

УДК: 57:599.325.1:616-092.4

КРОЛИКИ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ В БИОЛОГИИ

Лебедева Ж. И.¹, Павлов В. М.¹, Мироненко И. В.¹, Макарова М. А.¹

¹ВолгГМУ-Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, Волгоград, e-mail: blacktea.1@mail.ru

В настоящее время кролики являются классическими лабораторными животными используемые в разных биологических исследованиях. Кролики отличаются высокой плодовитостью, быстрым ростом и развитием, отсутствием сезонности полового цикла. Кролики небольшие зверьки, которых можно содержать группами, либо одиночно в зависимости от типа исследования. Они являются прекрасной моделью для физиологических, токсикологических и фармакологических исследований. Из-за того, что эмбриогенез кроликов схож с эмбриогенезом человека, на них проверяют тератогенное действие. Для проведения теста на пирогенность используют только кроликов, так как они являются единственными лабораторными видами, которые могут определить нежелательные примеси в препарате, вызывающие лихорадку. Также на кроликах проводят исследования по применению различных гормональных препаратов, вакцин и сывороток, дело в том, что кролики одни из самых чувствительных животных к токсинам стафилококков. В фармакологических исследованиях возможно проверка влияния на сосуды фармакологических веществ, данные испытания проводятся на кроликах-альбиносах, так как слезы с их глаз выделяются меньше, чем у других животных, а пигмент глаз отсутствует. Широкое применение кролики получили и в косметической сфере для продуктов на основе ботулинических токсинов.

Ключевые слова: модельный объект, кролики, биологический эксперимент, биопроба

RABBITS AS A MODEL OBJECT IN BIOLOGY

Lebedeva Zh. I.¹, Pavlov V. M.¹, Mironenko I. V.¹, Makarova M. A.¹

¹ Volgograd State Medical University, Russia, Volgograd, e-mail: blacktea.1@mail.ru

Currently, rabbits are classic laboratory animals used in various biological studies. Rabbits are characterized by high fecundity, rapid growth and development, and the absence of seasonality of the reproductive cycle. Rabbits are small animals that can be kept in groups, or singly, depending on the type of study. They are an excellent model for physiological, toxicological and pharmacological studies. Due to the fact that rabbit embryogenesis is similar to human embryogenesis, teratogenicity is checked on them. For the pyrogenicity test, only rabbits are used, as they are the only laboratory species that can detect undesirable impurities in the preparation that cause fever. Also, studies on the use of various hormonal preparations, vaccines and serums are carried out on rabbits, the fact is that rabbits are one of the most sensitive animals to staphylococcal toxins. In pharmacological studies, it is

possible to check the effect of pharmacological substances on the vessels, these tests are carried out on albino rabbits, since the tears from their eyes are less than that of other animals, and there is no eye pigment. Rabbits were widely used in the cosmetic field for products based on botulinum toxins.

Keywords: model object, rabbits, biological experiment, bioassay

Введение

В биологических исследованиях широко применяются модельные организмы. В современной экспериментальной биологии, большинство открытий были сделаны на модельных объектах. Модельные организмы используются для изучения каких-либо свойств или процессов, влияние различных веществ на данные организмы, так как проведение исследований на человеке невозможно по техническим и этическим причинам. Модельными объектами становятся организмы, по которым накоплено множество данных. В основном в качестве моделей выбирают организмы, которые легко содержать и разводить в лабораторных условиях. Все модели отвечают определенным требованиям: воспроизводимость результатов; возможность стандартизации основных физиологических, анатомических и морфологических параметров.

Преимущество кроликов относительно применения в экспериментальной биологии и медицине являются: чувствительность к конкретным биологическим и физическим факторам, неприхотливость к условиям содержания, доступность и небольшая стоимость. Также к основным особенностям кроликов относятся их быстрое половое созревание и большая плодовитость, размножение не имеет сезонной привязанности. Организм кроликов очень чувствителен к различным биологическим агентам, таким как вирусы, бактерии, что позволяет использовать их в изготовлении и тестировании различных препаратов. Основным требованием к животным является отсутствие врожденных патологий, также они не должны являться носителями вирусов и микробов.

