proučevanje živalskih modelov za človeške bolezni znanstvenikom pomaga razumeti mehanizme, vpletene v nastanek bolezni, in tako poiskati rešitve in orodja za razvoj genskih terapij za ozdravitev te bolezni oz. stanja. Standardni modelni organizmi so: bakterija *Escherichia coli*, kvasovka *Saccharomyces cerevisiae*, glista *Caenorhabditis elegans*, vinska mušica *Drosophila melanogaster*, rastlina *Arabidopsis thaliana*, riba *Danio reiro* in miš *Mus musculus*. Nevretenčarji niso primerni kot model za bolezni človeka, so pa zelo uporabni za genetske študije. Za namen proučevanja bolezni pri človeku so se do nedavnega uporabljale predvsem glodalci (miši, podgane), zaradi njihove dobre plodnosti, ker so majhne, cenejše za vzrejo ter vzdrževanje v laboratoriju in ker so razviti standardni postopki za rokovanje z njimi. Kot modelni organizmi so se občasno uporabljali tudi hrčki, kunci, mačke in psi (de Almeida in Bendixen, 2012). Med domačimi živalmi so za biomedicinske raziskave že uveljavljeni prašiči, ovce, koze, govedo, v nekaterih primerih tudi konji (Purcell, 2010). Njihova prednost pred mišmi in podganami je, da so sistemsko bližje človeku in zato tudi anatomsko in fiziološko bolj podobne. Za razliko od večjih živali, miši in podgane pogosto ne razvijejo določenih bolezni, ki se pojavljajo pri človeku. Tako imenovane velike modelne živali v raziskavah niso tako pogoste predvsem zaradi potreb po večjem življenjskem prostoru. V večini primerov so takšne živali naseljene na obratih fakultet, nekakšnih laboratorijih (Purcell, 2010).

Namen prispevka je prikazati uporabnost prašiča kot primernega modelnega organizma za številne biomedicinske raziskave.

3.2 Kronološki pregled

Začetki uporabe živalskih modelov segajo v 16. stoletje (slika 1), ko je grški zdravnik in filozof Galen s študijami na opicah in prašičih razvil koncept živalskega modela za proučevanje fiziologije in anatomije človeka. Galenova teorija o neposrednem prenosu znanj z živali na človeka je veljala do leta 1865, ko je francoski fiziolog Claude Bernard objavil knjigo o eksperimentalni medicini, kjer je opisoval kemično in fizikalno sproženje bolezni (Kuzmuk in Schook, 2011). Še en francoski znanstvenik, ki je zagovarjal uporabo živalskih modelov v medicini, je bil Luise Pasteur. Z nemškimi znanstvenikom Robertom Kochom sta s teorijo o mikrobnih povzročiteljih bolezni predstavila koncept specifičnosti osebkov (Koch, 1884; Fanning, 1908). Koch je pri svojem delu z bakterijami (kolero in tuberkulozo) zagovarjal uporabo živalskih modelov za razvoj novih antibiotikov v 20. stoletju. Na koncu 20. in v začetku 21. stoletja so spoznali uporabnost naravno pojavljajočih se modelov, ki so nastali bodisi s spontanimi mutacijami bodisi z načrtnim spreminjanjem živalskega genoma. Povezava s sposobnostjo kloniranja živali je omogočila še nadaljnjo uporabo živali



Slika 1: Kronološki pregled uporabe modelnih organizmov (Galen, 1586; Koch, 1884; Fanning, 1908; Mahley in sod., 1975; Pantelouris, 1968; Hardy in sod., 1981; Brinster in sod., 1984; Waters in sod., 1998; Cooper in sod., 2002; Laske in sod., 2005; Adam in sod., 2007)

s fenotipskimi značilnostmi podobnimi človeškimi, kot pomembne živalske modele za študije človeških bolezni. Poleg študij na miškah, kjer so preučevali mišje tumorske modele in imunske pomanjkljivosti pri neodlakanih miškah in pasjih modelih za študije raka prostate, se je uporaba živalskih modelov za človeka razširila tudi na prašiče. S sekvenciranjem genoma živali s številnimi fiziološkimi značilnostmi človeka (npr. prašiča) je bil omogočen razvoj živalskega modela, ki je genetsko in fenotipsko podoben človeku z vidika bolezenskih značilnosti. Danes živalski modeli predstavljajo pomemben člen v verigi biomedicinskih raziskav.

3.3 Prednosti prašiča kot biomedicinskega modela

Že nekaj časa vemo, da nam prašiči ne služijo več samo za prehrano. Največji delež prašičev je še vedno namenjen prireji prašičjega mesa in izdelkov iz njega, vendar pa srečujemo prašiče tudi kot hišne ljubljence, za zabavo (tekmovanja), delavne živali (npr. za iskanje tartufov) in kot modelne organizme v raznih študijah.

