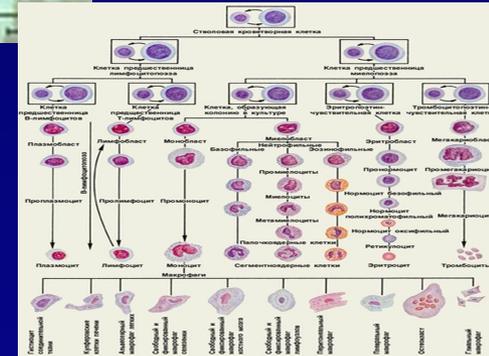
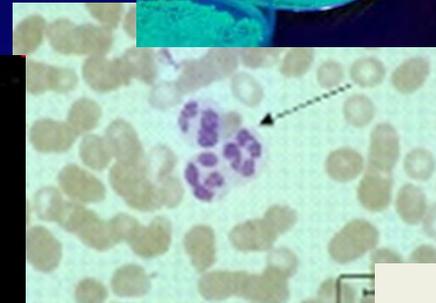
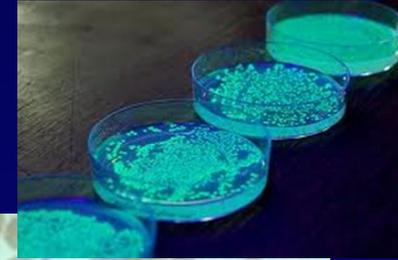


ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ БИОМОДЕЛИ



Эксперименты на биологических объектах

- В предыдущей лекции было показано, что экспериментальная биология представлена следующими характеристиками:
 1. Эмпирический уровень познания.
 2. Изучает влияние абиотических и биотических факторов на биологические системы.
 3. Объект исследования – все живые организмы на всех уровнях организации (от субмолекулярных до биосферы), на всех стадиях онтогенеза.
 4. Эксперимент - общенаучный метод получения в контролируемых и управляемых условиях новых знаний о причинно-следственных отношениях между явлениями и процессами.

Биологическими объектами могут служить все живые организмы – микроорганизмы, растения, животные. В данной дисциплине подробнее будет представлены в качестве биологических объектов животные. Подробнее разберем эксперименты на мышах и человеке. Прежде всего обсудим что такое биомодели, принципы биотки.

Наиболее общие принципы, которыми необходимо руководствоваться при проведении контролируемых исследований на живых объектах, следующие:

- убедительные основания в необходимости планируемых экспериментальных исследований и невозможности замены животного какой-либо моделью или альтернативным объектом исследования;
- минимизация количества привлекаемых к исследованию животных за счет стандартизации условий эксперимента, повышения информативности методических приемов, исключения факторов, увеличивающих разброс экспериментальных данных;
- принятие необходимых мер, исключающих страдания животных;
- обязательное обеспечение надлежащего ухода за животными с учетом особенностей их этиологии;
- гуманное отношение к животным (студенческая лабораторная работа, учебно-научный эксперимент, тестирование лекарственного препарата и др.).

Право на использование животных в экспериментах имеют высшие учебные, научно-исследовательские и лечебные учреждения, у которых есть специальные лаборатории.

Под моделью подразумевается материальный или виртуальный объект, замещающий в процессе изучения объект-оригинал или прототип, сохраняя типичные для конкретного исследования черты.

- **Биомодели первого порядка. Лабораторные животные** - это классические биологические модели, реакции которых на действие веществ или факторов во многом подобны их эффектам у человека. Экстраполяция на человека данных, полученных в экспериментальных исследованиях на животных, является одной из важных задач.
- **Биомодели второго порядка.** В настоящее время в исследованиях оценки веществ все чаще применяются альтернативные модели (различные гидробионты, бактерии, ферменты, культуры клеток и др.).
- **Биомодели третьего порядка** представляют собой математические модели, описывающие биологические процессы.
- **Модели четвертого** и более высоких порядков используют для описания взаимодействия неспаренных электронов, квантово-химических, микроволновых процессов, синглетных и триплетных отношений и т.п.

