

Межлинейные различия в чувствительности к острой гипобарической гипоксии у инбредных мышей коллекционного фонда

Х.Х. Семенов, Н.Н. Каркищенко, Л.Х. Казакова, Т.Б. Бескова,
З.С. Лушникова, И.Ю. Егорова, Е.Л. Матвеев

ФГБУН «НЦБМТ ФМБА России»

Контактная информация: к.б.н. Семенов Хызыр Хыйсаевич, scbmt@yandex.ru

Проведенное исследование показало, что мыши различных генотипов обладают разной устойчивостью к острой гипобарической гипоксии. По чувствительности к острой гипоксии исследуемые генотипы можно условно разделить на 3 категории: низкоустойчивые – IOR/HabY, CC57WY, CBA/LacY, 101/HY; среднеустойчивые – C3HAY, CBA/JY и высокоустойчивые – A/SnY, B10CWY, C57BL/6Y, DBA/2Y. Различия между высоко- и низкоустойчивыми к гипоксии генотипами статистически достоверны ($p > 0,001$). Следует указать, что инбредный возраст при этом не оказывает никакого влияния на исследуемый признак. Об этом свидетельствует тот факт, что мыши самой высокоинбредной линии CBA/JY, прошедшие 251 поколение инбридинга, заняли среднее положение между низко- и высокоустойчивыми генотипами. Согласно полученным результатам, исследуемый признак обладает высокой вариабельностью как между животными разных линий, так и между особями внутри каждой линии. Высокая вариабельность в чувствительности к острой гипоксии у животных одного генотипа свидетельствует об отсутствии селекции по данному признаку. Различия между самками и самцами внутри линий недостоверны. Исключение составили мыши линии CBA/LacY, у которых самцы по чувствительности к острой гипоксии достоверно превосходили самок.

Ключевые слова: инбредные линии, острая гипобарическая гипоксия, генотип, фенотип, селекция.

Выведение инбредных линий лабораторных животных, начатое в XX веке генетиками и онкологами, создало предпосылки для перехода биомедицинских исследований на качественно более высокий уровень. Широкое использование инбредных линий практически во всех областях биологии и экспериментальной медицины обусловлено их уникальной особенностью и достоинством – все животные в пределах линии гомозиготны и генетически однородны. Это обеспечивает воспроизводимость результатов, повышает эффективность и надежность медико-биологических исследований, проводимых с их использованием [2].

В изучении важнейшей проблемы медицины – гипоксии (явления, которое,

согласно современным представлениям, включается в патогенез практически любого заболевания) – широко используются лабораторные животные (главным образом, крысы). Начиная с 70-х гг. прошлого столетия, в литературе появляется большое количество публикаций, посвященных индивидуальной чувствительности к гипоксии [1]. Установлено, что в любой популяции неинбредных животных особи значительно различаются между собой по индивидуальной резистентности к острой гипоксии. Напротив, различия в чувствительности к острой гипобарической гипоксии между отдельными особями в инбредных линиях существенно меньше, чем среди неинбредных животных [3, 4]. Однако до сих пор почти

Таблица 1

Показатели индивидуальной чувствительности к острой гипобарической гипоксии у мышей инбредных линий

	CBA/Lac	CC57W	101/H	Ior/Hab	C3H	CBA/J	A/Sn	DBA/2	B10CW	C57BL/6
Инбредный возраст	F183	F170	F103	F115	F170	F251	F152	F191	F93	F180
Самцы										
M±m	156,1±17,29	93,5±7,78	109,0±10,48	5,58	143,2±4,23	117,5±9,95	206,5±13,87	374,5±22,39	193,0±8,89	282,2±13,42
Коэффициент вариации, %	35,0	26,3	30,4	21,2	9,3	26,8	21,2	18,9	14,6	15,0
Самки										
M±m	67,5±4,17	92,0±7,08	116,5±7,27	97,5±8,70	100,0±7,53	140,3±8,10	221,5±9,78	385,5±17,71	250,5±10,45	283,0±12,72
Коэффициент вариации, %	19,5	24,3	19,7	28,2	23,8	18,3	14,0	14,5	13,2	14,2
В целом по линии										
M±m	111,8±13,35	92,75±5,12	112,8±6,27	90,5±5,28	121,6±6,50	128,9±6,77	214,0±8,43	380,0±13,95	221,8±9,38	282,6±9,00
Коэффициент вариации, %	53,4	24,7	24,9	26,1	23,9	23,5	17,6	16,4	18,9	14,2

нет исследований, посвященных изучению этого вопроса у инбредных мышей.

Цель настоящей работы – изучить индивидуальную чувствительность мышей инбредных линий к острой гипобарической гипоксии.