Uporaba prašičev za modelne organizme pri proučevanju in razumevanju humanih bolezni je v vzponu. Ameriški nacionalni inštitut za zdravje (The National Institute of Health), v ta namen letno nameni čez 100 milijonov dolarjev za študije na prašičih. Ta sklad med drugim podpira študije bolezni srca in ožilja, kožnih bolezni, raka, sladkorne bolezni, presnovnih bolezni, kot tudi razvoj prašičjega modela za kirurške posege, s katerim v človeško telo presadimo žive celice ali organe živalskega izvora (ksenotransplantacije). Prašič je kot modelni organizem za človeka zanimiv predvsem zaradi bistveno večje fiziološke podobnosti s člo-



Slika 2: Prašič kot biomedicinski model (povzeto po Lunney, 2007 in Kuzmuk in Schook, 2011)

vekom kot glodalci (podgana, miš). Možnost genetskih sprememb v prašiču je dramatično povečalo njihovo uporabnost v raziskovalne namene (Prather, 2007).

Prašič je že desetletja pomemben biomedicinski modelni organizem. Slika 2 prikazuje široko zbirko biomedicinskih področij, na katerih se uporablja model prašiča. Nekatere od teh študij že uporabljajo genomski pristop, npr. srčni model, model melanoma in presaditve organov, druge pa so še na zgodnjih stopnjah potrditve prašičjih fizioloških parametrov in primernosti kot biomedicinskega modela za človeka (Lunney, 2007; Kuzmuk in Schook, 2011).

Nekateri najboljši primeri uporabe prašiča kot biomedicinskega modela so se razvili za bolezni, katerih pogostost se povečuje: ateroskleroze in diabetesa (Turk in Laughlin, 2004; Turk in sod., 2005). Aktualne so raziskave določitve vpliva genetskega ozadja in identifikacija vpliva prehrane, vadbe in jemanja zdravil na razvoj in potek bolezni. Na področju zdravljenja srčne kapi se uveljavljajo strategije obnove mioblastov (Opie in Dib, 2006) ter tkivnega inženiringa krvnih žil (Solan in Niklason, 2005). Testirajo možnosti umetnega dihanja in masaže srca (angl. *cardiopulmonary resuscitation* - CPR), zdravljenje prekatne fibrilacije in srčno-pljučnega obkoda na prašičih, saj je to težko raziskovati na ljudeh. Na prašičjih mode-

lih se proučuje tudi vpliv spreminjanja genoma živali (Gerrits in sod., 2005; Prather, 2007), osnovne interakcije med materjo in plodom (Green in sod., 2006), razvoj zarodka (Sun in Nagai, 2003; Rohrer in sod., 2006; Tayade in sod., 2006), funkcionalnost in kakovost semena (Strzezek in sod., 2005; Lavitrano in sod., 2006). Raziskave aktivno potekajo na področju osnovne biologije semena, kot je razporeditev kromosomov med razvojem semenčic (Foster in sod., 2005) in prenašanje nalezljivih bolezni s semenom (Wasilk in sod., 2004; Prieto in Castro, 2005).

Zaradi velikostne in fiziološke podobnosti s človekom je prašič postal model za tkivni inženiring in za slikovne (angl. *imaging*) študije. Razvili so vrsto slikovnih tehnik za slikanje delov človeškega telesa (vizualni prikaz strukturnih ali funkcionalnih vzorcev tkiv in organov) s prašičem kot pred-humanim validacijskim modelom. Primer uporabe slikovnih tehnik je zaznavanje hipotetičnega prvega limfnega vozla, ki ga dosežejo metastazne celice iz primarnega tumorja, kar je pomembno pri terapiji raka. Prašičji model je poučen tudi za vizualizacijo in operativne posege na debelem črevesju z laparoskopijo, kjer z optičnim instrumentom, uvedenim skozi trebušno steno, pregledamo trebušno votlino in njene organe, ki so za tak pregled dostopni (Ellner in sod., 2004; Goldberg in sod., 2004). S tkivnim inženirstvom, ki uporablja polimerne skelete (Moroni in sod., 2006), skušajo poiskati različne alternative, kot so hrustanec v meniskusu kolena in umetni mehur (Brown in sod., 2006).

Študije kože prašiča so bile do sedaj zelo informativne, posebno na področju melanoma. V teku so raziskave potencialnih učinkov celic naravnih ubijalk (NK) in celic T na zaviranje rasti tumorjev. Analizirajo prepustnost kože za različne kemikalije in biološke strupe (Hamamieh in sod., 2004), preučujejo fiziologijo prebavil in razvijanje probiotikov, z namenom zmanjšati uporabo antibiotikov v prašičji krmi, kot tudi za pomemben humani model. Del raziskav je osredotočenih na selekcijo probiotičnih sevov, na časovno usklajevanje in doziranje ter učinke tega še posebno pomembnega vidika za fiziologijo črevesja novorojencev (Lunney, 2007).

