

Выведение оппозитных линий крыс по чувствительности к острой гипобарической гипоксии

Х.Х. Семенов

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва

Выполнена работа по селекции линий крыс, высоко- и низкочувствительных к острой гипобарической гипоксии, на основе популяции нелинейных крыс филиала «Андреевка» НЦБМТ РАМН. В результате отбора и тесного инбридинга (близкородственного скрещивания родных братьев и сестер) в течение 5 поколений были получены линии крыс: низкоустойчивая (НУ), в которой доля низкоустойчивых животных составляла более 83%, и высокоустойчивая (ВУ) линия, доля высокоустойчивых крыс в которой была около 86%, что соответствует теоретически ожидаемому уровню для указанного инбредного возраста. Такие линии могут быть использованы в качестве биологических моделей в экспериментальных исследованиях, посвященных поиску антигипоксантов – веществ, облегчающих реакцию организма на гипоксию, либо предотвращающих ее развитие.

Ключевые слова: селекция, крысы, гипобарическая гипоксия, инбридинг.

Введение

Гипоксия – актуальнейшая проблема современной медицины. Любое патологическое состояние прямо или косвенно связано с нарушением кислородного гомеостаза организма. Инсульты, инфаркты, ишемические состояния различных органов, инфекционные заболевания – это лишь небольшой перечень тех патологий, в основе генеза которых лежит гипоксия. Поэтому защита от гипоксии и ее последствий становится первостепенной задачей медицины и, кроме того, приобретает социальную значимость [1, 3, 4, 5].

Проблема защиты организма от гипоксии является наименее разработанной в фармакологии и патологической физиологии. Она включает два самостоятельных подхода. Первый основан на использовании способов увеличения естественной резистентности организма к гипоксии и составляет основу самостоятельной области – адаптационной медицины, успешно развиваемой в последние годы в нашей стране [6]. Второй – путь фармакологической коррекции гипоксических состояний. Его основателями являются ученые – представители ленинградской школы

фармакологов (В.В.Закусов, 1968; Л.В.Пастушенков, 1969; В.М.Виноградов, 1978 – 1985; П.П.Денисенко, 1986, 1988 и др.). Именно этой школой был впервые введен в употребление термин «антигипоксанты», обозначающий средства защиты от гипоксических повреждений [1, 3, 4, 5].

В настоящее время можно назвать десятки работ, посвященных поиску антигипоксантов – веществ, облегчающих реакцию организма на гипоксию, либо предотвращающих ее развитие, ускоряющих нормализацию функции в постгипоксический период и увеличивающих резистентность организма или отдельных органов к ней [3, 5, 7].

Поэтому актуален выбор адекватной биологической модели для исследования антигипоксантов, так как от чувствительности животного к гипоксии во многом зависит и точность оценки антигипоксанта действия препаратов.

Известно, что животные отличаются по своей чувствительности к воздействию экстремальных факторов. Гипоксия – один из таких факторов. В связи с этим задачей настоящей работы является создание линий крыс, оппозитных по чувствительности к острой гипобарической гипоксии.

Необходимость такой работы вызвана тем, что экспериментаторы испытывают определенные затруднения, так как до сих пор отсутствуют линии крыс, которые были бы селекционированы по чувствительности к острой гипобарической гипоксии. Отбор же их из популяции неинбредных животных требует больших материальных и временных затрат.

Материалы и методы

Исходным материалом служила неинбредная популяция крыс филиала «Андреевка» (ранее Центральный питомник РАМН) ГУ НЦ БМТ РАМН. Для селекции были использованы животные обоего пола в возрасте 3–3,5 месяцев, содержащиеся в конвенциональных условиях. Крысы содержались в пластмассовых клетках Т2 с автопоилками и получали гранулированный комбикорм фирмы «Информкорм» вволю. Ежедневно они получали также белково-витаминную подкормку (состав: овсянка, сухое молоко, витамины А, Е, С в масле). В качестве подстилочного материала применялись древесные опилки.

