

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

СПРАВОЧНИК
Физиологические, биохимические
и биометрические показатели
нормы экспериментальных
животных

Санкт-Петербург, 2013

УДК 591.1(035)
ББК 28.9я2
Ф50

Под редакцией:

д.м.н., профессора - Макарова В.Г.,
д.м.н. - Макаровой М.Н.

Коллектив авторов:

Абрашова Т.В., Гущин Я.А., Ковалева М.А., Рыбакова А.В.,
Селезнева А.И., Соколова А.П., Ходько С.В.

**СПРАВОЧНИК. Физиологические, биохимические и биометрические
показатели нормы экспериментальных животных. СПб.: Изд-во «ЛЕМА»,
2013.- 116 с.**

ISBN 978-5-98709-619-2

В справочнике рассматриваются современные представления о биологической норме у конвекциональных лабораторных животных. Приведены данные многолетнего опыта работы с животными, используемыми в эксперименте, представлены таблицы физиологических, биохимических, морфометрических и других показателей, нормальные величины которых приводятся на основе систематизации и обобщения данных литературы и собственных наблюдений. Основное внимание сосредоточено на показателях нормы, характеризующих функциональное состояние наиболее широко используемых видов и линий лабораторных животных.

Книга рассчитана для специалистов, работающих в области доклинических исследований – фармакологов, биохимиков, физиологов, а также и для специалистов других областей медицины, биологии и ветеринарии.

ISBN 978-5-98709-619-2

© Коллектив авторов, 2013
© ООО «Издательство «ЛЕМА», 2013

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ (М.Н. МАКАРОВА).....	5
БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ (О.И. АВДЕЕВА, С.В. ХОДЬКО, А.В. РЫБАКОВА, М.А. КОВАЛЕВА).....	8
Динамика веса экспериментальных животных в онтогенезе	12
Массовые коэффициенты органов	16
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ (О.И. АВДЕЕВА, Я.А. ГУЩИН, А.И. СЕЛЕЗНЕВА, А.В. РЫБАКОВА, С.В. ХОДЬКО)	19
Этология лабораторных животных	19
Методика открытого поля.....	23
Методика приподнятого крестообразного лабиринта	26
Показатели локомоторной активности лабораторных животных в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт»	30
Скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов у крысят	31
Показатели зоопсихологического развития крысят	33
Температура тела	34
Электрокардиограмма и артериальное давление	35
БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ (В.Г. МАКАРОВ, Т.В. АБРАШОВА, А.П. СОКОЛОВА, М.А. КОВАЛЕВА).....	43
Методы оценки биохимических показателей крови	44
Аланинаминотрансферазы (АЛТ, ALT/GPT)	45
Аспаратаминотрансферазы (АСТ, AST/GOT).....	46
Лактатдегидрогеназы (ЛДГ, LD/LDH).....	47
Креатинкиназа (КК).....	48
Билирубин общий (TOTAL BILIRUBIN).....	50
Щелочная фосфатаза (ЩФ, ALP)AMP	51
Креатинин	53
Мочевина (UREA-UV)	54
Общий белок (Total Protein)	55
Альбумин	57
Глобулины (расчетный показатель)	58
Альбумин-глобулиновый коэффициент (расчетный показатель)	58
Холестерин	59
Холестерин липопротеинов высокой плотности (Холестерин ЛПВП, HDL)	60
Холестерин липопротеинов низкой плотности (расчетный показатель) (Холестерин ЛПНП, HLL) ...	61
Триглицериды	62
Общие липиды	63
Глюкоза	64
Калий	65
Натрий.....	66
Кальций	67
Нормальные значения биохимических показателей.....	68
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА (М.Н. МАКАРОВА, Т.В. АБРАШОВА, А.П. СОКОЛОВА, М.А. КОВАЛЕВА)	77
Методы оценки гематологических показателей крови и показателей гемостаза	77
Методы оценки клеточных элементов.....	77
Метод измерения гемоглобина (HGB)	80
Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) в крови экспериментальных животных	81
Подсчет ретикулоцитов в мазке	82
Определение протромбинового времени (ПВ).....	84
Определение активированного частичного (парциального) тромбопластинового времени (АЧТВ)	85
Нормальные показатели гематологии и гемостаза	86
ПОКАЗАТЕЛИ МИЕЛОГРАММЫ (В.Г. МАКАРОВ, Т.В. АБРАШОВА, А.П. СОКОЛОВА)	92
Метод оценки миелограммы.....	93
Характеристика миелограммы лабораторных грызунов	97
Типичная миелограмма беспородных крыс.....	98
Типичная миелограмма кроликов породы Советская шиншилла	100

<i>Типичная миелограмма беспородных морских свинок.....</i>	<i>102</i>
ХАРАКТЕРИСТИКА АНАЛИЗА МОЧИ (М.Н. МАКАРОВА, А.В. АБРАШОВА, А.П. СОКОЛОВА)	103
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЧИ	103
НОРМАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ АНАЛИЗА МОЧИ.....	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	107

Введение

(С.В. Ходько, М.А. Ковалева)

Главным биологическим звеном в системе эксперимента являются лабораторные животные. Вид избранных для проведения медико-биологического научного эксперимента лабораторных животных, их анатомо-физиологические особенности, качество (здоровье, генетическая однородность, отсутствие скрытых возбудителей инфекционных и паразитарных заболеваний) а также условия ухода, содержания и кормления во многом определяют фактические результаты, а, следовательно, и выводы по экспериментальной работе.

Во многих случаях от того, как подобраны лабораторные животные, от их качества (здоровья) зависят результаты напряженного исследования и дорогостоящего медико-биологического эксперимента.

Для человека токсичность новых фармацевтических средств предсказывается примерно в 70% случаев уже на стадии проведения доклинических испытаний.

Поэтому при клинической апробации и широком медицинском применении лекарств необходимы доклинические исследования их безопасности.

Для токсикологических исследований как новых, так и воспроизведенных фармакологических веществ применяют здоровых половозрелых животных, как правило, используют мышей, крыс, морских свинок, кроликов, хомяков, мини-свиней.

Токсикологические исследования можно проводить как на нелинейных, так и на линейных животных. В последнем случае указывают линию животных, поскольку чувствительность к токсическому действию может быть генетически детерминирована. При прочих равных условиях в исследованиях по определению острой и хронической токсичности предпочтительнее использование аутобредных животных.

Исследования проводят на животных обоего пола одного возраста, разброс по исходной массе не должен превышать 10%.

Следует учитывать, что чувствительность животных к фармакологическому веществу может изменяться под влиянием ряда внешних факторов (время года, температура, влажность, освещенность и кратность воздухообмена помещения,

состав подстила, загрязненность помещения ксенобиотиками, состава корма, времени кормления и др.).

Нельзя просто «взять животное» для эксперимента, а следует выбрать между большим числом хорошо описанных видов животных, аутбредных, инбредных, трансгенных, нокаутных и иных генно-модифицированных линий.

Необходимо учитывать при проведении исследований и трудность экстраполяции данных, полученных на животных, на организм человека.

Приведем несколько примеров видовых различий:

1) Крысы живут всего от 2,5 до 3 лет (Каркищенко Н.Н., 2005; Hudelson K.S., 2008), а человек 70-80 лет, таким образом, соотношение продолжительности жизни крысы и человека составляет 1 к 30.

2) Во время роста молодые крысы прибавляют по 5-6 г. ежедневно, что составляет 10% от их массы тела. Дети растут намного медленнее: они прибавляют около 5 г в день, что эквивалентно 0,00025% их массы тела (Гамбарян П.П., Дукельская Н.М., 1955; Lindsey J.R., 1979).

3) Для поддержания жизни крысам необходимо, чтобы белки составляли 20-27 процентов от общего количества калорий (Harkness J.E., Wagner J.E., 1983). Человеку требуется менее половины от этого количества.

4) В отличие от людей, ткань молочной железы у крыс простирается от верхнего отдела грудной клетки до живота (Гамбарян П.П., Дукельская Н.М., 1955).

5) Кожа у крыс не имеет внешнего ороговевшего слоя, который есть у человека. По сравнению с человеческой кожей, она более тонкая (Hofstetter J. et al., 2006).

6) Головной мозг крыс не имеет извилин (Kohn D.F., Barthold S.W., 1984), в то время как у человека многочисленные извилины головного мозга являются показателем степени развития его коры.

7) Резцы у крыс растут постоянно (Kohn D.F., Barthold S.W., 1984), и при нормальном кормлении у них, в отличие от человека, не образуется зубной камень (Navia J.M., Narkates A.J., 1980). Не бывает у них и спонтанной периодонтальной болезни (Levy B.M. et al., 1979).

8) В отличие от людей, матка крыс имеет два рога и не одну, а две шейки, поэтому в норме у крысы в помете появляется от 8 до 14 детенышей (Гамбарян П.П., Дукельская Н.М., 1955; Kohn D.F., Barthold S.W., 1984; Hofstetter J. et al., 2006).

9) И у человека и у крыс в печени функционирует фермент дельта-5-десатураза (фермент, катализирующий превращение одинарной связи между атомами углерода в ацильных цепях (C-C) в двойные связи (C=C). Однако у крыс этот фермент обладает значительно большей активностью, чем у человека (Stone K.J. et al., 1979; Siguel E.N., 1983).

10) У человека желчные кислоты формируются из холестерина в печени, затем они попадают в желчный пузырь, а оттуда в кишечник. У крыс желчного пузыря нет (Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., 2001; Kohn D.F., Barthold S.W., 1984; Hofstetter J. et al., 2006), поэтому желчные кислоты в их организме выделяются непосредственно в кишечник. Кроме того, у этих животных вырабатывается особая желчная кислота, которая у людей отсутствует - мурихолевая (Thomas J.N., et al., 1984). Данные различия проявляются большей устойчивости крыс к изменениям уровня сывороточного холестерина, чем у людей (Stehbens W.E., 1986).

11) Метаболизм каротиноидов у крыс происходит в энтероцитах, где весь поступивший β -каротин идет на образование витамина А. У человека же, наоборот, значительное количество каротиноидов поглощается в неизменном виде и приблизительно 15% остается в организме в виде запаса в печени и адипоцитах (Olsen J.A., 1984; Ribaya-Mercado J.D. et al., 1989; Krinsky N.I. et al., 1990).

12) Крысы способны синтезировать витамин С в печени из глюкозы с помощью L-гулонооксидазы, что обеспечивает постоянный уровень этого витамина в организме крысы (Chatterjee I.B. et al., 1961). У человека, приматов и морской свинки из-за отсутствия этого фермента, витамин С не синтезируется вообще. Это обстоятельство не позволяет использовать крыс для исследований связанных с метаболизмом витамина С.