3.4 Zaključki

Proučevanje živalskih modelov za človeške bolezni znanstvenikom pomaga razumeti mehanizme vpletene v patogenezo bolezni in tako zagotavlja orodja za razvoj terapij za zdravljenje le-teh pri ljudeh. Hiter napredek v biomedicinskih raziskavah, največkrat izpeljanih na majhnih laboratorijskih glodalcih, je pripeljal do velikih količin eksperimentalnih podatkov. Preden to na novo pridobljeno znanje najde pot v načrtovanje novih terapij, moramo preveriti veljavnost raziskav tudi na modelnih organizmih, ki so bolj sorodni človeku. Glede na navedene primere, se lahko strinjamo, da bi lahko bil ta model prašič. V primerjavi s primati, primarnimi kandidatnimi vrstami za premostitev te vrzeli, so prašiči cenejši in bolj primerni za vzdrževanje v kontroliranih pogojih. Velikost in anatomija prašičev ter podobnost drugih pomembnih značilnosti s človekom pomenijo, da lahko zagotovijo odlično orodje za raziskovanje bolezni. Seveda obstaja tudi nekaj ključnih omejitev za uporabo prašičev kot modelnih organizmov, najbrž je najpomembnejša pomanjkanje primernih reagentov. Pomanjkanje reagentov pa bo z napredujočo tehnologijo kmalu postalo manj pomembno. Na prihodnost

velikih živalskih modelov bo močno vplival razvoj tehnologij za produkcijo kloniranih živali, kot tudi živali z izbitim genom (angl. *knock-out*) ter velikih transgenih živali. Prihaja nova doba, v kateri bo biotehnologija omogočila kreiranje živalskih modelov za specifične biomedicinske izzive.

3.4 Viri

- Adam S.J., Rund L.A., Kuzmuk K.N., Zachary J.F., Schook L.B., Counter C.M. 2007. Genetic induction of tumorigenesis in swine. *Oncogene*, 26: 1038–1045.
- Brinster R.L., Chen H.Y., Messing A., Van Dyke T., Levine A.J., Palmiter R.D. 1984. Transgenic mice harboring sv40 t-antigen genes develop characteristic brain tumors. *Cell*, 37: 367–379.
- Brown A.L., Srokowski E.M., Shu X.Z., Prestwich G.D., Woodhouse K.A. 2006. Development of a model bladder extracellular matrix combining disulfide cross-linked hyaluronan with decellularized bladder tissue. *Macromol. Biosci.*, 6: 648–657.
- Cooper D., Gollackner B., Sachs D. 2002. Will the pig solve the transplantation backlog? *Annu. Rev. Med.*, 53: 133–147.
- de Almeida A.M., Bendixen E. 2012. Pig proteomics: A review of a species in the crossroad between biomedical and food science. *J. Proteomics.*, 75: 4296–4314.
- Ellner S.J., Mendez J., Vera D.R., Hoh C.K., Ashburn W.L., Wallace A.M. 2004. Sentinel lymph node mapping of the colon and stomach using lymphoseek in a pig model. *Ann. Surg. Oncol.*, 11: 674–681.
- Fanning W. 1908. *The Catholic Encyclopedia*. New York, Robert Appleton Company: 1–88.
- Foster H.A., Abeydeera L.R., Griffin D.K., Bridger J.M. 2005. Non-random chromosome positioning in mammalian sperm nuclei, with migration of the sex chromosomes during late spermatogenesis. *J. Cell. Sci.*, 118: 1811–1820.
- Galen 1586. *Galen Librorum Quarta Classis*. Apud Iuntas, Venetijs [Venice].
- Gerrits R.J., Lunney J.K., Johnson L.A., Pursel V.G., Kraeling R.R., Rohrer G.A., Dobrinsky J.R. 2005. A vision for artificial insemination and genomics to improve the global swine population. *Theriogenology*, 63: 283–299.
- Goldberg B.B., Merton D.A., Liu J.B., Thakur M., Murphy G.F., Needleman L., Tornes A., Forsberg F. 2004. Sentinel lymph nodes in a swine model with melanoma: contrast-enhanced lymphatic ultrasonography. *Radiology*, 230: 727–734.
- Green J.A., Kim J.G., Whitworth K.M., Agca C., Prather R.S. 2006. The use of microarrays to define functionally-related genes that are differentially expressed in the cycling pig uterus. *Reprod. Suppl.*, 62: 163–176.