Основная часть

Кролики — общее название нескольких родов млекопитающих из семейства зайцевых (в том числе и домашних кроликов).

Кролик имеет тело овальной формы и достаточно крупные уши длиной до 10 см. Размеры туловища взрослых особей составляет от 20 до 55 см, а вес кролика варьируется от 400 г до 2 кг и более. У кроликов крупные и мощные задние конечности. Передние ноги пятипалые, задние — четырехпалые. Пальцы оканчиваются

крепкими острыми когтями. Кролики относятся к типу пальцеходящих животных, при ходьбе им служат опорой кончики пальцев.

Кролик обладает уникальной пищеварительной системой: его слепая кишка в 10 раз превышает размер желудка. С помощью мускулатуры кишки потребляемая пища разделяется на:

- волокнистые структуры, которые выводятся как фекалии,
- на питательные вещества, богатые витаминами, минералами и белками, «упакованные» в слизистые мешки и выходящие из организма как цекотрофы.

Кролики едят свои цекотрофы, удовлетворяя тем самым пищевые потребности организма в важных питательных элементах.

Шерсть кролика длинная и мягкая, а окрас включает различные вариации серого, коричневого и желтого цветов, хотя нередко встречаются кролики с однотонным цветом меха.

Кроликов часто путают с грызунами, а когда-то даже относили к общему классу грызунообразных. Важное отличие кроликов от грызунов заключается в том, что у грызунов на верхней челюсти расположено 2 резца, а кролики на верхней челюсти имеют 4 резца, растущих друг за другом. Всего у кроликов 28 зубов.

Резцы служат для срезания пищи, а коренные зубы – для ее пережевывания. Резцы кроликов не имеют корня и растут на протяжении всей жизни животных, увеличиваясь в среднем на 2,5 мм в неделю. В связи с этим фактом животным необходимо постоянно потреблять грубые корма и стирать нарастающую часть зубов.

В дикой природе продолжительность жизни кроликов обычно не превышает 3-4 лет. В условиях грамотного домашнего содержания кролики живут от 4-5 до 13-15 лет.

Продолжительность жизни кроликов может варьироваться в зависимости от:

- породной принадлежности,
- генетических особенностей,
- кормления,
- у самцов – от частоты спаривания,
- у самок – от частоты окролов.

Кролики считаются одними из наиболее плодовитых млекопитающих и могут размножаться круглый год, в течение которого одна крольчиха приносит от 3 до 5 пометов. Половая зрелость кроликов наступает в возрасте 5-6 месяцев, поэтому крольчата, появившиеся на свет в начале года, летом уже способны размножаться. Кролики — полигамные животные, хотя отдельные особи моногамны, и самцы живут на участке определенной крольчихи. Беременность кроликов длится от 28 до 40 дней, в помете может быть от 2 до 12 детенышей, хотя обычно от 4 до 7.

Новорожденные кролики обычно имеют вес 40-50 грамм и прозревают на 10 день, а на 25 день полностью готовы к самостоятельной жизни, хотя еще неделю кормятся молоком матери.

Начиная с 3-4 недели жизни, маленькие крольчата начинают питаться кормом помимо материнского молока.

Содержание в лабораторных условиях

Кролики живут колониями в природных условиях. При содержании в неволе им требуется предоставлять достаточно пространства с богатой средой, нехватка которого может привести к потере нормальной двигательной активности и возникновению скелетных аномалий.

Среда обитания

В комнате необходимо постоянное обновление воздуха. Обычно достаточно 15-20 воздухообменов в час для любого помещения, но этот показатель может быть снижен до 8-10 при минимальной плотности содержания животных. В некоторых ситуациях может быть достаточной и естественной вентиляции. Требуется избавляться от рециркуляции неочищенного воздуха. Вентиляционная система должна конструироваться исключая проявление шумов и негативных для животных сквозняков, вызывающих у животных стресс.

Сырье для постройки домиков и/или гнезд позволяют кроликам саморегулировать микроклимат. Также необходимо обращать внимание на показания температуры в барьерных системах. Содержание кроликов необходимо осуществляться при температуре от 15 С до 21 С. Температура в ограждениях со сплошным дном, где располагается группа кроликов, чаще всего бывает выше комнатной и даже при хорошо работающей системе вентиляции может превышать ее на 6 С.