13) В моче крыс-самцов имеется $\alpha 2U$ -глобулин, человек этот белок не синтезирует (Swenberg J.A. et al., 1989). При этом $\alpha 2U$ -глобулин обладает высокой реакционной способностью по отношению ко многим ксенобиотикам и в связанном состоянии накапливается в лизосомах почек, повышая уровень

неоплазии и приводя к появлению опухолей в этом органе (Swenberg J.A. et al., 1989). После фильтрации в мочу, α -2U-глобулин может вступать в реакцию с сахаринном. Это сочетание формирует в мочевом пузыре силикатные кристаллы, которые механически раздражают клетки и вызывают рак мочевого пузыря (Cohen S.M., Ellwein L.B., 1990). Следовательно, использование крыс самцов для оценки канцерогенности химических соединений потенциально вызывающих неоплазии в почках и мочевом пузыре – нецелесообразно.

Приведенные отличия в анатомии, физиологии и биохимии лишь немногие из общей массы отличий, а, следовательно, результаты исследований, проведенных на крысах, могут сильно отличаться от результатов, которые будут наблюдаться у людей.

Все вышесказанное свидетельствует о необходимости внимательного планирования исследования, с учетом особенностей, выбранного вида животных, и их совпадения с параметрами человека.

БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

(О.И. Авдеева, С.В. Ходько, А.В. Рыбакова, М.А. Ковалева)

Биометрия (от греч, *bios* — жизнь и *metreo* — измеряю), раздел биологии, включающий совокупность методов и приёмов математической статистики, предназначенных для планирования и обработки биологических экспериментов и наблюдений. Использование биометрии в планировании экспериментов позволяет резко сократить их объём для получения того же количества информации. При проведении биологических экспериментов и наблюдений исследователь всегда имеет дело с количественными вариациями частоты встречаемости или степени проявления различных признаков и свойств.

Таблица 1 - Основные биометрические параметры половозрелых лабораторных животных

Параметр	Мыши	Крысы	Морские свинки	Кролики	Хомяки
Продолжительность жизни (годы)	1-2,5	2-3	4-6	5-7	2-3
Вес взрослых самцов (г)	20-35	200-400	550-1200	2500-3500	30-50
Вес взрослых самок (г)	20-35	180-250	450-900	2500-3500	30-40
Вес при рождении (г)	1-1,5	5-6	90-120	40-60	1,5-2,5
Объем крови (от массы тела)	6-7%	6-7%	6-7%	6%	6-7

* - цитировано по (Проблема нормы..., 1991)

Таблица 2 - Биологические характеристики некоторых линий мышей и крыс

Параметр	Мыши		Крысы			
	Balb/c	C57Bl/6	Wistar	Wistar-Kyoto	Sprague Dawley	SHR
Возраст первого ссаживания (самцы), недели	8-10	8-10	10-12	10	10-12	10
Возраст первого ссаживания (самки), недели	8-10	8-10	8-10	8	8-10	8
Соотношение полов при ссаживании	1:1/1:2	1:1/1:2	1:1	1:1	1:1	1:1
Продолжительность эстрального цикла, дни	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
Продолжительность беременности, дни	19-21	19-21	21-23	19-21	21-24	21-23
Средний размер помета (1-ый), голов	5	6	11	6	11	4
Средний размер помета (2-ой), голов	6	7	12	10	12	8
Вес при рождении (г)	1-2	1-2	5-7	6-8	5-7	6-8
Вес при отъеме (самцы), г	8-12	9-13	40-50	40-60	40-60	35-45
Вес при отъеме (самки), г	7-11	9-13	35-50	35-55	35-60	30-40
Возраст при отъеме, дни	21	28	21	21	21	21
Среднее ежедневное потребление пищи (8 недель возраст), г	5	5	5 на 100 г массы тела			
Среднее ежедневное потребление воды (8 недель возраст), мл	6-7	6-7	8-11	6-7	8-11	8-11
Возраст выведения из разведения (самцы), мес.	8-12	7-9	9-12	8-12	9-12	8-12
Возраст выведения из разведения (самки), мес.	8-12	7-9	9-12	8-12	9-12	8-12

* - цитировано по <http://jaxmice.jax.org/findmice/popular.html>

<http://www.harlan.com>

<http://www.taconic.com>

<http://www.rgd.mcw.edu/strains.com>

Возрастные периоды лабораторных животных практически не рассматриваются в литературе. Вместе с тем продолжают увеличиваться объемы исследований на животных, возрастают требования к таким исследованиям, что требует более совершенных подходов к выполнению экспериментов. Не указывать в научных работах возраст животных означает сознательно ставить под сомнение достоверность выводов проведенной работы и лишать возможности сопоставлять факты, полученные в разных лабораториях. Весьма часто одни и те же воздействия (физиологические, фармакологические, патологические) у животных различных возрастных групп вызывают не только количественно, но и качественно разные реакции.

Разработка возрастной периодизации лабораторных животных весьма сложна из-за отсутствия четких критериев для оценки возраста. Например, масса

животных и длина их туловища лишь приближенно могут служить показателями возраста, поскольку они зависят от особенностей содержания и кормления. В связи с этим вынужденным и неизбежным является допущение ряда условных характеристик, сроков и признаков.

В основу наиболее распространенной периодизации взяты анатомо-физиологические особенности животных, интенсивность их роста, поведенческие реакции, изменения в половой сфере и др.

Примерные характеристики каждого периода и возраста следующие:

I. Период молочного кормления. Животные находятся в гнезде и кормятся молоком матери. Дистантные рецепторы не функционируют или функционируют недостаточно. Появляется шерстный покров. Прорезываются молочные зубы. Интенсивный рост. Средний ежедневный прирост: массы тела — 5—15 %; длины тела — 2—8 %.

а) Возраст новорожденный (новорожденные животные). Шерстный покров отсутствует. Кормятся животные молозивом. У крыс, мышей зубы отсутствуют. Морские свинки рождаются с шерстным покровом, имеют все зубы, хорошо передвигаются, дистантные рецепторы функционируют. Крольчата при рождении имеют 16 зубов.

б) Возраст подсосный (сосуны). Появляются пигментация кожи и шерстный покров. Отлипают уши, открываются глаза. Начинают функционировать дистантные рецепторы. Реализуется поза стояния. Животные передвигаются по гнезду. У самок появляются грудные соски.

II. Период полового созревания. Самостоятельное кормление. Животные оставляют гнездо, их отсаживают от матери. Хорошо развиты двигательные акты. Хорошо выражены вторичные половые признаки. Молочные зубы сменяются постоянными. Интенсивный линейный рост. Шерстный покров густой, гляцевый. Глаза блестят.

Средний ежедневный прирост: массы тела — 1—10%, длины тела — 0,5—2 %.

а) Возраст неполовозрелый (инфантильные животные). Животные не требуют ухода матери. Совершенствуются двигательные акты. Намечается дифференциация вторичных половых признаков (самцы крупнее самок). У части

самок открывается вагина, а у самцов происходит опускание семенников в мошонку.

б) Возраст предслучный (ювенильные животные). Хорошо выражены вторичные половые признаки: у самок открыто влагалище, у самцов завершено опускание семенников в мошонку. Появляется половая охота.

III. Период репродуктивный. Завершено развитие половых органов, дифференцированы вторичные половые признаки. У самок установились половые циклы. Интенсивное размножение. Значительно снижен линейный рост. Животные физически крепки. Шерстный покров густой, глянцевого. Средний ежедневный прирост: массы тела 0,15—1,5 %, длины тела — 0,01—0,15 %.

а) Возраст молодой (молодые животные). Животные допускаются в случку. Размножение интенсивное. Приплод многочислен. Зубы белые без признаков стирания.

б) Возраст зрелый (взрослые животные). Интенсивность размножения снижается. Зубы белые без налета, на них отмечаются первые признаки стирания.

IV. Период выраженных старческих изменений. Резкое снижение или прекращение половой охоты и репродуктивной функции. Наступление менопаузы. Рост тела значительно замедлен или прекращен. Двигательная активность снижена. Поверхность зубов стерта. Шерстный покров редкий, без глянца, неплотно прилегает к телу. Выражена атрофия мышц и кожи. Возникают спонтанные опухоли. Отмечаются значительная гипофункция внутренних органов, ослабление адаптации и процессов метаболизма.

Средний ежедневный прирост массы тела 0,01—0,2 %, длины тела 0,001—0,005 %.

а) Возраст предстарческий (предстарые животные). Значительно снижается размножение. Приплод малый и часто нежизнеспособный. У самок нарушается регулярность течки. Когти большие, искривленные.

б) Возраст старческий (старые животные). Размножение резко снижено или полностью прекращается. У большинства самок наступает менопауза. Шерстный покров редкий, облысели. На зубах коричневый налет, их режущие поверхности стертые. Когти длинные, искривленные.

в) Возраст предельно старческий (предельно старые животные). Половая функция прекращена. Значительное облысение. Вес тела снижается. Отмечается общее одряхление организма.

Ниже представлен вес различных лабораторных животных по отдельным возрастным группам. Эти показатели составлены на основе многолетнего их изучения в нашей лаборатории и на основании данных ведущих мировых питомников.

Динамика веса экспериментальных животных в онтогенезе

Таблица 3 - Мыши беспородные, вес, n=105, г, $M \pm m$

Возраст, недели	Самцы	Самки
1	3,7±0,2	3,5±0,5
2	5,8±0,1	5,5±0,1
3	8,3±0,6	7,3±0,5
5	12,9±0,7	11,9±0,8
6	14,3±0,7	12,5±1,1
7	16,7±0,9	15,8±0,8
8	20,6±1,2	19,6±1,3
9	25,3±1,2	23,5±1,2
10	26,0±1,5	23,9±1,4
11	27,4±1,3	25,5±1,6
12	28,5±1,4	26,9±1,6
13	29,3±1,6	28,5±1,5
14	30,1±1,7	29,5±1,9
15	31,4±1,5	30,4±1,8
16	32,4±2,0	32,1±1,6
17	32,8±2,4	30,6±2,6
18	33,2±2,3	32,4±2,5
19	35,6±2,1	33,7±2,0
20	35,2±2,3	35,0±3,1

Таблица 4 - Мыши линии Balb/c*, n=40, вес, г, $M \pm SD$

Возраст, недели	Самцы	Самки
3-4	11,42±1,67	10,45±1,38
4-5	17,73±1,94	14,50±1,91
5-6	19,63±1,53	16,36±1,41
6-7	24,37±1,69	17,91±1,17
7-8	24,83±1,22	18,69±1,49
8-9	25,37±1,79	20,18±1,00

* - цитировано по <http://jaxmice.jax.org/findmice/popular.html>

Таблица 5 - Мыши линии C57Bl/6*, n=100, вес, г, M±SD

Возраст, недели	Самцы	Самки
4	13,59±1,59	12,26±1,61
5	17,93±1,43	15,51±1,49
6	20,39±1,43	16,65±1,31
7	22,42±1,40	17,54±1,32
8	23,73±1,47	18,28±1,38
9	24,84±1,61	18,91±1,43
10	25,97±1,70	19,63±1,55
11	27,01±1,57	20,09±1,60
12	27,82±1,58	20,58±1,69
13	28,49±1,69	21,21±1,80
14	29,18±1,75	21,67±2,17
15	29,71±1,85	21,99±2,12
16	29,97±1,87	22,15±2,09