Материалы и методы

Работа выполнена на мышах двухмесячного возраста из инбредных линий CBA/LacY, CC57WY, 101/HY, IOR/HabY, C3HAY, CBA/JY, A/SnY, DBA/2Y, B10CWY, C57BL/6Y, поддерживаемых в коллекционном фонде НЦБМТ. Мыши содержались в конвекционных условиях, в пластмассовых клетках фирмы «Velaz» с автопоилками. В качестве подстилочного материала использовали древесные опилки. Кормление животных осуществляли гранулированным комбикормом производства ООО «Лабораторкорм» ad libitum. Дополнительно к нему один раз в неделю мыши получали витаминно-белковую подкормку, в состав которой вхо-

дят овсянка, сухое молоко, витамины А, Е, D в масле.

Для оценки индивидуальной чувствительности к острой гипобарической гипоксии каждая мышь в барокамере «поднимается на критическую (для мышей) высоту» (10 тыс. м) со скоростью 165 м/сек, где она находится до агонального состояния. Исследуемые показатели: ВПП – время первого падения (переход в лежащее положение), характеризующее порог реакции организма на данное воздействие, сек; ВЖ – время жизни «на высоте» (до появления агонального дыхания), сек; ВВП – время восстановления позы после спуска животного с «высоты», сек.

Мерой оценки чувствительности животного к острой гипобарической гипоксии служит время жизни на «высоте». Результаты обработаны статистически на ПК с использованием t-критерия Стьюдента и стандартной программы Statistica-6.

Таблица 2

Сравнительные показатели меж- и внутрилинейных (по полу) различий по чувствительности к острой гипоксии у инбредных мышей

Показатель	Инбредные линии мышей						
	СВА/Лас самцы	СВА/Лас самки	СВА/Ј самцы	А/Sn самцы	DBA/2 самцы	В10СW самцы	С57BL/6 самцы
M±m	156,1±17,29	67,5±4,17	117,5±9,95	206,5±13,86	374,5±22,39	193,0±8,89	282,2±13,42
Достоверность различия средних	-	***	не достоверно	*	***	-	***
Кoeffициент вариации, %	35,0	19,5	26,8	21,2	18,9	14,6	15,0
	СВА/Лас самки	СВА/Ј самки	А/Sn самки	DBA/2 самки	В10СW самки	С57BL/6 самки	
M±m	67,5±4,17	140,3±8,10	221,5±9,78	385,5±17,71	250,5±10,45	283,0±12,72	
Достоверность различия средних	-	***	***	***	***	***	
Кoeffициент вариации, %	19,5	18,3	14,0	14,5	13,2	14,2	
	СС57W самцы	СС57W самки	СВА/Ј самцы	А/Sn самцы	DBA/2 самцы	В10СW самцы	С57BL/6 самцы
M±m	93,5±7,78	92,0±7,08	117,5±9,95	206,5±13,87	374,5±22,39	193,0±8,89	282,2±13,42
Достоверность различия средних	-	не достоверно	**	***	***	***	***
Кoeffициент вариации, %	26,3	24,3	26,8	21,2	18,9	14,6	15,0
	СС57W самки	СВА/Ј самки	А/Sn самки	DBA/2 самки	В10СW самки	С57BL/6 самки	
M±m	92,0±7,08	140,3±8,10	221,5±9,78	385,5±17,71	250,5±10,45	283,0±12,72	
Достоверность различия средних	-	***	***	***	***	***	
Кoeffициент вариации, %	24,3	18,3	14,0	14,5	13,2	14,2	
	101/Н самцы	101/Н самки	СВА/Ј самцы	А/Sn самцы	DBA/2 самцы	В10СW самцы	С57BL/6 самцы
M±m	109,0±10,48	116,5±7,27	117,5±9,95	206,5±13,86	374,5±22,39	193,0±8,89	282,2±13,42
Достоверность различия средних	-	не достоверно	не достоверно	***	***	***	***
Кoeffициент вариации, %	30,4	19,7	26,8	21,2	18,9	14,6	15,0
	101/Н самки	СВА/Ј самки	А/Sn самки	DBA/2 самки	В10СW самки	С57BL/6 самки	
M±m	116,5±7,27	140,3±8,10	221,5±9,78	385,5±17,71	250,5±10,45	283,0±12,72	
Достоверность различия средних	-	*	***	***	***	***	
Кoeffициент вариации, %	19,7	18,3	14,0	14,5	13,2	14,2	
	ІOR/Нab самцы	ІOR/Нab самки	СВА/Ј самцы	А/Sn самцы	DBA/2 самцы	В10СW самцы	С57BL/6 самцы
M±m	83,5±5,58	97,5±8,70	117,5±9,95	206,5±13,86	374,5±22,39	193,0±8,89	282,2±13,42
Достоверность различия средних	-	-	**	***	***	***	***
Кoeffициент вариации, %	21,2	28,2	26,8	21,2	18,9	14,6	15,0
	ІOR/Нab самки	СВА/Ј самки	А/Sn самки	DBA/2 самки	В10СW самки	С57BL/6 самки	
M±m	97,5±8,70	140,3±8,10	221,5±9,78	385,5±17,71	250,5±10,45	283,0±12,72	
Достоверность различия средних	-	**	***	***	***	***	
Кoeffициент вариации, %	28,2	18,3	14,0	14,5	13,2	14,2	
	С3НА самцы	С3НА самки	СВА/Ј самцы	А/Sn самцы	DBA/2 самцы	В10СW самцы	С57BL/6 самцы
M±m	143,2±4,23	100,0±7,53	117,5±9,95	206,5±13,86	374,5±22,39	193,0±8,89	282,2±13,42
Достоверность различия средних	-	***	*	***	***	***	***
Кoeffициент вариации, %	9,3	23,8	26,8	21,2	18,9	14,6	15,0
	С3НА самки	СВА/Ј самки	А/Sn самки	DBA/2 самки	В10СW самки	С57BL/6 самки	
M±m	100,0±7,53	140,3±8,10	221,5±9,78	385,5±17,71	250,5±10,45	283,0±12,72	
Достоверность различия средних	-	**	***	***	***	***	
Кoeffициент вариации, %	23,8	18,3	14,0	14,5	13,2	14,2	
	СВА/Лас в целом по линии	СВА/Ј в целом по линии	А/Sn в целом по линии	DBA/2 в целом по линии	В10СW в целом по линии	С57BL/6 в целом по линии	
M±m	111,8±13,35	128,9±6,77	214,0±8,43	380,0±13,95	221,8±9,38	282,6±9,00	
Достоверность различия средних	-	-	***	***	***	***	
Кoeffициент вариации, %	53,4	23,5	17,6	16,4	18,9	14,2	