Относительная влажность воздуха в помещениях для содержания кроликов не должна быть ниже 45%.

Если естественное освещение не обеспечивает необходимый цикл светлого/темного времени суток, нужно учесть контролируемое искусственное освещение, соответствующее биологическим потребности животных и обеспечивающее приемлемые условия рабочей среды. В закрытых помещениях искусственное освещение необходимо включать с 6 утра до 9 вечера. При содержании кроликов-альбиносов необходимо учитывать их светочувствительность.

Шум может быть раздражителем для кроликов. Форсированный шум, а также неожиданные шумы вызывают раздражение, отрицательно сказывающееся на здоровье животных, а также на результаты исследований. Необходимо как можно уменьшить уровень раздражающего шума, распространяющегося в радиусе слышимости животных, включая в ряде случаев ультразвуковые шумы, находящиеся вне спектра слышимости человека (более 20 кГц), особенно во время отдыха животных.

Содержание, обогащение среды обитания и уход.

Молодняк и самок необходимо распределять гармоничными группами. Одиночное содержание возможно, если его причинами становятся состояние здоровья кролика или ветеринарные соображения. Приказ об одиночном содержании животных в эмпирических целях принимается после совещания с сотрудниками, ухаживающими за животными и лицом ответственным за физическое и психическое состояния животных. Взрослые не стерилизованные самцы способны на территориальную агрессию, поэтому их необходимо держать отдельно с другими не стерилизованными самцами. Для общего содержания молодняка и взрослых самок животных превосходно подходят напольные загоны с насыщенной средой обитания. Однако, необходимо внимательно контролировать группу дабы избежать потенциальной агрессии. Прекрасно подойдут для группового содержания особи из одного помета, проживающие вместе от момента разделения их с матерью. В случаях невозможного группового содержания, кролики должны находиться как можно ближе друг к другу, в пределах видимости.

Индивидуальными материалами для улучшения среды обитания животных могут быть блоки сена, грубые корма или палочки для жевания, а также постройки, дающие возможность спрятаться. В напольных загонах для общего содержания необходимо учесть расстановку разделительных барьеров и укрытий, дающих животным наблюдать

оттуда. В процессе разведения животных необходимо предоставлять им гнездовое сырье и родильные ящики.

Кормление.

Диета лабораторных кроликов должна быть как можно более сбалансированным по всем кормам. Кролик должен получать овсяные отруби, зерно и кукурузу.

Также хорошо давать семена льна и их жмых, свеклу, морковь, репу. Летом требуется нужно использовать в рационе животных свежие травы, огородную зелень, а в зимний период для этих целей проращивают овёс.

Важно для кроликов наличие в рационе сена, а также грубых волокон (веток березы, липы, яблони).

В качестве питья кроликам следует давать пастеризованное молоко или чистую питьевую воду обязательно комнатной температуры. Также важно давать молоко самкам во время беременности или лактации, а также молодняку.

Ограждения: размеры и структура пола

Преимущество необходимо отдавать прямоугольным клеткам, в которых должна быть приподнятая область, площадью не выше 40% общей площади пола. Полка позволяет животным сидеть и лежать, а также свободно двигаться под ней. Хотя высота клетки должна позволять кролику сидеть, не касаясь кончиками поднятых ушей потолка. Если есть достаточные научные или ветеринарные основания для того, чтобы не размещать в клетке такую полку, то площадь клетки должна быть на 33% больше для одного кролика и на 60% - для двух кроликов. Там, где это возможно, кроликов необходимо содержать в загонах.

Размеры

Таблица 1. Кролики старше 10 недель: минимальные размеры ограждений

Вес, кг	Минимальная площадь для 1-2 социально подходящих друг другу животных, см ²	Минимальная высота, см
<3	3500	45
3-5	4200	45
>5	5400	60

Данные Таблицы относятся и к клеткам, и к вольерам. В клетках должна присутствовать приподнятая площадка. Вольеры должны быть оборудованы разделительными барьерами, позволяющими животным инициировать социальные контакты или избегать их.