* - цитировано по <http://jaxmice.jax.org/findmice/popular.html>

Таблица 6 - Крысы беспородные, вес, n=400, г, M±m

Возраст, недели	Самцы	Самки
1-2	24±0,7	22±1
2-3	56±4	54±3
3-4	73±2	70±2
4-5	130±3	113±3
5-6	163±2	158±3
6-7	178±4	164±3
7-8	213±3	181±3
8-9	256±6	206±2
9-10	292±4	249±3
10-11	326±7	254±4
11-12	367±6	258±4
12-13	391±5	267±6
14-15	417±4	269±5
16-17	433±8	274±4
18-19	437±9	281±9
20-21	443±9	284±8
22-23	446±10	288±7
24-25	453±11	294±6
26-27	458±12	302±11
28-29	464±18	304±9
30-31	468±14	311±12
32-33	472±15	314±8
34-35	478±16	320±17
36-37	484±11	324±11
38-39	488±12	330±10
40-41	494±20	334±9
42-46	498±19	343±14
47-48	503±18	344±16
49-50	505±25	349±11
51-52	508±23	353±17

Таблица 7 - Крысы линии Wistar*, вес, $M \pm 2\% SD$, г

Возраст, недели	Самцы	Самки
3	55,3	58,1
4	95,5	97,4
5	138,0	139,0
6	184,9	174,6
7	240,3	196,7
8	268,9	217,8
9	301,5	241,2
10	336,1	255,7
11	370,7	269,6
12	389,0	282,4
13	418,9	295,8
14	432,9	305,0

* - цитировано по <http://www.harlan.com>, Pullen A.H., 1976

Таблица 8 - Крысы линии Wistar-Kyoto*, вес, $M \pm 2\% SD$, г

Возраст, недели	Самцы	Самки
3	32,9	32,6
4	49,5	49,5
5	74,8	70,9
6	100,3	90,3
7	135,8	114,3
8	168,1	132,6
9	198,0	149,6
10	216,3	160,1
11	231,5	168,0
12	242,9	172,2
13	256,3	180,0
14	263,6	182,7
15	273,9	186,5

- цитировано по <http://www.harlan.com>

Таблица 9 - Крысы линии Sprague Dawley*, n=94, вес, $M \pm 2\% SD$, г

Возраст, недели	Самцы	Самки
3	42,0	37,5
4	67,7	58,9
5	111,5	93,7
6	159,1	128,7
7	207,6	152,8
8	250,7	173,9
9	287,0	189,1
10	313,6	202,6
11	334,4	212,6
12	352,2	219,6

* - цитировано по <http://www.harlan.com>

Таблица 10 - Крысы линии SHR*, вес, $M \pm 2\% SD$, г

Возраст, недели	Самцы	Самки
3	37,8	36,6
4	61,3	58,5
5	94,3	82,9
6	129,5	106,5
7	168,1	128,4
8	202,8	142,8
9	228,5	152,1
10	245,7	159,6
11	264,5	164,4
12	279,3	170,0
13	285,8	173,6
14	298,0	177,2
15	307,5	178,7

* - цитировано с <http://www.harlan.com>Таблица 11 - Хомяки золотистые сирийские*, вес, $M \pm 2\% SD$, г, n=21

Возраст, недели	Самцы, n=21	Самки, n=21
3	43,0	42,8
4	67,8	66,7
5	88,1	86,4
6	100,9	98,9
7	107,5	104,6
8	114,1	108,9
9	119,6	113,9
10	123,4	118,8
11	128,0	124,3
12	131,8	131,1

* - цитировано с <http://www.harlan.com>

Таблица 12 - Кролики «Советская Шиншилла»*, вес, n=40, г

Возраст, недели	Самцы	Самки
1	50,0-54,6	
3	309-342	360-387
4	450	450
7	2100	1700
9	2300	2000
26	3150-3500	2100-3100
54	4600	4600

* - цитировано по Проблема нормы в токсикологии, 1991

Таблица 13 - Вес кроликов «Калифорнийские», вес, n=40, г

Возраст, недели	Самцы	Самки
1	40-50	
4	1200-1300	
8	2400-2600	
16	3600-3900	

Таблица 14 - Морские свинки беспородные*, вес, n=100, г

Возраст, дни	Самцы	Самки
при рождении	73	74
2	76	77
4	79	81
9	87	86
14	110	108
20	153	148
25	187	179
35	246	248
42	274	272
52	352	338
58	400	365
67	464	420
84	510	488

*- цитировано по Проблема нормы в токсикологии, 1991

Массовые коэффициенты органов

Массовый коэффициент (МК) - процентное отношение массы органа к массе тела, интегральный показатель, используемый в токсикологии для оценки состояния внутренних органов.

Органы, извлеченные при некропсии, взвешивают влажными, как можно скорее, после некропсии, чтобы избежать их высыхания, парные органы взвешивают вместе. Расчет массовых коэффициентов производят по формуле:

$$\text{МК} = \frac{\text{Масса органа (г)}}{\text{масса тела (г)}} \cdot 100\%$$

Анализ данного показателя при токсикологических исследованиях, дает возможность обнаружения органа-мишени токсиканта, выявить признаки эндокринно-связанных эффектов.

Таблица 15 - Крысы беспородные, возраст 7-9 недель, n=400, г, M±m

Показатель	Самцы		Самки	
	Масса органа, г	Массовый коэффициент, %	Масса органа, г	Массовый коэффициент, %
Масса тела	224±4	-	205±4	-
Сердце	0,94±0,09	0,42±0,04	0,89±0,06	0,44±0,03
Легкие	1,98±0,13	0,88±0,05	1,90±0,10	0,90±0,04
Тимус	0,49±0,02	0,22±0,009	0,45±0,02	0,22±0,01
Печень	11,6±0,3	5,18±0,14	10,6±0,4	5,17±0,16
Селезенка	1,39±0,09	0,62±0,04	1,27±0,08	0,62±0,04
Почки	1,79±0,09	0,80±0,04	1,61±0,096	0,79±0,05
Надпочечники	0,094±0,002	0,041±0,002	0,086±0,007	0,042±0,003
Головной мозг	1,8±0,1	0,81±0,05	1,6±0,1	0,79±0,05
Яички/Яичники	1,8±0,1	0,81±0,04	0,11±0,02	0,054±0,008

При изучении лекарственных препаратов, предназначенных для педиатрической практики, возникает необходимость изучения токсичности на неполовозрелых животных, как правило, для этих целей используют крысят в возрасте 6 недель. В таблице ниже представлены массовые коэффициенты крысят в этом возрасте.

Таблица 16 – Крысы беспородные, возраст 6 недель, г, $M \pm m$

Показатель	Самцы, n=70		Самки, n=70	
	Масса органа	Массовый коэффициент	Масса органа	Массовый коэффициент
Масса тела	138,2 $\pm$ 2,0	-	123,5 $\pm$ 2,1	-
Сердце	0,77 $\pm$ 0,04	0,56 $\pm$ 0,03	0,75 $\pm$ 0,05	0,61 $\pm$ 0,03
Легкие	1,52 $\pm$ 0,10	1,10 $\pm$ 0,04	1,14 $\pm$ 0,05	0,92 $\pm$ 0,04
Тимус	0,456 $\pm$ 0,021	0,330 $\pm$ 0,012	0,403 $\pm$ 0,019	0,326 $\pm$ 0,015
Печень	8,69 $\pm$ 0,42	6,29 $\pm$ 0,20	7,32 $\pm$ 0,31	5,93 $\pm$ 0,18
Селезенка	1,39 $\pm$ 0,06	1,01 $\pm$ 0,08	1,17 $\pm$ 0,05	0,95 $\pm$ 0,04
Почки	1,41 $\pm$ 0,07	1,02 $\pm$ 0,11	1,31 $\pm$ 0,06	1,06 $\pm$ 0,05
Надпочечники	0,055 $\pm$ 0,005	0,040 $\pm$ 0,003	0,046 $\pm$ 0,004	0,037 $\pm$ 0,002
Головной мозг	1,96 $\pm$ 0,09	1,42 $\pm$ 0,05	1,57 $\pm$ 0,07	1,27 $\pm$ 0,05
Яички/Яичники	1,37 $\pm$ 0,04	0,99 $\pm$ 0,05	0,095 $\pm$ 0,06	0,077 $\pm$ 0,005

Таблица 17 - Мыши беспородные, возраст 7-9 недель, г, $M \pm m$

Показатель	Самцы, n=44		Самки, n=34	
	Масса органа	Массовый коэффициент	Масса органа	Массовый коэффициент
Масса тела	31,2 $\pm$ 0,6	-	21,7 $\pm$ 0,9	-
Сердце	0,178 $\pm$ 0,004	0,574 $\pm$ 0,014	0,105 $\pm$ 0,005	0,481 $\pm$ 0,008
Легкие	0,276 $\pm$ 0,013	0,899 $\pm$ 0,044	0,230 $\pm$ 0,005	1,084 $\pm$ 0,026
Тимус	0,065 $\pm$ 0,004	0,213 $\pm$ 0,016	0,051 $\pm$ 0,003	0,230 $\pm$ 0,006
Печень	1,899 $\pm$ 0,060	6,086 $\pm$ 0,152	1,276 $\pm$ 0,053	5,882 $\pm$ 0,082
Селезенка	0,240 $\pm$ 0,013	0,778 $\pm$ 0,044	0,151 $\pm$ 0,027	0,663 $\pm$ 0,069
Почки	0,502 $\pm$ 0,020	1,622 $\pm$ 0,062	0,300 $\pm$ 0,023	1,344 $\pm$ 0,042
Головной мозг	0,367 $\pm$ 0,008	1,189 $\pm$ 0,028	0,209 $\pm$ 0,016	0,935 $\pm$ 0,027
Яички/Яичники	0,212 $\pm$ 0,005	0,687 $\pm$ 0,020	0,015 $\pm$ 0,003	0,067 $\pm$ 0,007