Федеральный закон о защите животных от жестокого обращения (РФ, 1997).

Представляет несколько пунктов, из которых в данной дисциплине необходимо как минимум запомнить:

- **Животные** - любые животные, обладающие нервной системой и оказывающиеся в сфере деятельности или воздействия человека.
- **Жестокое обращение с животными** - действия, повлекшие гибель или страдания (увечье, травму, лишение животного мест естественного обитания и так далее) животного.
- **Жестокое умерщвление животных** - умерщвление животных без применения методов, устраняющих ощущение животными боли или страха.
- **Эвтаназия** - гуманные методы умерщвления животного, исключаящие его предсмертные страдания.

Лабораторные животные

- Исследования по некоторым разделам медицины и биологии проводят на лабораторных животных определенных видов, ставших «традиционными». Так, в экспериментальной хирургии используют собак, в гистологии — кошек, в физиологии — собак, кроликов, лягушек и других животных, в вирусологии — мышей, обезьян и др.

Линейные животные

- Инбредной линией называют совокупность животных, размножаемых скрещиванием брат x сестра в течение не менее 20 поколений, что обеспечивает их гомозиготность и гистосовместимость. Каждая инбредная линия – это один закрепленный инбридингом генотип.
- До 30-х годов прошлого столетия в медико-биологических исследованиях использовались беспородные белые мыши, сейчас такие животные называются нелинейными или аутбредными. Позже с развитием биологических наук стала ясна непригодность использования нелинейных животных в ряде медицинских и биологических опытов.

Лаборатории

(Вид лабораторий был продемонстрированы вам на лабораторных занятиях экспериментальной биологии)

- Экспериментальные исследования проводятся в специально оборудованных помещениях — лабораториях. Лаборатории бывают различными по своему предназначению и объему работ. Биологические лаборатории могут создаваться при учебных заведениях, научных, производственных. В зависимости от направления могут быть генетическими, молекулярными, физиологическими, токсикологическими и т.д. Либо комплексные, где оборудуются места для проведения определенных исследований.



Виварий

- – научно-вспомогательное подразделение, которое служит для содержания, а в некоторых случаях и для разведения, лабораторных животных, используемых в медико-биологических исследованиях, а также в учебных целях.
- .

Три вида биомоделей

- Лабораторные животные
- Альтернативные организмы
- Математические модели

Лекция 3. Экспериментальные животные (продолжение)

- Следует знать, что для решения многих современных вопросов в биологии, медицине, для решения вопросов влияния различных воздействий на растения, разработаны дополнительные формы лабораторных биологических систем.

Трансгенные животные

- - это экспериментально полученные животные, содержащие во всех клетках своего организма дополнительную интегрированную с хромосомами чужеродную ДНК (трансген), которая передается по наследству.
- Термин «трансгеноз» был предложен в 1973 г. для обозначения переноса генов одних организмов в клетки организмов других видов, в том числе далеких в эволюционном отношении. Получение трансгенных животных осуществляется с помощью переноса клонированных генов (ДНК) в ядра оплодотворенных яйцеклеток (зигот) или эмбриональных стволовых (плюрипотентных) клеток. Затем в репродуктивные органы реципиентной (получающей) самки пересаживают модифицированные зиготы или яйцеклетки, у которых собственное ядро заменено на модифицированное ядро эмбриональных стволовых клеток, либо бластоцисты (эмбрионы), содержащие чужеродную ДНК эмбриональных стволовых клеток.