Таблица 2. Самка кролика с детёнышами: минимальные размеры ограждений

Вес самки, кг	Минимальная площадь, см ²	Дополнительное пространство для гнёзд, см ²	Минимальная высота, см
<3	3500	1000	45
3-5	4200	1200	45
>5	5400	1400	60

Как минимум за 3-4 дня вплоть до родов самке необходимо обеспечить индивидуальный отсек либо родильный ящик, в котором она имеет возможность создать гнездо. Предпочтительно, в случае если родильный ящик будет расположен за пределами зоны непрерывного содержания самки. Необходимо кроме того обеспечить солому либо иной источник ради обустройства гнезда. Заграждение ради разведения кроликов обязано быть организовано подобным способом, для того чтобы самка имела возможность покинуть с своих подросших крольчат, способных оставить гнездо, в специальный отсек, убежище либо в приподнятую площадку. В последствии отлучения от матери кроликов из 1-го помета следует как можно долговременнее сохранять вместе в том же ограждении, где они возникли. В ограждении с целью разведения разрешается держать вплоть до 8 однопометников вплоть до свершения ими года 7 месяцев. 5 однопометников 8-10-ти недельного возраста допускается включать на минимально дозволенной площади огораживания.

Кролик — один из наиболее популярных разновидностей лабораторских животных, применяемых при проведении экспериментальных исследований.

При проведении тестов на пирогенность, применяют только лишь кролика, так как они исключительный лабораторный тип, что несомненно поможет установить ненужные примеси в препарате, инициирующие лихорадку.

А всё потому, что животные владеют высочайшей чувствительностью к пирогенам, и еще в их ушные вены безгранично вводятся медикаменты в необходимом объёме. В период подобных исследований прокладывают измерение температуры в начале а также

окончании эксперимента. При увеличении температуры выше допустимой общепризнанных мерок, (лекарственное) средство является пирогеновым.

Пирогенность

Содержание животных и подготовка их к проведению испытания

Все кролики находятся в отдельных клетках, при полном пищевом рационе, также являются защищены от раздражающих факторов (звуковых, зрительных а также иных). В комнатах, где пребывают животные и проводятся тестирования, удерживают неизменную температуру воздуха 20 ± 3 °С. Перед испытанием проводят осмотр звериных а также отбирают здоровых кроликов одного пола, никак не альбиносов, с весом тела от 2,0 до 3,5 килограмм, которые никак не теряли в массе в течение предшествующей недели.

За 18 часов до испытания кроликов лишают корма без ограничения воды. В период эксперимента животные никак не принимают ни корма, ни воды. Кроликов, впервой специализированных ради эксперимента или не участвовавших в эксперименте наиболее 4месяцев, заранее подготавливают к процедуре испытания, исполняя все рабочие операции (осматривание, взвешивание, определение температуры тела) за исключением инъекции.

Кролики, прежде бывшие в эксперименте, имеют все шансы быть использованы снова через трое суток, в случае если введенное им лечебное средство было апиогенным. При увеличении температуры тела у животного в $0,6$ °С а также наиболее, кролик может быть применен для последующих экспериментов не прежде, чем через 2 недели.

Если испытываемое лекарственное средство владеет антигенными свойствами, в таком случае процедура вторичного применения животных для тестирований указывают в фармакопейной статье.

Введение испытываемого лекарственного средства

Лекарственное средство над которым проводят испытание вводят в ушную вену кролика, если в фармакопейной статье не указан другой путь введения. Объем инъецируемого раствора должен составлять не менее 0,2 мл и не более 10 мл на 1,0 кг массы тела животного. Перед введением раствор подогревают до температуры $37,0 \pm 2$ °С.

Тест-дозу испытываемого лекарственного средства, объём вводимого раствора и, если необходимо, скорость введения указывают в фармакопейной статье.

Проведение испытания

Тестирование лекарственного средства проводят на трёх кроликах с начальной температурой от $38,5$ °С до $39,5$ °С.