Отбор животных осуществляли по индивидуальной чувствительности к острой гипобарической гипоксии. Для этого каждая крыса в барокамере «поднималась на критическую высоту» (11,5 тыс. м) со скоростью 165 м/сек, где она находилась до агонального состояния. Исследуемые показатели: ВПП — время первого падения (переход в лежачее положение), характеризующее порог реакции организма на данное воздействие, с; ВЖ — время жизни «на высоте» (до появления агонального дыхания), с; ВВП — время восстановления позы после «спуска» животного с «высоты», с [7].

Мерой оценки чувствительности животных к острой гипобарической гипоксии служило время жизни «на высоте». К группе высокоустойчивых крыс были отнесены те животные, которые выдерживали в барокамере острую гипобарическую

гипоксию не менее 1200 с ($ВЖ > 1200$ с), к низкоустойчивым — животные, выдерживающие острую гипобарическую гипоксию менее 150 сек ($ВЖ < 150$ с).

Разведение отобранных (по селектируемому признаку) животных осуществляется в строгом соответствии с «Правилами разведения инбредных животных» по системе близкородственного скрещивания родных братьев и сестер (в соотношении 1:1). При этом нами неукоснительно соблюдаются два условия, а именно, чтобы потомство каждого последующего поколения проходило тест на чувствительность к острой гипобарической гипоксии и соответствовало требованию селекции. Второе — для поддержания гипоксийных линий (во избежание нежелательных скрещиваний) потомство каждого последующего поколения при отсадке от родителей рассаживалось отдельно по полу.

Результаты

Показателем эффективности селекции при инбредном разведении является степень инбридинга, что означает процентное соотношение гомозиготных и гетерозиготных особей в инбридируемой линии. Очевидно, что чем больше инбредных поколений прошла данная линия, тем больше соотношение в ней гомозигот и гетерозигот смещается в пользу первых. В представленных таблицах приведены результаты селекции инбридируемых линий крыс по чувствительности к острой гипобарической гипоксии. Для сравнения взяты животные второго (F2) и пятого (F5) поколений.

Как свидетельствуют полученные данные, у крыс обеих линий во втором поколении обнаруживаются все три категории чувствительности к гипоксии — низкоустойчивые, среднеустойчивые и высокоустойчивые, в то время как у крыс пятого поколения проявляются только по две категории чувствительности. У высокоустойчивой линии отсутствует низкоустойчивая

категория крыс, а у низкоустойчивой — нет высокоустойчивых животных.

В целях контроля степени эффективности селекции американским генетиком Райтом были введены кривые роста гомозиготности при скрещивании животных, связанных между собой различными степенями родства. Они позволяют определять теоретически ожидаемую степень гомозиготности в каждом последующем поколении в зависимости от используемой системы скрещивания (рис. 1) [8]. Все линии лабораторных животных (в нашем случае крысы) выведены и, как правило, поддерживаются скрещиванием родных братьев и сестер. Те-

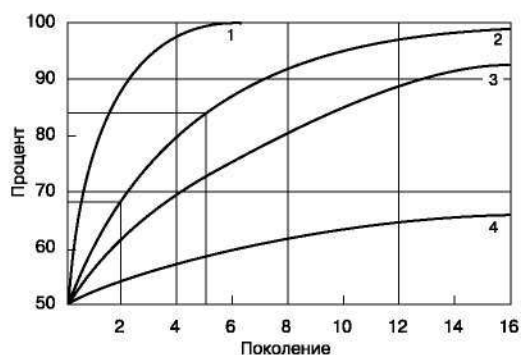


Рис. 1. Повышение гомозиготности при различной интенсивности инбридинга: 1 — самооплодотворение; 2 — скрещиваемые особи родные братья и сестры; 3 — скрещиваемые особи полубратья и полусестры; 4 — скрещиваемые особи двоюродные братья и сестры

оретические расчеты показывают, что во втором поколении доля гомозиготных особей составляет примерно 67–68%, а в пятом — 83%. Следовательно, результаты наших исследований не только не отличаются от теоретически ожидаемых, а, напротив, полностью согласуются с ними. Таким образом, приведенные данные (табл. 1 и 2, рис. 1) показывают, что после 20 поколений братско-сестринских скрещиваний гомозиготность линий приближается к 100%.