Таблица 17 - Хомяки джунгарские, возраст 7-9 недель, г, $M \pm m$

Показатель	Самцы, n=30		Самки, n=30	
	Масса органа	Массовый коэффициент	Масса органа	Массовый коэффициент
Масса тела	48,0 $\pm$ 0,13	-	40,3 $\pm$ 0,13	-
Сердце	0,323 $\pm$ 0,06	0,672 $\pm$ 0,012	0,289 $\pm$ 0,059	0,701 $\pm$ 0,014
Легкие	0,355 $\pm$ 0,009	0,741 $\pm$ 0,018	0,399 $\pm$ 0,010	0,987 $\pm$ 0,026
Тимус	0,135 $\pm$ 0,02	0,281 $\pm$ 0,003	0,164 $\pm$ 0,06	1,157 $\pm$ 0,365
Печень	2,63 $\pm$ 0,03	5,491 $\pm$ 0,74	1,86 $\pm$ 0,14	4,617 $\pm$ 0,367
Селезенка	0,062 $\pm$ 0,002	0,130 $\pm$ 0,004	0,157 $\pm$ 0,025	0,390 $\pm$ 0,006
Почки	0,553 $\pm$ 0,009	1,156 $\pm$ 0,020	0,380 $\pm$ 0,32	0,941 $\pm$ 0,079

Надпочечники	0,0055±0,0002	0,0116±0,005	0,0060±0,0004	0,0149±0,006
Головной мозг	0,764±0,009	1,592±0,019	0,543±0,043	1,342±0,107
Яички/Яичники	1,36±0,02	2,852±0,047	0,023±0,001	0,057±0,004

Таблица 18 - Кролики, «Советская шиншилла», возраст более 26 недель, г, М±m

Показатель	Самцы, n=26		Самки, n=24	
	Масса органа	Массовый коэффициент	Масса органа	Массовый коэффициент
Масса тела	3388±53	-	3140±91	-
Сердце	9,2±0,2	0,273±0,006	9,1±0,3	0,29±0,01
Легкие	16,7±0,3	0,49±0,01	14,8±0,4	0,48±0,02
Тимус	1,5±0,1	0,046±0,003	3,0±0,3	0,098±0,009
Печень	99,0±2,1	2,93±0,06	86,2±2,6	2,8±0,1
Селезенка	1,65±0,07	0,049±0,002	1,7±0,1	0,055±0,005
Почки	20,8±0,5	0,62±0,01	17,3±0,6	0,56±0,03
Надпочечники	0,57±0,01	0,0170±0,0006	0,56±0,02	0,0150±0,0007
Головной мозг	9,11±0,09	0,271±0,006	7,73±0,09	0,251±0,007
Яички/Яичники	5,94±0,23	0,176±0,007	0,46±0,03	0,012±0,001

Таблица 19 - Морские свинки беспородные, возраст более 10 недель, г, М±m

Показатель	Самцы, n=5		Самки, n=5	
	Масса органа	Массовый коэффициент	Масса органа	Массовый коэффициент
Масса тела	416,8±21,0	-	558,2±49,1	-
Сердце	1,958±0,143	0,469±0,023	2,562±0,170	0,473±0,055
Легкие	4,638±0,641	1,100±0,105	4,978±0,489	0,910±0,102
Тимус	0,350±0,029	0,085±0,008	0,572±0,078	0,102±0,010
Печень	16,550±1,686	3,944±0,242	26,400±2,300	4,760±0,285
Селезенка	0,512±0,062	0,123±0,013	0,928±0,134	0,167±0,019
Почки	3,100±0,261	0,743±0,049	3,940±0,126	0,731±0,076
Надпочечники	0,200±0,005	0,048±0,002	0,348±0,012	0,064±0,006
Головной мозг	3,480±0,116	0,841±0,039	3,680±0,073	0,678±0,055
Яички/Яичники	2,370±0,174	0,566±0,013	0,344±0,055	0,060±0,006

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

(О.И. Авдеева, Я.А. Гущин, А.И. Селезнева, А.В. Рыбакова, С.В. Ходько)

Этология лабораторных животных

Этология (от греч. *éthos* — характер, нрав и *lógos* — учение), одно из направлений в изучении поведения животных, занимающееся главным образом анализом генетически обусловленных (наследственных, инстинктивных) компонентов поведения и проблемами его эволюции. Изучение этологии (поведения) животных заключается в регистрации и анализе поведенческих актов (двигательных элементов) и поз (статичных элементов поведения) в течение времени, в лабораторных условиях. Регистрация и анализ поведенческих актов складывается из наблюдения процесса поведения и описания различных дискретных единиц поведения, общее число которых у животных ограничено и которые часто повторяются животными в стереотипных сочетаниях.

В отечественной литературе практически отсутствует материал, посвященный детальному описанию поведенческих актов и поз лабораторных грызунов в условиях полного здоровья и под воздействием фармакологических средств. В.В. Пошивалов предложил все акты и позы у лабораторных мышей и крыс объединить в две обобщенные категории:

I. Зоосоциальное поведение, определяется как внутривидовое видотипичное взаимодействие с другими особями популяции, подразумевается, что такое взаимодействие содержит не только специфические мотивационные, но также внутривидовые коммуникационные компоненты.

II. Индивидуальное поведение. Индивидуальное поведение, включает двигательные и статичные элементы поведения не связанные с видотипичным взаимодействием с партнером, ориентированные к окружающим предметам, собственному телу и неориентированные к физическому окружению. В этой категории различают поведение, ориентированное к окружающим предметам (физическому окружению), которое включает локомоцию с принюхиванием, подъем на задние лапы с принюхиванием (рис. 1), т.е. элементы исследования окружающей среды.

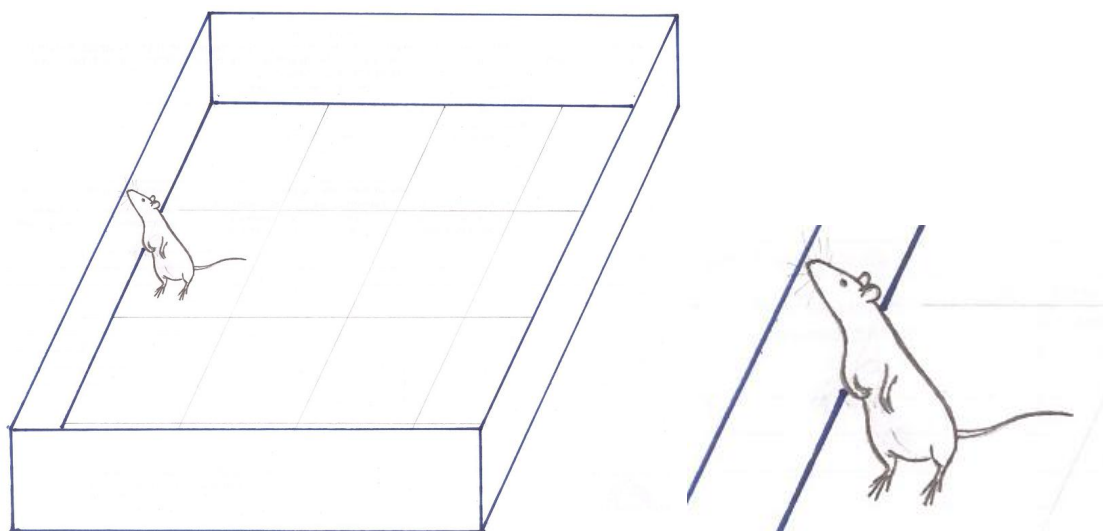
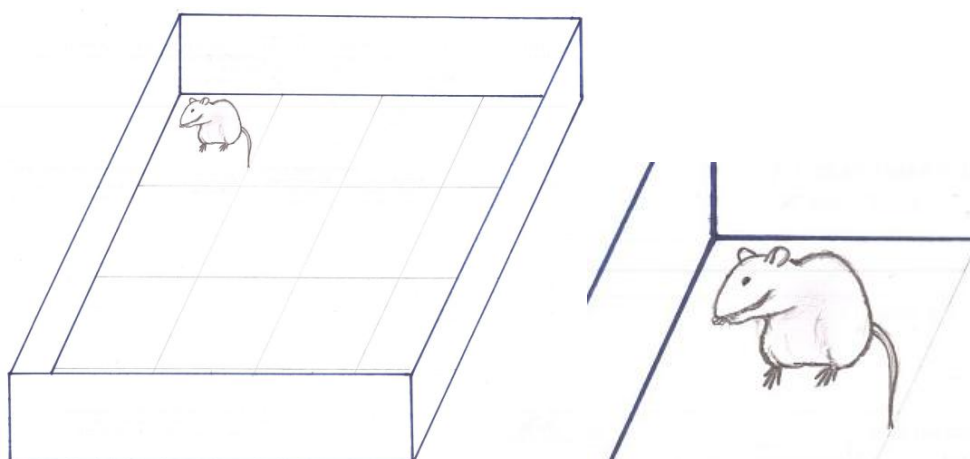


Рис. 1 Подъем на задние лапы с принюхиванием

Однако локомоция и подъемы на задние лапы могут происходить стереотипно без исследовательского компонента. Эти особенности в поведении должны детально фиксироваться, в частности при использовании фармакологических средств.

По направленности выделяют индивидуальное поведение, ориентированное к собственному телу (аутогруминг или гигиеническое самоподдержание). Этот вид поведения включает чистку и отряхивание, вылизывание и выщипывание шерсти (производится языком, зубами) (рис. 2).



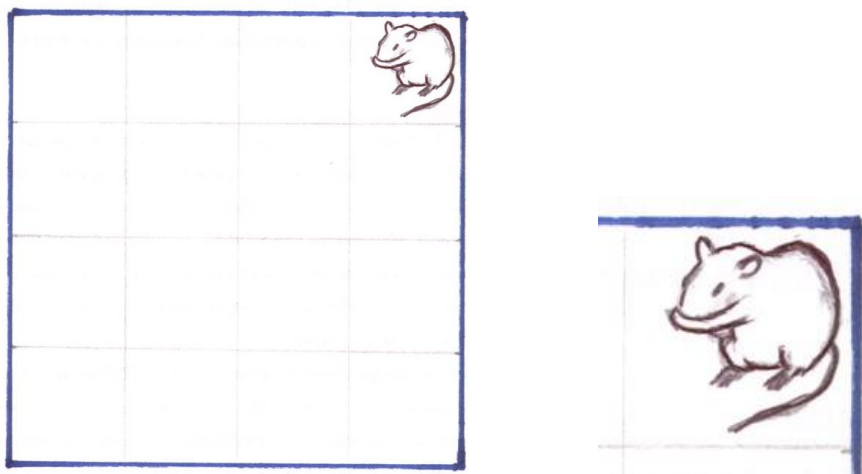


Рис. 2 Аутогруминг

Аутогруминг имеет определенную последовательность и направленность - от верхней части тела, туловища, аногенитальной области к хвосту. Вылизывание, выщипывание и вычесывание шерсти собственного тела имеет не только гигиеническое значение, но также играет определенную роль в маркировочной активности, так как в процессе указанных движений происходит смазывание тела секретом пахучих желез – «самосмазывание» (Пошивалов В.В., 1978). Индивидуальное поведение, неориентированное к физическому окружению – это статичные формы поведения, когда животное сидит, лежит или динамичные позы в виде ненаправленных прыжков или неориентированных пробежек. Некоторые статичные элементы индивидуального поведения, такие как "оцепенение", "примерзание" являются отражением реакции животного на изменение внешних условий, например, высокая степень новизны ситуации, различные внешние факторы, вызывающие страх и т.п. Эти элементы поведения являются выражением пассивной защиты, причем наиболее древней в эволюционном отношении формы.

