

фолликулов в поле зрения, чем у крыс с нормальным волосяным покровом и у помесных (в 2,2 и 2,0 раза соответственно  $P \leq 0,999$ ).

У безволосых заметно снижена плотность расположения фолликулов в поле зрения, отдельные группы не упорядочены, фолликулы расположены в округлых группах, число фолликулов в группе ниже, волос развивается не из всех фолликулов, большинство фолликулов не имеют волоса, но имеют гипертрофированную сальную железу. Также у них фолликулы залегают более поверхностно. Еще одной особенностью было отсутствие у безволосых крыс потовых желез. В целом, волосы крыс с нормальным волосяным покровом имеют строение, характерное для крыс в целом [2], волосы помесных крыс и, особенно, безволосых имеют строение, нехарактерное для диких животных. Схожие результаты получены при сравнении строения кожи безволосых крыс линии Wistar с крысами линии Wistar с нормальной шерстью [6].

Изучение молочных желез показало следующие результаты: общий размер железы больше у крыс с нормальным волосяным покровом, средний – у помесных крыс, и меньше всего молочная железа развита у безволосых крыс. Сосок возвышается над кожей у нормы и помеси, не возвышается – у безволосых крыс. Железистый эпителий был нормально развит у крыс с нормальным волосяным покровом, альвеолы активно секретировали молоко. У помесных крыс железистый эпителий был менее развит, равно как и вся молочная железа в целом. Железы безволосых крыс были развиты хуже всего, эпителий практически не развит, клетки не лактировали, и у безволосых крыс наблюдалось состояние молочных желез,

абсолютно не соответствующее срокам лактации.

### Выводы

Результаты исследования показали следующую картину: крысы с нормальным волосяным покровом имеют развитые молочные железы, соответствующие сроку лактации; у помесей лактация несколько ослаблена по сравнению с нормой, есть тенденция к ее более раннему окончанию (на более поздних сроках лактация слабее, чем у нормы при таком сроке); у безволосых крыс молочные железы недоразвиты – при нормально сформированном соске у них очень слабо развит железистый эпителий, наблюдается несоответствие развития железы сроку лактации, ставится под вопрос возможность этих крыс выкармливать потомство.

### Список литературы

1. **Котенкова Е.** Мыши и крысы. Компания Дельта. М. 2000. 62 с.
2. **Ноздрачев А., Поляков Е.** Анатомия крысы (Лабораторные животные). СПб., Изд. «Лань». 2001. 464 с.
3. **Ромер А., Парсонс Т.** Анатомия позвоночных. т.1-2. М. Мир. 1992.
4. **Соколов В.,** Кожный покров млекопитающих. М. Наука. 1973. 487 с.
5. **Festing M.F.W., Lovell D.P.** The breeding of athymic nude rats// Animal Quality and Models in Biomedical Research, 7th ICLAS Symposium Utrecht 1979, Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. New York. 1980. P. 81-84.
6. **Ishii Y. et al.** Hair follicles of young Wistar strain hairless rats: a histological study// J. Anat. 191. 1997. P. 99-106.

## Peculiarities of histological structure of cutaneous covering and milk gland of hairless rats

G.I. Blokhin, D.A. Belyaev, M.M. Pekelis, E.M. Gubskaya, L.Kh. Kazakova

Some differences of histological structure of cutaneous covering and milk gland of hairless rats from the same of rats with normal hair and mixed bred rats are described in this article. Probable causes of hairless rats' inability to rear their offspring are revealed.

**Key words:** hairless rats, cutaneous covering, milk gland, lactation.

## Внедрение гнотобиотехнологии для создания лабораторных животных СПФ-статуса

Л.А. Болотских, Н.Н. Каркищенко, И.Ю. Егорова

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

Контактная информация: к.с.-х.н. Болотских Любовь Александровна тел.: (495)561-52-57

Внедрена технология получения и выращивания лабораторных животных СПФ-статуса в изоляторной системе. Усовершенствованные методические приемы могут быть успешно использованы в лабораторном животноводстве для очистки конвенциональных животных от патогенной микрофлоры и перевода их в СПФ-статус.

**Ключевые слова:** изоляторная система, гнотобиологический подход, гнотобиотические животные, СПФ-животные.

Достижение современного уровня медикобиологических исследований стало возможным благодаря созданию стандартных лабораторных животных. Стандартизация животных основана на исключении возможности возникновения инфекционной и инвазионной патологии. Лабораторные животные, свободные от патогенной микрофлоры, т.е. животные СПФ-статуса, наряду с их генетической однородностью обеспечивают надежность и воспроизводимость результатов медико-биологических экспериментов [4]. В соответствии с международным опытом, стандартность лабораторных животных обеспечивается

современной технологией, в основе которой лежит гнотобиотехнология. Она гарантирует надежность защиты лабораторных животных от любых видов внешней контаминации, создает адекватные условия для жизнедеятельности, широко используется для получения и содержания гнотобиотехнологических животных с заданным и управляемым составом микрофлоры. В последнее время гнотобиотехнология интенсивно используется также для получения и содержания животных СПФ-категории (племенные ядра, маточное поголовье животных, предназначенных для использования в эксперименте) [1-3, 5-8].