Примечание: * – достоверно при $p > 0,1$; ** – достоверно при $p > 0,05$; *** – достоверно при $p > 0,001$.

Результаты исследований

Показатели уровня индивидуальной чувствительности к острой гипобарической гипоксии у мышей различных линий представлены в табл. 1. Совершенно очевидно, что мыши разных генотипов обладают разным фенотипом устойчивости к острой гипоксии. Полученные данные показали, что по чувствительности к острой гипоксии исследованные генотипы могут быть разделены на три категории: низкоустойчивые – ІOR/НabY, СС57WY, СВА/ЛасY, 101/НУ; среднеустойчивые – С3НАY, СВА/ЈY и высокоустойчивые – А/SnY, В10СWY, С57BL/6Y, DBA/2Y. При этом следует отметить, что инбредный возраст животных не оказал никакого влияния на изучаемый признак. Так, самая высокоинбредная линия СВА/ЈY, которая прошла 251 поколение инбридинга (F251), заняла промежуточное положение по резистентности к острой гипоксии между оппозиционными линиями. Результаты исследований свидетельствуют также о высокой вариабельности этого показателя как между животными разных линий, так и между особями внутри одной линии. Межлинейная разница в чувствительности к острой гипоксии составила, в среднем, 230-250%. Вариация по устойчивости к острой гипоксии у особей внутри каждой линии составила, в среднем, 140-160%, что значительно ниже, чем межлинейное ее значение. Высокая вариабельность между животными одной линии свидетельствует об отсутствии селекции у мышей по данному признаку. Следует также указать, что по времени жизни на «высоте» мыши генотипа DBA/2Y превосходили своих аналогов из линии ІOR/НabY в 4,2 раза (420%).

Кроме того, были проведены исследования по выявлению различий в чувствительности к острой гипоксии

между самками и самцами внутри каждой линии (табл. 2). Согласно полученным результатам, только у мышей линии СВА/ЛасY самцы статистически достоверно ($p > 0,001$) превзошли своих самок по изучаемому признаку. Различия по жизнеспособности на «высоте» между самками и самцами у всех остальных линий недостоверны.

Что касается различий по устойчивости к острой гипоксии между самками и самцами оппозиционных генотипов, то следует отметить, что как самки, так и самцы резистентных линий, исключая В10СWY, достоверно превосходили своих однополых аналогов из низкоустойчивых линий. Различия по исследуемому признаку только между самцами генотипов В10СWY и СВА/ЛасY были недостоверны.

Выводы

Проведенное исследование показало, что мыши различных генотипов обладают разной устойчивостью к острой гипобарической гипоксии.

Инбредный возраст не оказывает влияния на данный признак. Различия между высоко- и низкоустойчивыми к гипоксии генотипами статистически достоверны ($p > 0,001$).