Следует подчеркнуть, что предметом исследования и анализа служат не отдельные действия животных сами по себе, а целостные, имеющие определенное биологическое значение, целенаправленные поведенческие акты. Эти акты и позы систематизируют, объединяют в определенные функциональные категории соответственно контексту внутривидового взаимодействия.

Этот фармакоэтологический подход, предложенный В.В. Пошиваловым, позволяет выявлять такие свойства фармакологических веществ, которые другими

методами в принципе распознаваться не могут: например, воздействие на характер построения поведения, программу поведения, этологическую структуру популяции, группы. Необходимость развития фармакоэтологии вытекает из дальнейшего прогресса и эволюции экспериментальных методов изучения свойств фармакологических веществ с целью их максимально полной характеристики еще на доклиническом уровне исследования.

Значительное повышение интереса исследователей к использованию поведенческих реакций объясняется, прежде всего, доступностью и высокой чувствительностью методов их изучения (Методические указания по использованию..., 1980). Последнее объясняется особенностью нейрофизиологического механизма протекания поведенческих реакций, физиологичностью условий исследования и регистрации поведения. Поведение как биологический параметр, может быть количественно измерено, на этом свойстве основаны методы регистрации поведенческих реакций, которые с успехом применяются при изучении высшей нервной деятельности в физиологии, фармакологии. В токсикологии также выделился самостоятельный раздел поведенческая токсикология.

Для оценки поведения мышей и крыс обычно используют мотивационные категории, поведенческое содержание которых может различаться как по способу поведенческого выражения мотиваций, так и по вероятности появления отдельных актов.

Основой проявления любых поведенческих реакций животных является ориентировочный рефлекс. Одной из основных характеристик ориентировочного рефлекса следует признать то, что он является установочной реакцией, отражающей деятельность целого организма. Поэтому поведенческие реакции следует рассматривать, прежде всего, в качестве интегральных показателей состояния организма, а при выраженном нейротоксическом действии в качестве чувствительных специфических тестов.

Ориентировочный рефлекс возникает как безусловный рефлекс, протекает как условный и проявляется при действии нового, необычного раздражителя, независимо от его качества (1-я фаза - реакция на новизну), в виде двигательной реакции, направленной на обеспечение наилучшего восприятия раздражителя (2-я

фаза — по Павлову, рефлекс «что такое?»). Основой его являются двигательно-установочные рефлексы, двигательная активность. Ввиду сложного состава ориентировочного рефлекса предлагается термин ориентировочно-исследовательская реакция (Методические указания по использованию..., 1980), в литературе также встречается термин ориентировочно-исследовательская реакция или исследовательское поведение. Первичный анализ раздражителей с помощью ориентировочного рефлекса очень высок, а двигательная реакция поддается точной регистрации.

Одновременно с двигательным компонентом ориентировочно-исследовательской реакции проявляется и вегетативная деятельность (дефекация, мочеиспускание, почесывание, умывание и др.), которая также поддается количественному учету.

Большая численность поведенческих методик, основанных на исследовании поведения вообще и ориентировочного рефлекса в частности, обусловила необходимость систематизировать, провести сравнительную оценку их информативной значимости, выявить и предложить для широкого применения в токсикологических исследованиях ряд наиболее высокочувствительных, адекватных и простых в исполнении поведенческих тестов, характеризующих в своей сущности регулирующую, интегрирующую, координирующую и коррелирующую функции центральной нервной системы (Методические указания по использованию..., 1980).

При выборе методов исследования поведенческих реакций предпочтение следует отдавать доступным по трудоемкости методам, физиологичным в своей основе. Наиболее доступными для измерения параметрами являются двигательная активность и двигательная координация животных. Из набора простых поведенческих методик для токсикологических исследований в настоящее время Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств., (2012) рекомендуются: тест «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт».

Методика открытого поля

Метод открытого поля широко применяется при изучении поведенческих реакций в фармакологии, психогенетике, и заключается в исследовании

двигательного компонента ориентировочной реакции и эмоциональной реактивности животных. Автором метода является Hall C.S. (1934). Установка для методики открытого поля имеет много модификаций.

В нашей лаборатории используется установка для крыс, которая представляет собой квадратную площадку площадью 1 м^2 , разделенную на 16 квадратов, ограниченную непрозрачными бортами высотой 20 см. Установка для мышей и хомяков представляет собой квадратную площадку площадью $0,25 \text{ м}^2$, разделенную на 9 квадратов, ограниченную непрозрачными бортами высотой 20 см. В площадке имеется 16 отверстий, моделирующих норки.

Во время опыта установка находится в специальной звукоизолированной комнате, при красном освещении. Освещенность открытого поля равняется 100 лк.

Грызунов (крыс, мышей, хомяков или морских свинок) помещают в центр установки открытого поля. В течение 3 мин регистрируют число пересеченных квадратов (4 лапами) и количество центровых посещений (горизонтальная активность (рис. 3, 4)), число вертикальных стоек (вертикальная активность, пристеночные и свободные стойки (рис. 5)) и число заглядываний в отверстия (норковый рефлекс у мышей и хомяков, рис. 6) (Makanjuola R.O. et al., 1977). Критерием седативного или стимулирующего действия считают достоверное изменение показателей горизонтальной и вертикальной двигательной активности. Также регистрируют вегетативную деятельность: дефекация (рис. 7), мочеиспускание (рис. 8), груминг (рис. 9).



а



б

Рис. 3. Горизонтальная активность мышей (а) и крыс (б)



а



б

Рис. 4. Горизонтальная активность хомяков (а) и морских свинок (б)



а



б

Рис. 5. Вертикальная активность (пристеночные стойки) мышей (а) и крыс (б)



а



б

Рис. 6. Заглядывания в отверстия (норковый рефлекс у мышей (а) и хомяков (б))

	
Рис. 7. Вегетативная активность у мышей - дефекация	Рис. 8. Вегетативная активность у мышей - мочеиспускание
 а	 б
Рис. 9. Вегетативная активность у мышей (а) и крыс (б) - груминг	

Под воздействием различных лекарственных веществ может наблюдаться уменьшение/увеличение количества движений, нарушение их качественной структуры. Большим преимуществом данного метода является доступность оборудования.

Методика приподнятого крестообразного лабиринта

Методика основана на навыке предпочтения грызунами темных нор, естественного страха нахождения на открытых площадках и падения с высоты. Описание и оценка метода наиболее подробно представлены в работах [Sewell R.D., Spencer P.S., 1976, Porsolt R.D., 1979, Pellow S. et al., 1985, Gordon C.J., 1990, Merskey H., Bogduk N., 1994]. Метод позволяет оценить влияние препарата или моделируемой патологии на тревожность, эмоциональную активность, и др.

Одним из вариантов приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) является установка, которая состоит из крестообразно расходящихся от центральной площадки под прямым углом 4-х рукавов: два противоположных,

открытых, без стенок, и два закрытых, темных. Центральная площадка и пол открытых рукавов, как правило, прозрачны, тогда как пол и стенки закрытых рукавов покрашены в темный цвет. Эксперименты проводятся как при обычном освещении, так и при дополнительном освещении открытых рукавов.

В нашей лаборатории установка для крыс, состоит из двух открытых рукавов 50×10 см и двух закрытых рукавов 50×10 см, расположенных перпендикулярно относительно друг друга. Высота над полом 1 м.

Установка для мышей и хомяков состоит из двух открытых рукавов 30х5 см и двух закрытых рукавов 30х5 см, расположенных перпендикулярно относительно друг друга. Высота над полом 0,5 м.

Продолжительность теста для каждого животного составляет 3 минуты. Животное помещают в центр лабиринта, фиксируют время пребывания в закрытых и открытых «рукавах» (рис. 10, 11, 12), количество заходов в закрытые и открытые «рукава» (рис. 13), длительность нахождения в центре (рис. 14).

Интактные животные предпочитают большую часть времени проводить в закрытых, темных рукавах. Анксиолитический эффект препарата оценивается по увеличению числа заходов в светлые рукава и времени нахождения в них, без увеличения общего числа заходов и по числу свешиваний с открытых рукавов. Время нахождения на центральной площадке позволяет оценить показатель принятия решения. По общему числу заходов в открытые и закрытые рукава и вертикальным стойкам можно оценить общую двигательную активность. Эмоциональность крыс оценивается также по числу мочеиспусканий и дефекаций.



а



б

Рис. 10. Пребывание мышей в закрытом (а) и открытом (б) рукавах

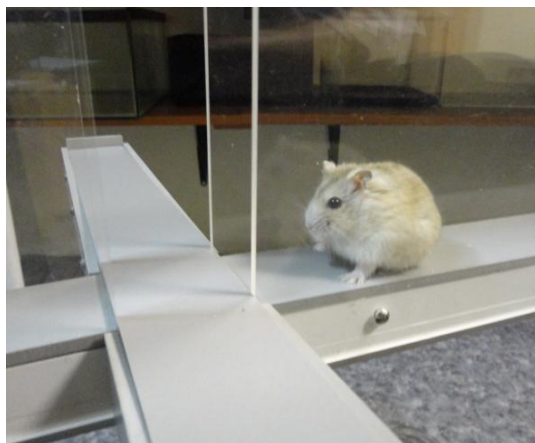


Рис. 11. Пребывание хомяков в закрытом рукаве



а

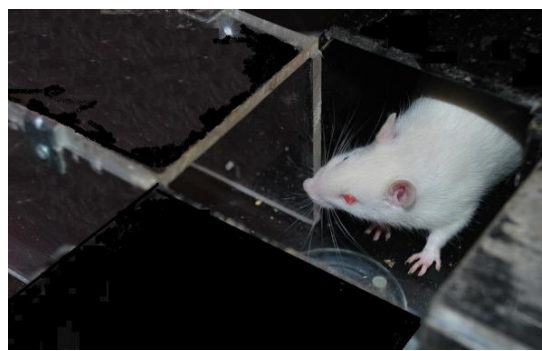


б

Рис. 12. Пребывание крыс в закрытом (а) и открытом (б) рукавах



а



б

Рис. 13. Заходы мышей (а) и крыс (б) в закрытые и открытые рукава



а



б



В

Рис. 14. Пребывание мышей (а), крыс (б) и хомяков (в) в центре

Экспериментальное изучение поведенческих реакций в токсикологии состоит из трех этапов:

1. подготовительного;
2. исследовательского;
3. статистической обработки экспериментальных данных.

В зависимости от условий эксперимента, животные отбираются по возрасту и массе тела. Особое внимание обращают на внешний вид животных (блеск шерстных покровов, опрятность, отсутствие внешних признаков болезни, дефекты онтогенетического развития и т. п.).