Трансгенные животные

- Технология создания трансгенных животных является одной из наиболее бурно развивающихся биотехнологий в последние 10 лет. Трансгенные животные широко используются как для решения большого числа теоретических задач, так и в практических целях для биомедицины и сельского хозяйства. Некоторые научные проблемы не могли бы быть решены без создания трансгенных животных. Генетически модифицированный организм (ГМО) организм, генотип которого был искусственно изменён при помощи методов генной инженерии. Это определение может применяться для растений, животных и микроорганизмов.
- Трансгенный организм живой организм, в геном которого искусственно введен ген другого организма. Целью создания трансгенных организмов является получение организма с новыми свойствами. Клетки трансгенного организма производят белок, ген которого был внедрен в геном.
Положительное влияние ГМО: 1)фито очистка; 2)лечение раковых заболеваний; 3) выращивание органов для трансплантации; 4)отпадет нужна в удобрениях; 5) продукты с ГМО не способны изменить наш геном;
- **Отрицательное влияние ГМО** 1)аллергические реакции и нарушения иммунной защиты; 2) может привести к зависимости национальной экономики от компаний, владеющих биотехнологиями 3) представляет угрозу продовольственной и экологической безопасности страны

Нокаутные животные

- это метод молекулярной генетики, при котором из организма удаляют или делают неработоспособными определенные гены. Таким образом получают организм, «нокаутный» по неработающим генам. Нокаутные организмы помогают узнать функции генов, нуклеотидная последовательность которых известна (обратная генетика). экспрессию одного или нескольких генов «отключают», или «выбивают» (нокаутируют), с целью получения мутантного животного с утратой той или иной функции.

Химеры

- Животные, в организме которых присутствуют клетки другого вида животных. Химера человек-мышь.
- Единый организм, состоящий из двух или более разных популяций генетически различных клеток. Химера двухцветной розы. Генетический химеризм или химера (/kaɪ 'mɪərə/ky-MEER-ə или /ki 'mɪərə/kə-MEER- ə , также химера (chimæra)) - это единый организм, состоящий из клеток с более чем одним генотипом . У животных это означает особь, происходящую от двух или более зигот, которые могут включать в себя клетки крови разные группы крови , с небольшими вариациями (фенотип) и, если зиготы были разными полами, то даже обладание как женскими, так и мужскими половыми функциями (это всего лишь один из множества различных феноменов, которые приводят к интерсексуальности). Химические животные получаются путем слияния нескольких оплодотворенных яиц. Однако у химер растений разные типы тканей могут происходить из и той же зиготы , и различные часто связаны с мутацией во время обычного деления клеток . Обычно генетический химеризм не виден при случайном осмотре; однако он был обнаружен в ходе подтверждения отцовства. Другой способ, которым химеризм может возникнуть у животных, - это трансплантация органа, дающая одну отдельную ткань, которая развивалась из другого генома. Например, трансплантация костного мозга часто определяет последующую группу крови.

Ранее мы уже обсуждали вопрос, какие же виды животных используются в биологии?

- В качестве примеров рассмотрим достаточно часто используемые виды животных.



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ БИОМОДЕЛИ

- **Мини-свиней**, созданные генетиками еще при разработке проекта американской атомной бомбы. Мини-свинья представляет собой великолепную биологическую модель, поскольку по ряду анатомо-физиологических показателей стоит ближе всего к человеку **после обезьяны**. Мини-свинья имеет сходные с человеком состав крови и уровень артериального давления, наиболее адекватные человеку строение кожи и ее проницаемость для токсичных веществ. Весьма важно, что у мини-свиней в отличие от других лабораторных животных могут, как и у человека, формироваться **атеросклеротические бляшки**.
- Другая линейная биомодель, широко используемая при изучении патологических состояний, а также при оценке фармакологических средств и ксенобиотиков, — **собаки породы бигль**.





- Бергштрессер - не более 10 кг.



- Визенау – 20-25 кг.

- Сибирская миниатюрная – до 50 кг



Бигли

Рост в холке — 33-40 см, вес от 8 до 16 кг.

Окрас: 1) трехцветный (сочетание белого, черного и яркого рыжего с белой мордой); 2) двухцветный (сочетание белого и яркого оленьего, а также желтовато-рыжего и палевого).

Шерсть: короткая, гладкая, плотно прилегающая.



- В ходе клинических испытаний были обозначены породы кроликов, которые больше всего подходят для использования в этих целях. Среди них популярными видами стали:
- 1. новозеландский белый (Америка); 2. Шиншилла (Франция).
- Эти породы наиболее часто используются у нас в России. Хотя в некоторых исследованиях допустимо использовать кроликов других пород.