До начала эксперимента, с интервалом не меньше 30 мин., у всех кроликов два раза берут показания температуры тела. Отличия в каждом замере температуры одного и того

же животного не могут быть $0,2^{\circ}\text{C}$. Иначе кролика не допускают к исследованию. Начальной температурой считают последнее показание температуры.

После второго измерения температуры кроликам следует ввести раствор лекарственного средства для исследования.

Раствор лекарственного средства вводят внутривенно, после этого через каждые 30 мин. в течение 3 часов измеряют показания температуры. Если ввод лекарственного средства проводится другим парентерального способом, то в течение 5 часов.

Учет результатов

Допускается возможность осуществлять проверку лекарственного средства поэтапно. Три кролика включены во все этапы исследования. Наибольшее количество этапов должно быть не больше четырёх.

В конце каждого этапа измеряют наибольшее изменение температуры (Dt) тела всех кроликов согласно начальному значению. Изменение температуры берут за нулевое и не принимают во внимание, если оно составляет величину ниже начальной.

У всех кроликов вычисляют сумму индивидуальных наибольших повышений температур ($S Dt$). Значения ($S Dt$), вычисленные на всех этапах исследования, складывают и соотносят с уровнями, указанными в Таблице 1.

После проведения первого этапа исследования лекарственное средство считают апирогенным в случае, если результат исследования ниже или равен $1,2^{\circ}\text{C}$ (Таблица 1, колонка 3), а индивидуальное повышение температуры у всех кроликов не выше $0,5^{\circ}\text{C}$ (колонка 4).

Если полученный результат после первого этапа исследования выше $1,2^{\circ}\text{C}$ (колонка 5) или индивидуальное повышение температуры больше $0,5^{\circ}\text{C}$ у какого-либо из кроликов (колонка 6), то нужно начать проведение последующего этапа исследования.

После проведения второго этапа исследования лекарственное средство считают апирогенным в случае, если результат исследования ниже или равен $2,8^{\circ}\text{C}$ (колонка 3), а индивидуальное повышение температуры выше $0,5^{\circ}\text{C}$ получено больше чем у одного из экспериментальных животных (колонка 4).

Если полученный результат после второго этапа исследования выше $2,8^{\circ}\text{C}$, но ниже $4,3^{\circ}\text{C}$ (колонка 5), или больше, чем у какого-либо из кроликов получено индивидуальное повышение температуры выше $0,5^{\circ}\text{C}$ (колонка 6), то нужно начать проведение последующего этапа исследования.

После проведения третьего этапа исследования лекарственное средство считают апирогенным в случае, если результат исследования ниже или равен $4,5^{\circ}\text{C}$ (колонка 3), а

индивидуальное повышение температуры выше 0,5 °С получено хотя бы у двух из девяти экспериментальных животных (колонка 4).

Если полученный результат после третьего этапа исследования выше 4,5°С, но ниже 6,0°С (колонка 5), или больше, чем у каких-либо двух кроликов (колонка 6) получено индивидуальное повышение температуры выше 0,5°С, то нужно начать проведение последующего этапа исследования.

После проведения четвертого этапа исследования лекарственное средство считают апиrogenным в случае, если результат исследования ниже или равен 6,6°С (колонка 3), а индивидуальное повышение температуры выше 0,5 °С получено не выше трех из двенадцати животных (колонка 4).

Лекарственное средство считают пиrogenным в случае, если полученный результат второго и следующих этапах исследования больше, чем результаты, указанные в колонке 7. Лекарственное средство считают пиrogenным также в случае, если в результатах всех этапов исследования получено индивидуальное повышение температуры выше 0,5°С больше, чем у трех кроликов из двенадцати.