На всех этапах изучения поведения животных должны строго соблюдаться одинаковые условия их содержания, ухода, исследований:

- постоянная экспериментальная обстановка (отдельное помещение со стандартным освещением, изолированное от посторонних раздражителей),
- экспериментаторы, прошедшие обучение,
- полноценный пищевой рацион,
- одинаковое время кормления и исследования с учетом биоритмов поведенческих реакций,
- содержание животных в клетках в количестве не более 10 особей одного пола.
- четкая маркировка каждого животного,
- тщательная обработка оборудования после каждого животного дезинфицирующими средствами, для снижения воздействия запаховых раздражителей, особенно при работе с разным полом животных.

**Показатели локомоторной активности лабораторных животных в тестах
«открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт»**

Таблица 20 - Локомоторная активность беспородных мышей в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» (n=70)

Показатель	Самцы	Самки
Ориентировочно-исследовательская активность		
Количество центральных посещений (Me (Q1;Q3))	0,5 (0,0;1,0)	0,5 (0,0;1,0)
Мочеиспускание (Me (Q1;Q3))	0,5 (0,0;1,0)	0,5 (0,0;1,0)
Дефекация (Me (Q1;Q3))	0,5 (0,0;1,0)	0,5 (0,0;1,0)
Груминг (Me (Q1;Q3))	0,5 (0,0;2,0)	0,5 (0,0;1,0)
Количество посещенных квадратов (M±m)	47,3±2,8	46,5±2,5
Пристеночные стойки (M±m)	14,2±0,8	14,5±1,4
Свободные стойки (M±m)	6,2±0,2	5,9±0,2
Заглядывание в норку (M±m)	20,3±0,9	21,3±1,0
Эмоционально-двигательное поведение (M±m)		
Количество посещений светлого рукава	5,9±0,4	6,2±0,3
Количество посещений темного рукава	6,1±0,2	5,9±0,4
Длительность пребывания в светлом рукаве, сек.	63,4±4,8	62,8±5,2
Длительность пребывания в темном рукаве, сек.	92,1±3,4	89,7±3,2
Длительность центральных посещений, сек.	24,5±1,3	27,5±1,2

Таблица 21 - Локомоторная активность беспородных хомяков в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» (n=70)

Показатель	Самцы	Самки
Ориентировочно-исследовательская активность		
Количество центральных посещений (Me (Q1;Q3))	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)
Мочеиспускание (Me (Q1;Q3))	1,0 (0,0;2,0)	1,0 (0,0;1,0)
Дефекация (Me (Q1;Q3))	1,0 (0,0;1,0)	0,5 (0,0;2,0)
Груминг (Me (Q1;Q3))	1,0 (0,0;2,0)	1,0 (0,0;2,0)
Количество посещенных квадратов (M±m)	42,4±2,4	43,2±2,5
Пристеночные стойки (M±m)	14,0±1,1	13,6±1,0
Свободные стойки (M±m)	6,2±0,3	5,9±0,2
Заглядывание в норку (M±m)	21,7±1,1	22,0±0,9
Эмоционально-двигательное поведение (M±m)		
Количество посещений светлого рукава	5,8±0,6	6,0±0,3
Количество посещений темного рукава	5,8±0,4	6,1±0,3
Длительность пребывания в светлом рукаве, сек.	62,9±5,5	63,4±5,4
Длительность пребывания в темном рукаве, сек.	95,4±6,9	93,1±3,2
Длительность центральных посещений, сек.	21,7±1,5	23,5±1,4

Таблица 22 - Локомоторная активность беспородных крыс в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» (n=70)

Показатель	Самцы	Самки
Ориентировочно-исследовательская активность		
Количество центральных посещений (Me(Q1;Q3))	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;2,0)
Мочеиспускание (Me(Q1;Q3))	0,0 (0,0;1,0)	0,0 (0,0;1,0)

Дефекация (Me(Q1;Q3))	1,0 (0,0;1,0)	0,0 (0,0;1,0)
Груминг (Me(Q1;Q3))	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)
Количество посещенных квадратов (M±m)	21,3±0,8	23,4±1,1
Пристеночные стойки (M±m)	10,9±0,5	11,5±0,5
Свободные стойки (M±m)	6,1±0,3	6,3±0,4
Эмоционально-двигательное поведение, M±m		
Количество посещений светлого рукава	5,0±0,3	4,6±0,2
Количество посещений темного рукава	4,7±0,3	5,2±0,2
Длительность пребывания в светлом рукаве, сек.	53,7±3,1	58,6±3,2
Длительность пребывания в темном рукаве, сек.	95,2±4,5	90,8±4,9
Длительность центровых посещений, сек.	31,1±1,5	30,6±1,2

Скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов у крысят

Сенсорно-двигательные рефлексы отображают целостность сенсорных и моторных компонентов рефлекторной дуги и влияние нисходящих моторных нервных путей на рефлекс.

Программа изучения постнатального развития потомства при оценке репродуктивной токсичности обязательно включает в себя оценку скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов. Объем исследования определяется экспериментатором с учетом фармакологических и токсикологических свойств изучаемого лекарственного вещества. Примерный перечень тестов указан в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств. (2012).

Переворачивание на плоскости

Крысят кладут на спину на плоской поверхности, быстро отпускают и измеряют время, необходимое для возвращения в нормальное положение. Формирование рефлекса считают завершенным, если крысята возвращаются на все 4 лапы. Опыт проводят не более чем по 30 сек. с каждым животным до полного формирования рефлекса во всех контрольных пометах.

Отрицательный геотаксис

Опыт проводят 1 мин. Крысят помещают на наклонную плоскость (25°) головой вниз. Рефлекс считают сформированным, если крысята поворачиваются на 180°. Опыт проводят до полного формирования рефлекса во всех контрольных пометах.

Избегание обрыва

Крысят кладут на стол или возвышающуюся над клеткой платформу таким образом, что передние лапы касались края стола. Формирование рефлекса считают завершенным, если в течение 10 сек. крысята отползают от края площадки. Опыт проводят до полного формирования рефлекса во всех контрольных группах.

Маятниковый рефлекс

Определяют как изменение направления головы и туловища в горизонтальной плоскости приблизительно на 90° за счет перемещения передних лап, когда задние конечности поджаты и неподвижны. Измеряется количество поворотов за 1 мин и количество изменений направления на обратное (реверсия). Опыт проводят до достижения экспериментальными группами цифр контрольных групп.

Открытое поле (на 20 день после рождения)

Крысят помещают на площадку размерами 30×30 см, на которой проведены линии, образующие 36 квадратов. Регистрируют сформированность различных двигательных актов: поднятие головы и передних лап, ползание, опору на задние конечности, подъем всего тела, двигательную активность (число пересеченных квадратов), умывания различного рода, обнюхивания, стойки, карабкание на стенки, прыжки, время отсутствия активности, возможные аномалии походки.

Реакция на акустический стимул

Крысят помещают на небольшую площадку в звукоизолированной клетке. Поворот животного в ответ на акустический стимул регистрируют визуально. Рефлекс считают сформированным, если животное реагирует на акустический стимул длительностью 0,3 – 0,5 сек. Опыт проводят до полного формирования рефлекса во всех контрольных пометах.

Зрачковый рефлекс

Регистрируют сокращение зрачка или поворот головы. Опыт проводят в затемненном помещении с точечным источником света до полного формирования рефлекса во всех контрольных пометах.

Избегание обрыва (вызванное визуальным стимулом)

Животное помещают на площадку, поднятую на высоту 45 см над поверхностью, избегание падения принимают за положительное решение. Опыт проводят однократно, после открытия глаз.

Обонятельная реакция

Животное помещают посередине рейки шириной 6 см с делениями, которую кладут на клетку. Определяют расстояние, на котором животное правильно выбирает направление на клетку проживания с матерью, в которой оно содержалось перед опытом.

Мышечная сила

Крысят помещают на густую проволочную сетку, которую медленно поворачивают на 180°. Измеряют время нахождения животного под сеткой. Опыт проводят до достижения критерия всеми контрольными пометами.

Показатели зоопсихологического развития крысят

Таблица 23 - Зоопсихологическое развитие крысят, $M \pm m$, Me(Q1;Q3)

Показатели	Самцы, n=58	Самки, n=58
Формирование сенсорно-двигательных рефлексов		
Отрицательный геотаксис, день	6,7±0,2	6,5±0,2
Переворачивание на плоскости, день	7,8±0,3	7,7±0,2
Маятниковый рефлекс, день	9,5±0,5	9,6±0,3
Избегание обрыва, день	9,3±0,4	9,7±0,5
Обонятельная реакция, день	10,6±0,4	10,5±0,5
Реакция на акустический стимул, день	13,3±0,6	13,9±0,5
Зрачковый рефлекс, день	14,9±0,7	14,3±0,6
Избегание обрыва (вызванное визуальным стимулом), день	14,9±0,7	14,8±0,7
Мышечная сила, день	16,2±0,8	16,4±0,6
Открытое поле		
Поднимание головы и передних лап, день	8,5±0,4	8,8±0,4
Ползание, день	9,7±0,4	10,3±0,5
Опора на задние конечности, подъем всего тела, день	14,2±0,7	14,8±0,7
Двигательная активность на 20-й день после рождения		
Число пересеченных квадратов, кол-во	41,8±2,3	43,7±2,1
Грумминг, кол-во Me(Q1;Q3)	2,0 (1,0;3,0)	2,5 (1,0;3,5)
Обнюхивания, кол-во	4,7±0,2	4,8±0,2
Пристеночные стойки, кол-во	12,8±0,5	11,7±0,5
Свободные стойки, кол-во	6,8±0,2	6,2±0,2
Прыжки, кол-во Me(Q1;Q3)	1,0 (0,0;2,0)	1,0 (0,0;2,0)
Время отсутствия активности, сек	13,8±0,6	14,7±0,7
Эмоционально-двигательное поведение и способность к тонкой координации движений		
Переворачивание в свободном падении, день	19,8±0,8	18,6±0,6
Удержание на вращающемся цилиндре, день	21,8±1,0	20,4±1,1
Локомоторная активность крысят в «открытом поле» на 45-й день после рождения		
Кол-во посещенных квадратов	48,4±2,1	51,7±1,9

Кол-во пристенных стоек	16,7±0,7	17,1±0,6
Кол-во свободных стоек	7,2±0,3	7,1±0,2
Кол-во центровых посещений, Me(Q1;Q3)	1,0 (1,0;2,0)	1,0 (1,0;2,0)
Мочеиспускание, Me(Q1;Q3)	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)
Дефекация, Me(Q1;Q3)	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (1,0;1,0)
Кол-во груминга, Me(Q1;Q3)	1,0 (1,0;2,0)	1,0 (1,0;2,0)

Температура тела

Температура тела - комплексный показатель теплового состояния организма животных. Лабораторные теплокровные животные способны сохранять относительное постоянство температуры своей внутренней среды. Согласно современным представлениям в основе механизма терморегуляции лежит динамическое равновесие теплопродукции и теплоотдачи, управляемое центральными механизмами.