■ 1.

■ 2.

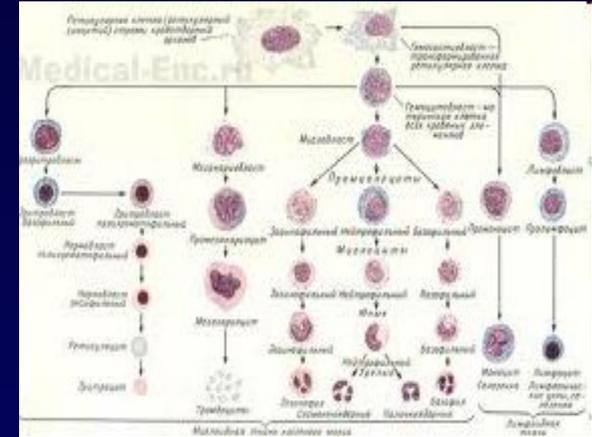


Кролики

- Кроль – классическое лабораторное животное. На нём проводят научные опыты по применению различных гормональных препаратов, вакцин, сывороток. А всё потому, что животное хорошо реагирует на токсины стафилококков. Во время овуляции крольчих, отлично изучаются функции яичников.
- Используя модели заболеваний сибирская язва, сальмонеллезы, ботулизм, столбняк, псевдотуберкулёз, экспериментальные опухоли, ревматизм, сифилис, стрептококковые инфекции, у кролей исследовали аллергические реакции на них. Из-за того, что эмбриогенез животных схож с эмбриогенезом человека, то на них воспроизводили тератогенное действие талидомида. С помощью кролей проверяют активность таких гормональных лекарств как адреналин, инсулин, проводят проверки вакцин на бешенство, в онкологической практике на них изучают различные опухоли, также животные являются объектами иммунологических исследований.

В качестве биомодели часто

используют не весь организм, а определенную систему. Очень удобным и часто используемым является кроветворная форма (но используются другие системы организма: кожа, нервной системы, репродуктивной и др.).



- Кроветворная система – одна из наиболее информативных и удобных в радиобиологических исследованиях.
- При тотальном облучении воздействию радиации подвергается весь организм.
- Регистрируются и анализируются при этом только показатели кроветворения.
- В эксперимент вносится допущение, что при данном воздействии данного фактора другие системы будут реагировать всегда таким же образом, следовательно система кроветворения каждый раз будет функционировать в конкретных измененных условиях, но ими можно пренебречь при оценке влияния облучения на кроветворение.

При выборе группы животных для проведения экспериментов, следует учитывать, как было ранее сказано, следует определять пол и возраст данного вида.

Так для грызунов постнатальное развитие животных принято подразделять на 4 периода: молочного кормления, полового созревания, репродуктивный период, период выраженных старческих изменений.

Грызуны



Грызуны

1.Период молочного кормления.

Животные находятся в гнезде или с матерью и кормятся молоком. Характерен интенсивный рост. Этот период в свою очередь подразделяется на две части: 1) возраст новорожденный; 2) возраст подсосный.

2.Период полового (морфо-функционального) созревания.

Самостоятельное кормление. У них хорошо развиты двигательные акты, рефлекс. Появляются вторичные половые признаки. Интенсивный линейный рост. Также подразделяется на две стадии: 1) возраст неполовозрелый (инфантильные животные) 2) Возраст предслучный (ювенильные животные). Хорошо выражены вторичные половые признаки. Появляется половая охота.

3.Репродуктивный период (морфо-функциональной зрелости).

Половые органы сформированы. У самок устанавливается эстральный цикл. Продолжается рост тела, но более замедленный. 1) Возраст молодой. Животные допускаются в случку. Размножение интенсивное Приплод многочисленный, крепкий. Зубы белые без признаков стирания. 2) Возраст зрелый. Интенсивность размножения снижается. Помет меньше по численности. Иногда ослабленный.

