



Гнотобиология. Перспективы развития

Л.А. Болотских

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

Контактная информация: к.с.-х.н. Болотских Любовь Александровна, тел.: 8(495)5615257

Разработка гнотобиологических методов и моделей гнотобиотов для медико-биологических исследований.

Ключевые слова: гнотобиотические животные, СПФ-животные, гнотобиологический изолятор, изоляторная система, гнотобиологические методы.

Введение

Для современной экспериментальной и клинической медицины всё большую актуальность приобретает строгий контроль воздействия факторов окружающей среды на организм человека. Одним из таких факторов, обладающих способностью активно влиять на жизнедеятельность организма, является микрофлора. Медицинская наука накопила много данных, показывающих важную роль микробной флоры в физиологических и патологических процессах, что подчеркивает необходимость учета этого фактора в медико-биологических исследованиях. Вместе с тем, методы биологической изоляции и контроля микробного воздействия в эксперименте и клинике до последнего времени остаются недостаточно совершенными. В области экспериментальной медицины это в первую очередь относится к объекту исследования и моделирования – лабораторным животным [1].

Неконтролируемая микробная флора обычных лабораторных животных является серьёзным препятствием для правильной оценки результатов эксперимента. Известно, что при воздействии различных стрессовых факторов в той или мере происходит снижение резистентности организма, что, в свою очередь, предопределяет активацию микробной аутофлоры и развитие аутоинфекции. От того, какая флора в данный момент будет превалировать, в значительной степени зависит исход эксперимента.

Важность учета переменного микробного фактора при оценке ответной реакции у лабораторных животных на экспериментальное воздействие имеет значение в экспериментальной патологии, физиологии, иммунологии, фармакологии, токсикологии, биохимии, радиобиологии и других областях медико-биологических исследований. Так, при испытании новых лекарственных

препаратов, проводимых на лабораторных животных, следует учитывать, что многие препараты могут влиять на сложившиеся экологические отношения в микрофлоре животных. Это может вызывать иммунобиологические сдвиги, а также развитие патологических изменений, обусловленных не только прямым действием препарата на макроорганизм, но и опосредованным влиянием через аутофлору. Кроме того, может иметь место и изменение свойств изучаемого препарата в результате взаимодействия с микрофлорой и продуктами её метаболизма. Это может завуалировать истинные токсические свойства тестируемого препарата. Понятно поэтому, что при использовании обычных лабораторных животных с неконтролируемой микрофлорой трудно составить точное представление о токсичности и других фармакологических свойствах многих лекарственных препаратов [10].

Современный уровень исследований предъявляет всё более высокие требования к объекту медико-биологического моделирования – лабораторному животному. Этот объект должен отвечать требованиям определённых стандартов. Уже решены вопросы стандартизации лабораторных животных по генетическому фактору. Условиями содержания животных легко управлять. Остаётся один неконтролируемый, переменный фактор – микрофлора, в значительной степени определяющая внутривидовые вариации при экспериментах на животных [11].

Новый методический подход для осуществления контроля и стандартизации лабораторных животных по микробному фактору возник с развитием гнотобиологии. Термин «гнотобиология», предложенный Luckey (1963), образован от

двух корней: «gnoto» – известный и «biota» – флора и фауна. Гнотобиология представляет область медико-биологических исследований, изучающую особенности гнотобиотических животных и влияние известной микробной флоры на физиологические и патологические процессы в организме [7].

Таким образом, разработка гнотобиологических методов и моделей гнотобиотов является актуальной **целью** медико-биологических исследований.

Материалы и методы

В работе использовалось зарубежное и отечественное оборудование – гнотобиологические изоляторы, изоляторные системы, ламинары, стерилизаторы воздушные, паровые стерилизаторы и др. Для получения и содержания гнотобиотических, в т.ч. безмикробных животных приобретали гнотобиологические изоляторы (рис. 1).



Рис. 1. Гнотобиотические изоляторы.

Работа с изоляторами проводилась согласно существующим правилам [8].

Гнотобиотических животных получали, в основном, операционным методом гистерэктомии. При гистерэктомии у беременной самки в стерильных

условиях проводится срединная лапаротомия, после чего шейка матки перевязывается и производится ампутация матки. Ампутированную беременную матку проводят через антисептический гидрошлюз. Затем плоды извлекаются и обрабатываются (производится освобождение от плодовых оболочек, перевязка и отсечение пуповины, осушивание).

Для создания СПФ-животных были закуплены изоляторные системы «RairIsoSystem» (рис. 2).



Рис. 2. Изоляторные системы «RairIsoSystem».

Работа с изоляторными системами проводилась согласно разработанной технологии содержания СПФ-животных. Очистка конвенциональных животных от патогенной микрофлоры и перевод их в СПФ-статус проводилась усовершенствованным методом гистерэктомии [2].

Животные получали стерильный гранулированный корм и белково-витаминную добавку [3].