Исследуемый признак обладает высокой вариабельностью как между животными разных линий, так и между особями внутри каждой линии.

Высокая вариабельность в чувствительности к острой гипоксии у животных одного генотипа свидетельствует об отсутствии селекции по данному признаку.

Различия между самками и самцами внутри линий недостоверны. Исключение составили мыши линии СВА/Лас, у которых самцы по чувствительности к острой гипоксии достоверно превосходили самок.

Список литературы

1. **Березовский В.А.** Гипоксия. – Киев: Наукова думка. 1978.
2. **Бландова З.К., Душкин В.А., Машакина А.М., Шмидт Е.Ф.** Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований. – М.: Наука. 1983.
3. **Богомолов В.И., Лукьянова Л.Д.** Бюлл. эксп. биологии и медицины. 1992. Т.114. № 2. С. 657-659.
4. Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты/ под ред. Лукьяновой Л.Д., Ушакова И.Б. – М. Воронеж: Истоки. 2004.

Interlinear distinctions in sensitivity to a sharp hypobaric hypoxia at inbred mice of collection fund

Kh.Kh. Semenov, N.N. Karkischenko, L.Kh. Kazakova, T.B. Beskova,
Z.S. Lushnikova, I.Yu. Egorova, E.L. Matveyenko

The conducted research showed that mice of various genotypes possess different resistance to a sharp hypobaric hypoxia. On sensitivity to a sharp hypoxia studied genotypes can be divided into 3 categories conditionally: the low-steady – IOR/HabY, CC57WY, CBA/LacY, 101/HY; middle-steady – C3HAY, CBA/JY and high-steady – A/SnY, B10CWY, C57BL/6Y, DBA/2Y. Distinction between highly and low-steady against a hypoxia are statistically reliable ($p > 0,001$). It is necessary to specify that inbred age thus has no impact on this sign. That fact testifies to it that the mice of the most highly inbred CBA/JY line who have passed 251 inbred generations, reached average position between low and high-steady genotypes. According to the received results, the studied sign possesses high variability both between animals of different lines, and between individuals in each line. High variability in sensitivity to a sharp hypoxia at animals of one genotype testifies to lack of selection on this sign. Distinctions between females and males in lines are doubtful. The exception was made by mice of the CBA/LacY line at whom males to a sharp hypoxia authentically surpassed females in sensitivity.

Key words: inbred lines, sharp hypobaric hypoxia, genotype, phenotype, selection.



Enhanced technologies and integration parameters of pre-clinical studies

L. Bachdasarian¹, R. Bulthuis¹, E. Molewijk¹, S. Guchkov², A. Revyakin³

¹ – Metris B.V., The Netherlands, 2132 NG Hoofddorp, Kruisweg 825

² – University of Orel, Orel, Russia

³ – Federal State Budgetary Institution Scientific center of biomedical technologies of Federal Medical and Biological Agency, Moscow region, Russia

Correspondence: Dr. Levon Bachdasarian, levon@metris.nl

When the drug penetrates into the organism, a biochemical reaction takes place and one can say the latter produces energetic changes in the organisms of the laboratory animals. The drug penetrating into the organism changes the potential energy of the body; the latter after some time brings to changes in kinetic energy which is expressed in people and in animals as changes in behaviour. This means that energy is the most important parameter in all stages beginning from molecular biology to preclinical research.

Laboras system by Metris B.V. enables measurement of all types of kinetic energy while other non-invasive automated systems for behavior detection can only measure the locomotion component of the kinetic energy (e.g. locomotion energy $mv^2/2$). In addition the matrix method and technology used in Laboras provides a way to measure more behaviors and to recognize them completely automatic and more precisely than ever before.

For the properly the build your study is better integrate behavioral analysis with telemetry analysis.

In this case you make the matrix of statistical parameters bigger and stabile for 24 hour animal study.

Laboras system can integrate with DSI telemetry system and in the same result summary analyze Physiological and behavioral parameters.

For ultrasounds vocalization study use Sonotrack system and integrate with Laboras results.

Key words: preclinical research, Laboras system, behavioral parameters, energy.

Preface

When I got engaged in the algorithm building for automated detection of behaviours, it was obvious for me that the matter is random signal (in this case animal behaviour). Logically I asked the most important question of how can I find generalities in the same behaviour at different points of time. It was necessary to understand thoroughly the concept in order to create the mathematical model, and then build an algorithm which will

detect the behaviour. I have arrived at an interesting conclusion after extensive statistics tabulation and analysis of Laboras signals as well as after the studies of the behaviours of rats and mice. I have studied the entire process of drug development; this helped me to find out the important links between the stages of drug production. The new algorithm for the automated behaviour detection by Laboras system assumes great responsibility for us. Laboras system is used in drug development studies. Then