С развитием гнотобиотехнологии вырисовываются дальнейшие перспективы совершенствования исследований, проводимых на стандартных, качественных животных в самых различных областях биологической науки.

**Целью** нашей работы было внедрение технологии получения и выращивания племенных ядер мышей СПФ-статуса коллекционного фонда НЦБМТ РАМН с использованием новой современной изоляторной системы.

### Материалы и методы

В работе использовались конвенциональные мыши коллекционного фонда: BALB/c, C57BL/6, DBA/2, CDA/Lac, AKR, BRSUNT, C57BL/10, A/sn, WR, B10GFP. В качестве самок-кормилиц использовали мышей СПФ-статуса линии BALB/c-wal и гибриды (DBA/2 x BALB/c).

Очистка мышей коллекционного фонда от патогенной микрофлоры проводилась усовершенствованным методом гистерэктомии. Животные получали стерильный гранулированный корм и белково-витаминную добавку.

Работа проводилась на новом зарубежном и отечественном оборудовании: изоляторная система «RAIR», английский изолятор «TCOL», ламинар – С-1,2, стерилизатор воздушный ГП-640-ПЗ, автоклавы ГК-100-3М и т.д.

Основной гнотобиологической аппаратуры была приобретенная современная зарубежная изоляторная вентилируемая система «RAIR» (рис.1).

Данная изоляторная система содержания лабораторных животных обеспечивает защиту не только самих лабораторных животных, но и обслуживающего их персонала. Специальные воздушные клапаны очищают воздух, обеспечивая

комфортную температуру и влажность для животных. Специальные датчики постоянно следят за состоянием клеток микро-изоляторов, отображая их условия на табло, что существенно упрощает обслуживание клеток. Изоляторная система состоит из 144 клеток микро-изоляторов.



Рис. 1. Изоляторная вентилируемая система «RAIR»

### Разработка технологии получения и выращивания СПФ племенных ядер мышей коллекционного фонда

Изоляторная система «RAIR» использовалась нами для перевода конвенциональных мышей коллекционного фонда в СПФ-категорию. В основу работы положен гнотобиологический подход, т.к. каждая клетка этой системы представляет собой микро-изолятор.

Новое оборудование позволило усовершенствовать методические приемы получения стерильного потомства племенных ядер мышей, которое является исходным материалом для перевода их в СПФ-статус.

Данная изоляторная система может использоваться только в комплексе с ламинаром, т.к. смена клеток, раздача корма, воды и т.д. производится только в стерильных условиях (рис.2).



Рис. 2. Ламинар

Отработаны режимы стерилизации всех необходимых материалов для жизнеобеспечения животных. Стерилизацию клеток, опилок и т.д. осуществляли в воздушных стерилизаторах при соответствующих режимах.

Установлено, что во избежание случайной контаминации, работу по обслуживанию животных в микро-изоляторах в ламинаре надежнее проводить двум сотрудникам. Обслуживающий персонал работает с клетками микро-изоляторами в масках и стерильных перчатках.

Успех в работе во многом зависит от подготовки специалистов и их добросовестности.

Для содержания самок-кормилиц СПФ-статуса был приобретен новый английский гнотобиологический изолятор как самая надежная барьерная система. Вся работа осуществлялась согласно правилам работы с гнотобиологическим изолятором. Были использованы ранее разработанные жесткие режимы стерилизации корма, воды, подстилочного материала и т.д. Все необходимые стерильные материалы проводились в гнотобиологический изолятор в специальных контейнерах (рис.3).

Регулярно проводился микробиологический контроль животных. По

результатам контроля животные в изоляторной системе поддерживаются в СПФ-статусе.



Рис. 3. Гнотобиологический изолятор

### Результаты и их обсуждение

Впервые в НЦБМТ РАМН внедрена технология получения и выращивания лабораторных животных СПФ-статуса в изоляторной системе. В настоящее время от патогенной микрофлоры освобождены 10 основных линий мышей коллекционного фонда: BALB/c, C57BL/6, DBA/2, 101/H, CBA/J, C57BL/10, A/sn, WR, B10.GFP. Состояние животных хорошее. По росту и плодовитости опережают конвенциональных животных.

### Выводы

Подводя итоги, можно заключить, что гнотобиотехнология представляет наилучший способ развития базовой линии СПФ-лабораторных животных. Для этой цели необходимо прежде всего иметь современное оборудование, отработанную гнотобиологическую технологию и хорошо обученный персонал.