Сдвиг терморегуляции в сторону повышения температуры тела животного возможен при уменьшении теплоотдачи, увеличении теплопродукции, комбинированном влиянии обоих факторов и «установке» центральных регуляторных механизмов на новый, более высокий уровень терморегуляции.

Сдвиг терморегуляции в сторону понижения температуры тела возможен, наоборот, при повышении теплоотдачи, уменьшении теплопродукции или, опять-таки, одновременном воздействии на теплоотдачу и теплопродукцию в указанном направлении.

Температуру тела измеряют различными термометрами, наиболее удобными являются электронные термометры. Как правило, для оценки температуры тела измерение проводят в прямой кишке животного.

Локально температуру измеряют в случае необходимости, например в очаге воспаления. Ниже представлены данные о температуре тела основных лабораторных животных.

Таблица 24 - Температура тела (ректальная) у различных лабораторных животных, $M \pm m$

Вид животных	N (самцы/самки)	Температура тела, °C	
		Самцы	Самки
Мыши	120 (70/50)	37,6±0,2	37,8±0,3
Крысы	219 (95/124)	37,7±0,3	37,0±0,2
Морские свинки	36 (19/17)	37,8±0,3	37,5±0,3
Кролики	40 (26/14)	38,0±0,5	38,6±0,1

Таблица - 25 Температура различных участков тела у различных лабораторных животных, °С, М±m

Вид животных	N	Прямая кишка	Голова	Спина	Конечности
Мыши-самцы	70	37,6±0,2	34,5±0,3	36,4±0,2	31,5±0,2
Мыши-самки	50	37,8±0,3	35,6±0,2	36,1±0,1	32,1±0,1
Крысы-самцы	95	37,3±0,1	36,0±0,4	36,9±0,1	31,4±0,2
Крысы-самки	124	37,7±0,1	36,2±0,3	36,4±0,1	31,3±0,1
Морские свинки-самцы	19	37,8±0,3	36,4±0,4	36,5±0,3	32,6±0,4
Морские свинки-самки	17	37,5±0,3	35,8±0,5	36,2±0,3	32,7±0,4
Кролики-самцы	26	38,0±0,5	31,0±0,5	33,4±0,2	32,4±0,2
Кролики-самки	14	38,6±0,1	33,1±0,3	32,6±0,2	31,7±0,9

Электрокардиограмма и артериальное давление

Аномалии сердечного ритма – критический показатель при оценке токсикологических свойств лекарственных препаратов. Их появление – результат нарушения формирования импульса или его проведения, либо их сочетание. Широко исследуется проблема замедленной реполяризации левого желудочка, отражающаяся в удлинении интервала QT. Ряд препаратов, применяемых для лечения внесердечных заболеваний, может вызывать пролонгирование сердечной реполяризации вплоть до развития “torsade de pointes” – потенциально фатальной аритмии. Также хорошо известна проблема влияния на электрическую активность миокарда трициклических антидепрессантов, таких как имипрамин, сердечных гликозидов (дигоксин), антиаритмиков I, III классов (хинидин, амиодарон) и ряда других препаратов. Поэтому рекомендуется оценивать новые препараты на наличие влияния на электрическую активность сердца.

Процедуру проводят на наркотизированных животных, например, с помощью компьютерного электрокардиографа для ветеринарии «Поли-спектр-8В». В качестве электродов используют стальные клеммы. ЭКГ записывают преимущественно в отведении II (рис. 15).

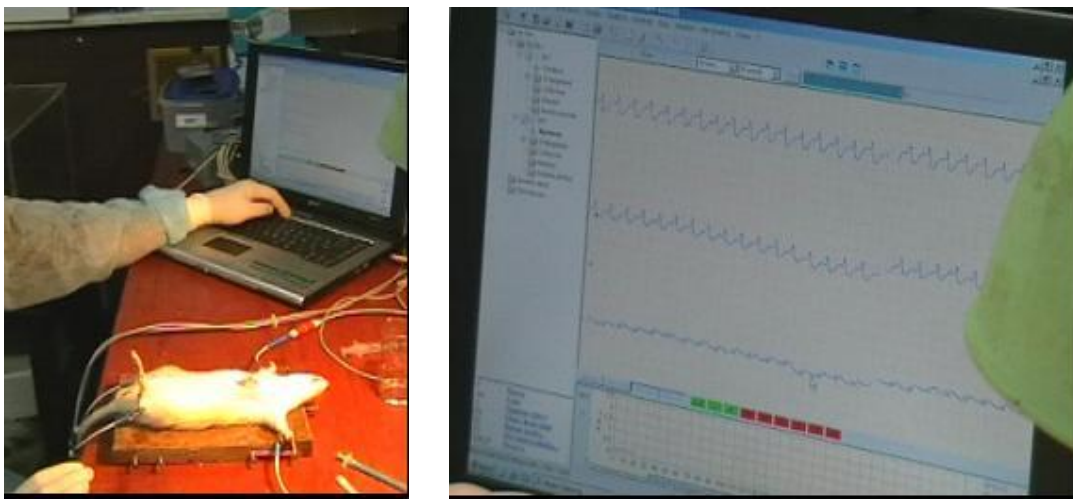
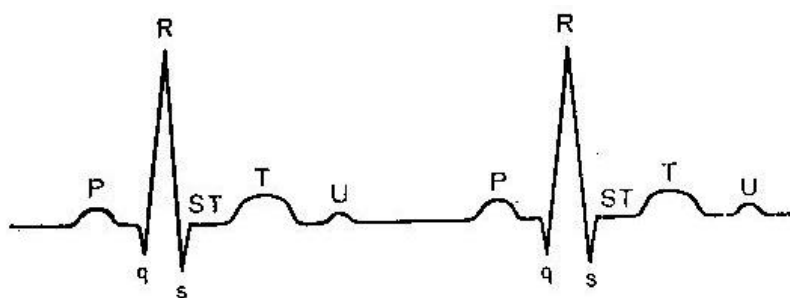


Рис. 15 - Регистрация ЭКГ у крысы

Оценивают следующие параметры:



ЧСС/min – частота сердечных сокращений.

RR, msec – показывает продолжительность сердечного цикла. Ритм считается нормальным, если колебания интервала не превышает 10%.

Зубец P, mV, – предсердный комплекс, образуется в результате возбуждения обоих предсердий.

Интервал PQ, msec – отражает время, необходимое для деполяризации предсердий и проведения импульса по атриовентрикулярному соединению, предсердно-желудочковый интервал.

Интервал QRS, msec – (желудочковый комплекс), отражает деполяризацию желудочков. При возбуждении межжелудочковой перегородки регистрируется зубец Q, который у крыс почти всегда отсутствует.

R, mV – отражает возбуждение верхушки сердца.

Зубец S, msec – формируется при возбуждении основания сердца. У крыс встречается в 10,2% случаев.

Интервал ST, msec, – отражает угасание процесса возбуждения миокарда.

QT, msec – зубец Т характеризует период угасания возбуждения, полную реполяризацию миокарда.

Ниже приведены данные ЭКГ человека, беспородных крыс и морских свинок.

Таблица 26 - Характер ЭКГ у человека, $M \pm m$

Показатель	Орлов В.Н., 1983	Мурашко В.В., Струтынский А.В., 2007
ЧСС/min	60-80	60-90
RR, msec	600-1000	650-1000
P, msec	До 100	До 100
P, mV	До 0,25	0,15-0,25
PQ, msec	120-180	120-200
QRS, msec	60-80	До 100
R, mV	0,5-2,2	До 2,0
S, mV	до 0,2	До 0,2
ST, msec	250-350	250-400
ST, mV	-0,05 – 0,20	-0,05 – 0,20
QT, msec	350-440	350-450

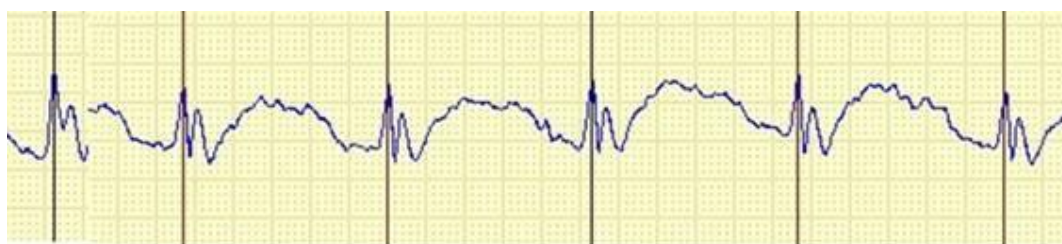


Рис. 16. Пример ЭКГ крысы

Таблица 27 - Характер ЭКГ крыс, $M \pm m$

Показатель	Самцы n = 70	Самки n = 74
ЧСС/min	486±9	494±4
RR, msec	143±5	142±6
P, msec	30±1	30±1
P, mV	0,060±0,003	0,064±0,003
PQ, msec	44,3±0,9	42,5±1,2
QRS, msec	42,5±0,8	42,6±0,7
R, mV	0,23±0,01	0,22±0,01
S, mV	0,041±0,002	0,044±0,003
ST, msec	50,9±2,1	49,1±2,2
ST, mV	0,171±0,006	0,174±0,006
QT, msec	81,1±3,4	81,5±2,8

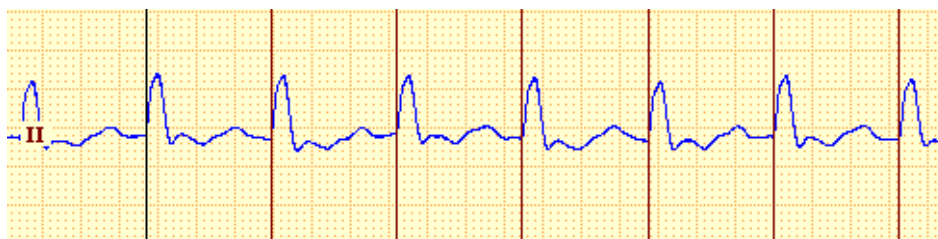


Рис. 17. Пример ЭКГ морской свинки

Таблица 28 - Характер ЭКГ морских свинок, $M \pm m$

Показатель	Самцы n = 40	Самки n = 56
ЧСС/min	315±9	324±8
RR, msec	192±5	198±4
P, msec	43±2	45±3
P, mV	0,09±0,01	0,09±0,01
PQmsec	62±2	64±2
QRS, msec	55±1	53±2
R, mV	0,47±0,03	0,48±0,02
S, mV	0,10±0,01	0,08±0,01
ST, msec	71±2	76±3
ST, mV	0,06±0,01	0,05±0,01
QT, msec	109±2	113±5

В таблицах ниже приведен пример количественных данных при исследовании внутривенного введения папаверина хлорида. В этом случае, папаверин вызывает увеличение зубца Т после первой минуты введения (введено 5,5 мг/кг). АВ блокада II степени появилась после 7,5 мин введения (введено 41,3 мг/кг), расстройства внутрисердечного проведения отмечаются после 17,5 мин (введено 96,3 мг/кг), остановка сердца – после 20 мин введения. Среднее время остановки сердца (10 животных) составило 20 мин, при средней дозе $111,8 \pm 7,6$ мг/кг. Показано, что папаверин вызывал прогрессирующую брадикардию, сопровождающуюся прогрессирующим удлинением интервалов PR, QT.