Таблица 3. Оценка результатов испытания

Этап	Общее количество животных	Оценка результатов испытания ($\Sigma\Delta t$)				
		Лекарственное средство признают апиrogenным		Повторное испытание (перестановку) проводят		Лекарственное средство признают пиrogenным, если $\Sigma\Delta t$
		Если $\Sigma\Delta t$	При числе животных с повышением $\Delta t > 0,5^\circ\text{C}$ не более	Если $\Sigma\Delta t$	При числе животных с повышением $\Delta t > 0,5^\circ\text{C}$	
1	2	3	4	5	6	7
I	3	$\leq 1,2$	-	$> 1,2$	1	-
II	6	$\leq 2,8$	1	$> 2,8$, но $< 4,3$	> 1	$> 4,3$
III	9	$\leq 4,5$	2	$> 4,5$, но $< 6,0$	> 2	$> 6,0$
IV	12	$\leq 6,6$	3	-	-	$> 6,6$

Помимо того, на животных ставят эксперименты по применению разных сывороток, гормональных препаратов, вакцин, так как кролики отлично реагируют на стафилококковые токсины. Функции яичников хорошо можно изучить в период овуляции крольчих.

С помощью модели заболеваний сальмонеллезы, столбняк, сибирская язва, сифилис, псевдотуберкулез, ботулизм, ревматизм, стрептококковые инфекции, экспериментальные опухоли, у кроликов изучали аллергические реакции на данные заболевания.

Эмбриогенез кроликов похож на эмбриогенез человека, поэтому на животных испытывали тератогенное воздействие талидомида.

У кроликов испытывают активность гормональных лекарств, таких как инсулин, адреналин, на животных исследуют разные опухоли, исследуют вакцины на бешенство. Помимо этого, кролики – объекты иммунологических исследований.

Из-за изолированного уха, кролики хорошо использовать в исследованиях воздействия фармакологических веществ на сосуды, ведь у них ушная раковина толерантна к разным температурам и её не обязательно подогревать дополнительно.

Пропуская раствор через сосуды ушной раковины, проявляется жизнедеятельность раствора при комнатной температуре и не нужно подавать дополнительный кислород. Сосуды сужаются, если добавить в раствор адреналина.

Воздействие препаратов допускается исследовать на кроликах-альбиносах, так как их глаз этих животных слезы выделяются в более меньших количествах, в отличие от других животных и также у них не наблюдается пигмента глаз. Благодаря этому возможно установить эффект факторов и фармакологических веществ.

Фиксируя животное, исследуемый препарат закапывают на роговицу и изучают ее преобразования. Так был изучен препарат фотодитазин, благодаря чему после его начали активно использовать в онкологии.

Кролики могут стать модельным объектом для тестирования косметического продукта на основе токсинов бутулинина. Он используется для устранения морщин на лице.

Дермонекротическая проба.

Кролику под кожу следует ввести 0,2 мл бульонной исследуемой культуры туберкулиновым шприцом, у которого игла тонкая. В хорошем результате в участке внедрения после 2-3 суток возникнет очаг отмерзших клеток.

Кератоконъюнктивальная проба (Шереня).

Морской свинке под нижнее веко глаза следует ввести суточную агаровую культуру бактерий обычной петлей шириной 5 мм. В результате после 2-4 суток дают оценку выраженности кератоконъюнктивита согласно присутствия изъязвления, помутнения роговицы и нагноения.

Заключение

Результат проведения анализа литературных данных показал, что кролики часто используются в качестве модельных объектов при решении различных задач экспериментальной биологии и медицины. Условия содержания, размеры, плодовитость, чувствительность к различным факторам, а также доступность делают данных животных распространенными модельными объектами в различных исследованиях. Благодаря кроликам стало возможно проведение тестов на пирогенность, так как они обладают высокой чувствительностью к пирогенам. Из-за сходств эмбриогенеза человека и кролика, стало возможным проведение тератогенного анализа на различных веществах. На крольчихах возможно изучение функции яичников, во время овуляции. В настоящее время в результате движения за освобождения животных использование кроликов, в исследованиях снижается, но потребность в этих лабораторных животных остается высокой.

Литература

1. Базанова Н. У., Кожебеков З. К. Физиология сельскохозяйственных животных. Издание второе изд. Москва: Колос, 1980.
2. Ахмадеева Р.Т. Разведение кроликов. Москва: Сельхозгиз, 1959.
- 3 Калугин Ю.А. Кормление кроликов. Москва: М.: Агропромиздат, 1980.
4. Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений // Электронный фонд правовой и нормативно-технической документации URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200088317>
5. Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Использование кроликов в доклинических исследованиях // Международный вестник ветеринарии. 2016. №4.