- Hammamieh R., Bi S., Das R., Neill R., Jett M. 2004. Modeling of SEB-induced host gene expression to correlate in vitro to in vivo responses. *Biosens. Bioelectron.*, 20: 719–727.
- Hardy, jr. W.D., McClelland A.J., Zuckerman E.E., Snyder, jr. H.W., MacEwen E.G., Francis D., Essex M. 1981. Feline leukemia virus nonproducer lymphosarcomas of cats as a model for the etiology of human leukemias. *Haematol. Blood. Transfus.*, 26: 492–494.
- Koch R. 1884. Die Aetiologie der Tuberkulose. *Mitt Kaiser Gesundh* 2: 1–88.
- Kuzmuk K.N., Schook L.B. 2011. *Pigs as a Model for Biomedical Science. V: The genetics of the pig*, 2nd Ed. Rothschild, M.F. (ed.), Ruvinsky, A.(ed.): Wallingford, CAB International.: 426–444.
- Laske T., Skadsberg N., Iaizzo P. 2005. A novel ex vivo heart model for the assessment of cardiac pacing systems. *J. Biomed. Eng.*, 127: 894–898.
- Lavitrano M., Busnelli M., Cerrito M.G., Giovannoni R., Manzini S., Vargiolu A. 2006. Sperm-mediated gene transfer. *Reprod. Fert. Develop.*, 18: 19–23.
- Lunney K.J. 2007. Advances in Swine Biomedical Model Genomics. *Int. J. Biol. Sci.*, 3: 179–184.
- Mahley R.W., Weisgraber K.H., Innerarity T., Brewer H.B.J., Assmann G. 1975. Swine lipoproteins and atherosclerosis. Changes in the plasma lipoproteins and apoproteins induced by cholesterol feeding. *Biochemistry*, 14: 2817–2823.
- Moroni L., Poort G., Van Keulen F., de Wijn J.R., van Blitterswijk C.A. 2006. Dynamic mechanical properties of 3D fiber-deposited PEOT/PBT scaffolds: an experimental and numerical analysis. *J. Biomed. Mater. Res.*, 78: 605–614.
- Opie S.R., Dib N. 2006. Surgical and catheter delivery of autologous myoblasts in patients with congestive heart failure. *Nat. Clin. Pract. Card.*, 3: 42–45.
- Pantelouris E.M. 1968. Absence of thymus in a mouse mutant. *Nature*, 217: 370–371.
- Prather R.S. 2007. Nuclear remodeling and nuclear reprogramming for making transgenic pigs by nuclear transfer. *Adv. Exp. Med. Biol*, 591: 1–13.
- Prieto C., Castro J.M. 2005. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in the boar: a review. *Theriogenology*, 63: 1–16.
- Purcell S. 2010. We're Gonna Need a Bigger Lab: Large Animal Models in Research. <http://www.benchfly.com/blog/were-gonna-need-a-bigger-lab-large-animal-models-in-research/> (17. jul. 2012)
- Rohrer G.A., Wise T.H., Ford J.J. 2006. Deciphering the pig genome to understand gamete production. *Reprod. Suppl.*, 62: 293–301.

- Solan A., Niklason L. 2005. Age effects on vascular smooth muscle: an engineered tissue approach. *Cell. Transplant.*, 14: 481–488.
- Strzezek J., Wysocki P., Kordan W., Kuklinska M. 2005. Proteomics of boar seminal plasma - current studies and possibility of their application in biotechnology of animal reproduction. *Reprod. Biol.*, 5: 279–290.
- Sun Q.Y., Nagai T. 2003. Molecular mechanisms underlying pig oocyte maturation and fertilization. *J. Reprod. Dev.*, 49: 347–359.
- Tayade C., Black G.P., Fang Y., Croy B.A. 2006. Differential gene expression in endometrium, endometrial lymphocytes, and trophoblasts during successful and abortive embryo implantation. *J. Immunol.*, 176: 148–156.
- Turk J.R., Henderson K.K., Vanvickle G.D., Watkins J., Laughlin M.H. 2005. Arterial endothelial function in a porcine model of early stage atherosclerotic vascular disease. *Int. J. Exp. Pathol.*, 86: 335–345.
- Turk J.R., Laughlin M.H. 2004. Physical activity and atherosclerosis: which animal model? *Can. J. Appl. Physiol.*, 29: 657–683.
- Wasilk A., Callahan J.D., Christopher-Hennings J., Gay T.A., Fang Y., Dammen M., Reos M.E., Torremorell M., Polson D., Mellencamp M., Nelson E., Nelson W.M. 2004. Detection of US, Lelystad, and European-like porcine reproductive and respiratory syndrome viruses and relative quantitation in boar semen and serum samples by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 42: 4453–4461.
- Waters D.J., Sakr W.A., Hayden D.W., Lang C.M., McKinney L., Murphy G.P., Radinsky R., Ramoner R., Richardson R.C., Tindall D.J. 1998. Workgroup 4: Spontaneous prostate carcinoma in dogs and nonhuman primates. *Prostate*, 36: 64–67.