4.Период выраженных старческих изменений.

Резкое снижение или прекращение репродуктивной функции и половой охоты. У самок наступление менопаузы. Двигательная активность резко снижена. Начинается атрофия мышц, снижение остроты зрения и слуха, зубы стертые. Шерстный покров тускнеет, прорежен. Болезни. 1) Возраст предстарческий. 2) Возраст старческий. 3) Возраст предельно старческий. Одряхление

Эксперимент

- В дальнейшем по этой дисциплине в лабораторных работах мы с вами подробнее разберем понимание и оценку действия факторов на животных. Разберем следующие понятия:

Контроли

1. Биологический контроль.
2. Отрицательный контроль (по растворителю или субстрату)
3. Положительный контроль (внесение стандартных мутагенов для проверки корректности проведения опыта).

НОРМА

- Понятие норма – одно из наиболее общих и широких понятий в биологии и медицине. Оно стоит на стыке медико-биологических и философских наук. Несмотря на широкое применение понятия «норма» в биологии до сих пор нет его универсального определения.

- **НОРМА** – биологический оптимум живой системы, интервал, в пределах которого ее функционирование является наиболее эффективным и сбалансированным применительно к конкретным условиям. Это состояние, при котором обеспечивается максимальная адаптация. Под оптимумом живой системы подразумевается лучшее из реально возможных однородных состояний.

- **НОРМА** – мера целесообразной жизнедеятельности организма и его элементов, определяющая динамическое самосохранение организма в различных условиях существования и имеющую в основе закрепленные генотипы и проявляющиеся через фенотип организацию реагирующего субстрата и формы реагирования.

План эксперимента.

1. Фактор воздействия.
2. Сроки воздействия.
3. Число групп и контролей.
4. Схема эксперимента.
5. Протокол каждой методики.
6. Документы учета.
7. Обработка и анализ результатов. *В зависимости от результатов исследования принято давать три направления ответа. Положительный эффект Отрицательный, если нет отличий. Если отличия были, но недостоверные, то, делается заключение о том, что данное вещество нельзя отнести к истинным мутагенам..., но нельзя однозначно исключить мутагенные свойства д.в., и дается рекомендация продолжить тестирование.*
8. Отчет.

Статистическая обработка

- Любое исследование может считаться законченным только тогда, когда результаты прошли статистическую обработку, материал представлен компактным образом, вычислены среднее арифметическая величина и среднее квадратическое отклонение. Это первый этап обработки данных. На втором этапе выявляются закономерности и связи показателей между собой.
- Метод статистического анализа возник в конце 19-го начале 20-го века из потребностей биологии и экономики. Сейчас широко применяется в самых разнообразных областях науки, техники и с/х. Методы современной статистики позволяют извлечь из экспериментов множество информации и оценить ее надежность. Однако нельзя и преувеличивать значимость статистических методов и превращать их использование в самоцель.

Математическая статистика

- - (вариационная статистика, биометрия) – раздел математики, который опирается на теорию вероятности. Он посвящен математическим методам систематизации, обработки результатов экспериментов и наблюдений и используется для отыскания, анализа и обоснования закономерностей изучаемых явлений.
- **Главная задача экспериментатора** – постановка добротных, целенаправленных опытов. МС не вскрывает сущности и причин явлений, но записывает, формулирует **количественную сторону** этих явлений.

Количественная статистическая обработка и анализ результатов наблюдений производится для решения следующих **задач**:

1. **свертки информации**, т.е замены множества величин одной или несколькими, которые могут достаточно надежно представлять исходную информацию ($M \pm m$);
2. получения количественных характеристик надежности данных **достоверность**;
3. выделения объективных **закономерностей**.

Экстраполяция

- Распространение результатов, полученных из наблюдений над одной частью явления, на другую его часть.
- Сложности:
- Компьютерные модели – живые организмы.
- *In vitro* – *in vivo*.
- Межвидовая.

Лекции 4, 5, 6, 7

- Будут посвящены изучению токсических экспериментов на животных.