Результаты и их обсуждение

В лаборатории гнотобиологии ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» разработана технология получения и выра-

щивания различных видов и категорий гнотобиотических животных: крысы, мыши, морские свинки, кролики, цыплята, поросята [9]. На этих животных были проведены эксперименты по иммунологии, токсикологии, онкологии, геронтологии, инфекционной патологии, экспериментальной хирургии и т.д.

Получены новые категории гнотобиотов, контролируемые не только по микробному, но и по антигенному воздействию (безантигенные животные) [4]. Отсутствие контакта с чужеродными антигенами делает таких животных ценной моделью для дифференцированного изучения роли экзогенных и аутоантигенов в иммунных и аллергических процессах.

В НЦБМТ ФМБА России отработана и внедрена технология получения и выращивания СПФ-животных в изоляторной системе [5]. От патогенной микрофлоры освобождены гнотобиотическими методами 15 основных линий мышей коллекционного фонда и переведены в СПФ-статус [6]. Отработанная технология содержания СПФ лабораторных животных в изоляторной системе может быть рекомендована для питомников и экспериментально-биологических клиник. В настоящее время в нашем Центре созданы все условия для проведения экспериментов на гнотобиотических, в т.ч. СПФ-животных, в самых различных областях медико-биологических исследований, несмотря на существующие трудности и затраты. Однако игнорирование роли микробного фактора в конечном итоге будет обходиться значительно дороже, чем затраты на организацию гнотобиотических исследований.

С внедрением гнотобиотических методов для создания беспатогенных, или СПФ-животных в корне меняется пред-

ставление о лабораторном животном как объекте исследования. Если раньше роль фактора микрофлоры у лабораторных животных попросту игнорировалась, то теперь необходимость её учета стала очевидной. Повышенные требования микробиологического контроля лабораторных животных изменили отношение и к условиям их содержания. Биологическая стандартизация лабораторных животных, т.е. создание СПФ-животных, наряду с их генетической однородностью, и обеспечивает высококачественные модели, что, в свою очередь, значительно повышает уровень медико-биологических исследований.

Гнотобиология имеет свои специальные методы, объединяемые понятием «гнотобиологическая технология». Совершенствование их будет идти и дальше в направлении повышения надежности, доступности и стандартизации.

Общебиологическое значение и перспективы развития гнотобиологии определяются многообразием и изменчивостью мира микроорганизмов, их ролью в жизнедеятельности человека и животных. По этим соображениям принципы подразделения микробиологии на общую, медицинскую, ветеринарную, сельскохозяйственную, промышленную, санитарную и др. полностью применимы и к гнотобиологии. Эта дифференциация подтверждается все более крепнущими связями гнотобиологии и перечисленными областями науки и производства. Таким образом,

гнотобиология будет играть важную роль в системе биологических, медицинских, ветеринарных, сельскохозяйственных и др. наук и отраслей хозяйства [10].

Список литературы

1. *Абдраштова Э.Х., Зайцев Т.И. и др.* Стандартизация лабораторных животных по состоянию здоровья // Ланималогия. 1993. 7 с.
2. *Болотских Л.А., Лушникова З.С.* Усовершенствованный способ получения гнотобиотических животных // Биомедицина. 2005. № 1. С. 114-117.
3. *Болотских Л.А.* Способы стерилизации гранулированного корма для гнотобиотических животных // Биомедицина. 2007. № 6. С. 164-166.
4. *Болотских Л.А., Подопригора Г.И.* Безантигенные поросята – новая категория гнотобиотов для медико-биологических исследований / Мат-лы Всесоюзной конференции «Биологическая характеристика лабораторных животных». 1980.
5. *Болотских Л.А., Семенов Х.Х., Егорова И.Ю., Галахова Т.В., Бескова Т.Б., Касинская Н.В.* Изоляторные системы – новый методический подход в медико-биологических исследованиях // Биомедицина. 2011. № 1. С. 90-95.
6. *Болотских Л.А., Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Семенов Х.Х., Касинская Н.В., Капанадзе Г.Д., Ревякин А.О., Матвиенко Е.Л.* Создание лабораторных животных СПФ-статуса как основа экспериментальной медицины // Биомедицина. 2013. № 4. С. 158-163.
7. *Душкин В.А., Интизаров М.М., Петрачев Д.А., Подопригора Г.И., Попов В.И., Сорокин В.В., Шишков В.П.* Теоретические и практические основы гнотобиологии. - М.: Колос. 1983.
8. *Подопригора Г.И.* Правила работы с гнотобиологическими изоляторами. - М. 1977.
9. *Подопригора Г.И., Душкин В.А., Болотских Л.А.* Оперативные методы получения безмикробных мышей, крыс, морских свинок // Вестник АМН. 1981. № 2. С. 54-58.
10. *Подопригора Г.И.* Гнотобиология на пути двух столетий // Вестник АМН. 1996. № 14. С. 239-251.
11. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева.* - М.: Профиль 2С. 2010. С. 88-101.

Gnotobiology. Development prospects

L.A. Bolotskikh

Development of gnotobiological methods and models of gnotobiot for medicobiological researches.

Key words: gnotobiot animals, SPF-animals, gnotobiological insulator, insulator system, gnotobiological methods.