Следует отметить, что разработанная технология создания лабораторных животных СПФ-статуса, в отсутствие

помещений со строгой барьерной системой, позволяет производить качественных лабораторных животных, а также проводить эксперименты на стандартных контролируемых по микробному фактору животных и может быть использована в любом научном учреждении.

### Список литературы

1. *Абдрашитова Э.Х., Березовская И.В., Болотских Л.А. и др.* Гнотобиология для содержания лабораторных животных и выполнения экспериментов / В кн.: Лабораторные животные. М.: Межакадемическое изд-во ВПК. 2003. С. 67-70. 138 с.
2. *Болотских Л.А., Лушникова З.С.* Усовершенствованный способ получения гнотобиотических животных // Биомедицина. 2005. № 1. С. 114-115.
3. *Болотских Л.А., Подопригора Г.И.* Разработка и использование гнотобиотических методов в лаборатор-

ном животноводстве / В сб.: Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических исследований. М.: 1987. 23 с.

4. *Душкин В.А., Интизаров М.М. и др.* Теоретические и практические основы гнотобиологии. М.: Колос. 1983. С. 3-11.

5. *Каркищенко Н.Н.* Альтернативы биомедицины. Т.2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии. М.: Изд-во ВПК. 2007. 448 с.

6. *Каркищенко Н.Н.* Основы биомоделирования. М.: Межакадемическое изд-во ВПК. 2004. 607с.

7. *Подопригора Г.И., Душкин В.А., Болотских Л.А. и др.* Оперативные методы получения безмикробных мышей, крыс и морских свинок. Вестник АМН. 1981. № 12. С. 54-58.

8. 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.

## Gnotobiotic introduction for creation of laboratory SPF-animals

L.A. Bolotskykh, N.N. Karkischenko, I.Uj. Egorova

The technology of reception and cultivation of laboratory SPF-status animals in isolator system is introduced. Advanced methodical receptions can be successfully used in laboratory animal industries for clearing of conventional animals of pathogenic microflora and their transfer in the SPF-status.

**Key words:** isolator system, gnotobiotic approach, gnotobiotic animals, SPF-animals.

## Особенности гемореологического статуса у крыс с наследственным гипоталамическим несахарным диабетом (линия Brattleboro)

М.Б. Плотников, А.С. Васильев, О.И. Алиев

НИИ фармакологии СО РАМН, Томск

Контактная информация: профессор Плотников Марк Борисович oal@pharm.tsu.ru

Исследованы гемореологические показатели у крыс с наследственным гипоталамическим несахарным диабетом (линия Brattleboro). В сравнении с крысами Вистар у крыс линии Brattleboro значения вязкости цельной крови, вязкости плазмы, агрегации эритроцитов, концентрации фибриногена, гематокрита были повышены, а деформируемость эритроцитов и показатель доставки кислорода к тканям снижены.

**Ключевые слова:** гемореологические показатели, несахарный диабет, крысы линии Brattleboro.

Несахарный диабет – сложное по патогенезу эндокринное заболевание, основным симптомом которого является полиурия [1]. Вне зависимости от этиологии, полиурия приводит к сгущению крови [1], что должно отражаться в нарушении реологических свойств крови. Однако вопрос о состоянии реологических свойств крови у больных несахарным диабетом остается полностью неизученным. Вместе с тем, существует линия крыс *Brattleboro*, воспроизводящая основные патогенетические факторы наследственного гипоталамического несахарного диабета (diabetes insipidus) [15, 19].

**Целью** нашей работы явилось исследование гемореологического статуса у крыс линии *Brattleboro* в сравнении с гемореологическими показателями крыс линии *Wistar*.

### Материалы и методы

Эксперименты проведены на 8 крысах-самцах линии *Brattleboro* и 8 крысах-самцах линии *Wistar* массой

200–250 г. Крысы линии *Brattleboro* были получены из НИИ цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, крысы *Wistar* – из лаборатории экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии СО РАМН, г. Томск. Экспериментальные животные по микробиологическому статусу относятся к конвенциональным, содержались по 8 особей в поликарбонатных клетках (Тип 825 см<sup>2</sup>) на стандартном рационе вивария. Кровь забирала под эфирным наркозом из общей сонной артерии. В качестве стабилизатора использовали 3,8% раствор натрия цитрата в соотношении с кровью 1:9. Относительную вязкость цельной крови и плазмы определяли на ротационном вискозиметре АКР-2, гематокрит оценивали методом центрифугирования в стеклянных капиллярах (центрифуга РС-6, 2000 об/мин. 15 мин.), содержание фибриногена измеряли фотометрическим методом по Klausс на гемокоагулометре Соруау КG-4. Спонтанную агрегацию эритроцитов исследовали методом силлектометрии на модифицированном микроколориметре МКМФ-1 с графиче-