Однако, каков бы ни был инбредный возраст линии и степень ее инбридинга, линейных животных нельзя рассматривать как неизменных на протяжении длительного промежутка времени, так как существует ряд объективных и субъективных факторов, которые могут повлиять на гомозиготность линии. В частности, линейные животные подвержены наследственной (мутационной) изменчивости в той же мере и по тем же закономерностям, как и всякие другие организмы. К числу указанных факторов относятся также сцепление признаков и отбор животных на жизнеспособность.

Для того чтобы исключить влияние этих факторов, инбридинг линий должен проводиться непрерывно с регулярным (один раз в четыре поколения) контролем степени гомозиготности селектируемого признака.

Таблица 1

Показатели степени инбридинга у крыс второго поколения (F2)

	Чувствительность к гипобарической гипоксии	Время жизни (ВЖ), мин	Количество животных	Процентное соотношение
Высокоустойчивые линии (ВУ)				
1	Низкоустойчивые	от 0 до 3	5	10,6
2	Среднеустойчивые	от 3 до 15	11	23,4
3	Высокоустойчивые	от 15 и >	31	66,0
Низкоустойчивые линии (НУ)				
1	Низкоустойчивые	от 0 до 3	27	67,5
2	Среднеустойчивые	от 3 до 15	8	20,0
3	Высокоустойчивые	от 15 и >	5	12,5

Показатели степени инбридинга у крыс второго поколения (F5)

	Чувствительность к гипобарической гипоксии	Время жизни (ВЖ), мин	Количество животных	Процентное соотношение
Высокоустойчивые линии (ВУ)				
1	Низкоустойчивые	от 0 до 3	—	—
2	Среднеустойчивые	от 3 до 15	3	14,3
3	Высокоустойчивые	от 15 и >	15	85,7
Низкоустойчивые линии (НУ)				
1	Низкоустойчивые	от 0 до 3	25	83,4
2	Среднеустойчивые	от 3 до 15	5	16,6
3	Высокоустойчивые	от 15 и >	—	—

Поскольку явление гипоксии сопровождается многие патологические состояния, выведение линий крыс, оппозирующих по чувствительности к острой гипобарической гипоксии, весьма актуально. Такие линии могут быть использованы в качестве биологических моделей при изучении аналогичных состояний у человека.

Литература

1. Арбузов С.А., Пастушенков Л.В. Фармакология и токсикология. 1969, № 1, с. 115.
2. Гичев Ю.Ю., Гичев Ю.П. Руководство по биологически активным пищевым добавкам. М.: Триада-Х, 2001. с. 230.
3. Лукьянова Л.Д. Механизмы действия антигипоксантов. Антигипоксанты — новый класс фармакологических веществ. В сб. *Антигипоксанты*, М., 1991, с. 5.
4. Лукьянова Л.Д. Фармакологическая коррекция митохондриальной дисфункции при гипоксии. В сб. *Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты*. М. 2004, с. 456.
5. Оковитский С.В., Смирнов А.В. Антигипоксанты. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2001. Т. 64, № 3, с. 76–80.
6. Стрелков Р.Б., Чижов А.Я. Прерывистая нормобарическая гипоксия в профилактике, лечении и реабилитации. Екатеринбург: Уральский рабочий. 2001, с. 398.
7. Хатт Ф. В сб. Генетика животных. М. 1969, с. 314.
8. Чернобаева Г.Н., Романова В.Е., Дудченко А.М., Германова Э.Л., Лукьянова Л.Д. Антигипоксические эффекты и механизмы действия некоторых производных 3-оксипиридинов. В сб. *Антигипоксанты*. М. 1991, с. 26.

DEVELOPMENT OF OPPOSITE RAT STRAINS WITH DIFFERENT HYPOBARIC HYPOXIA SENSITIVITY

H.H.Semenov

Research Centre for Biomedical Technologies of RAMS, Moscow

The random bred white rats from the RAMS Central Farm of Laboratory Animals (now a filial branch Andreevka of RCBMT) were being selected within 5 generations to develop two inbred strains with opposite sensitivity to hypobaric hypoxia. As a result, we have a sensitive strain (83% of animals are sensitive) and a resistant strain (86% of animals are resistant).

Key words: selection, rats, hypobaric hypoxia, inbreeds.