Таблица 29 - Эффект инфузии папаверина (5,5 мг/кг/мин) на основные параметры ЭКГ морской свинки (цитировано по Current protocols in pharmacology, 2009)

Время, (мин)	Доза (мг/кг)	Основные симптомы
1	5,5	Единичное увеличение зубца Т
2,5	13,7	Увеличение зубца Т
5	27,5	Увеличение зубца Т
7,5	41,3	Большой ишемический зубец Т. Атриовентрикулярная блокада (2 степени)
10	55	Частичное возвращение зубца Т к нормальным значениям
12,5	68,8	Плоский зубец Т. Атриовентрикулярная блокада (2 степени)

15	82,5	Нарушения внутрижелудочковой проводимости (глубокий зубец Т). Атриовентрикулярная блокада (2 степени)
17,5	96,3	Нарушения внутрижелудочковой проводимости (глубокий зубец Т). Атриовентрикулярная блокада (2 степени). Наличие зубца U в некоторых случаях.
20	110	Остановка сердца

Таблица 30 - Эффект инфузии папаверина (5,5 мг/кг/мин) на основные параметры ЭКГ морской свинки (цитировано по Current protocols in pharmacology, 2009)

Время, (мин)	Доза (мг/кг)	ЧСС/min	PQ (msec)	QT (msec)
0	0	360±6	60±5	82±8
1	5,5	350±8	65±8	86±10
2,5	13,7	155±12	102±8	142±12
5	27,5	150±10	110±10	140±13
7,5	41,3	155±8	112±9	182±14
10	55	150±8	105±8	183±13
12,5	68,8	140±8	106±8	204±13
15	82,5	90±14	112±9	203±12
17,5	96,3	50±6	102±8	322±18
20	110	NA	NA	NA

Хинидин вызывает прогрессирующую брадикардию, сопровождающуюся прогрессирующим удлинением интервалов PR, QT.

Таблица 31 - Эффект инфузии хинидина (5,5 мг/кг/мин) на основные параметры ЭКГ морской свинки (цитировано по Current protocols in pharmacology, 2009)

Время, (мин)	Доза (мг/кг)	ЧСС/min	PQ (msec)	QT (msec)
0	0	340±8	68±5	92±12
1	5	330±7	72±7	110±11
2,5	12,5	296±9	80±6	121±14
5	25	242±12	79±8	152±12
7,5	37,5	215±18	81±9	180±9
10	50	172±14	88±8	185±9
12,5	62,5	141±11	102±9	222±13
15	75	105±9	118±9	262±12
17,5	87,5	66±17	158±7	292±16
20	100	NA	NA	NA

Колебания **артериального давления** (например, в зависимости от нагрузки, эмоционального состояния и т.д.) в норме относительно невелики, т.к. должный уровень АД поддерживается сложными механизмами его регуляции; в покое у здорового человека величина АД в разное время суток различается незначительно (наиболее низкие значения обычно бывают ранним утром). При различных заболеваниях те или иные механизмы регуляции нарушаются, что приводит к

изменению уровня АД. Стойкое повышение АД называют артериальной гипертензией, а понижение — артериальной гипотензией.

В таблице ниже приведены ориентировочные значения величины артериального давления в различные возрастные периоды у человека.

Таблица 32 - Ориентировочные значения величины артериального давления в различные возрастные периоды

Возраст (в годах)	Артериальное давление (в мм. рт. ст.)	
	систолическое	диастолическое
16—20	100—120	70—80
20—40	120—130	70-80
40—60	До 140	До 90
Старше 60	До 150	До 90

Для изучения лекарственных препаратов, оказывающих влияние на артериальное давление, используют как нормотензивных, так и гипертензивных животных.

Наиболее часто используемой линией крыс для этих целей является линия SHR (spontaneously hypertensive rats) - линия выведена в г. Киото в 1963 из аутбредных крыс Wistar-Kyoto путем скрещивания самцов, имеющих сильно повышенное кровяное давление с самками, имеющими слегка повышенное кровяное давление. Последовавшее за этим братско-сестринское скрещивание, сопровождалось непрерывной селекцией на спонтанную гипертензию.

В качестве контроля к крысам линии SHR иногда используют линию WKY (Wistar-Kyoto), как нормотензивную контрольную линию, однако это не является стандартом для исследований, поскольку их генотип совпадает лишь на 50%.

Эксперименты на этой линии должны проводиться в соответствии с руководством по уходу и использованию гипертензивных крыс. В мире используют несколько разновидностей SHR линии различающихся по генетическим маркерам и стране вывода.

Высокое артериальное давление наблюдается у этих животных к возрасту 10 недель, достигая 171 ± 2.0 mmHg (Tanase H. et al., 1982). Согласно Yamori Y. (1984), спонтанно гипертензия развивается у всех без исключения животных возрасте 7-15 недель, достигая своего плато 200 mmHg.

Развитие гипертензии связывают с полигенетическими изменениями, с вовлечением, по крайней мере, трех генов (Tanase H. et al., 1970).

У животных наблюдается высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний (Okamoto K. et al., 1973). На хроническое повышение давления и нарушение кальциевого гомеостаза сердечная мышца отвечает компенсаторным развитием гипертрофии. При этом в кардиомиоцитах SHR наблюдаются патологические нарушения NO-сGMP-регуляторной системы (Ognibene D.T. et al., 2010), изменения в мембранах (Meyer P., Marche P., 1988, Devynck M.A. et al., 1982) и в содержании саркомерных белков (Карадулева Е.В. и др., 2010).

Эти животные имеют ряд аномалий сосудистой системы – таких как структурные нарушения сосудистой стенки, выраженные в уменьшении просвета сосудов (Кобалова Ж.Д., 2001, Morton J.J. et al., 1990, Arribas S.M. et al., 1996), патологии функциональной активности эндотелия сосудистой стенки, сказывающиеся в нарушении микроциркуляции и реологии (Okamoto K. et al., 1974). Среднее артериальное давление (САД) у SHR крыс в два раза выше, чем у нормотензивных животных (WKY). Высокий уровень САД строго коррелирует с церебральной дисфункцией (Okamoto K. et al., 1974).

У SHR крыс наблюдается функциональное увеличение периферического сосудистого сопротивления, которое, главным образом, зависит от нейрогенных механизмов, за счет нарушения центрального регулирования артериального давления. Повышенный нейрогенный тонус приводит к ускорению синтеза белка и вызывает структурные изменения в сосудах (гиперплазия гладкомышечных клеток и возбуждение их по адренергическим механизмам).

Согласно Dietz и др. (1984) имеются нарушения внутриклеточного баланса электролитов с увеличением внутриклеточного натрия и кальция.

Grobecker G. и соавторы (1975) установили, что у молодых SHR крыс в плазме крови увеличен уровень норадреналина и допамин-гидролазы по сравнению с WKY крысами, но общий уровень катехоламинов не увеличен. В то же время содержание катехоламинов в надпочечниках было уменьшено.

Также более чем в 2 раза увеличен уровень тиреотропного гормона (Werner S.C. et al., 1975). Уменьшен метаболизм иодтирониона I-131 и увеличен вес щитовидной железы относительно контроля Wistar (Fregley M.J., 1975).

SHR крысы имеют инсулино-резистентность, и являются подходящей моделью для изучения инсулино-резистентности и гипертонии (Swislocki A., Tsuzuki A., 1993).

Гомозиготы также имеют метаболические и гистопатологические характеристики, связанные с сахарным диабетом "инсулиннезависимым" (тип II), выраженные у самцов и самок. Снижена острота зрения на 40-66 дни, до начала гипертонии (Rogers L.J., et al., 1993).

Нами выполнялись исследования на линейных белых крысах-самцах с наследственной гипертензией (линия спонтанно-гипертензивных крыс, SHR, Чехия) массой 300–330 г, возраст 4 месяца и Wistar-Kyoto (Чехия), массой 280-300 г., возраст 4 месяца. Крысы поступали из питомника института физиологии им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург.

Для регистрации животное помещали в индивидуальный посадочный домик, который устанавливали на термопластину с температурой 37°C. В течение 5-7 минут животное находилось в домике для адаптации. Регистрацию АД проводили с хвостовой артерии неинвазивным методом без наркотизации животных, с помощью прибора ML870/P Powerlab 8/30 и ML125/R NIBP Controller, манжету накладывали на основание хвоста, вывод данных осуществляли с помощью программного обеспечения производителя оборудования. Регистрировали систолическое артериальное давление (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД) с использованием 2-х датчиков.

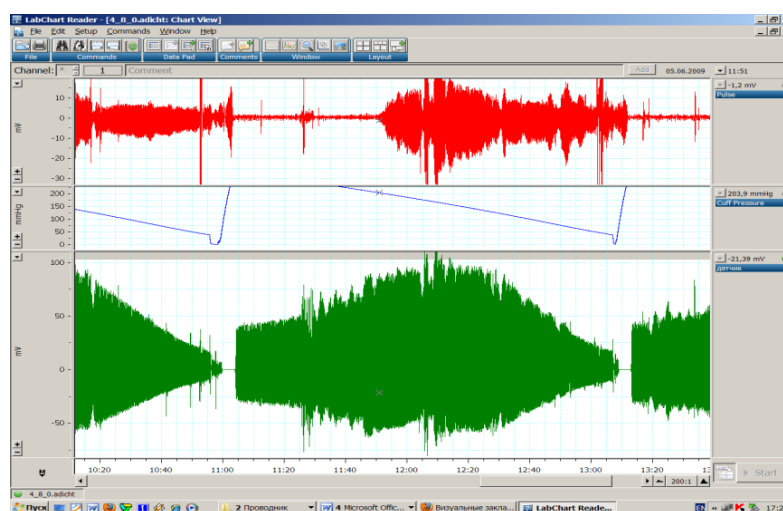


Рис. 18 – Графики артериального давления крысы линии SHR, полученные с помощью двух датчиков, установленных на основании хвоста

С помощью программного обеспечения LabChart проводили обработку полученных данных.

Таблица 33 - Уровень артериального давления у самцов и самок линии Wistar-Kyoto и SHR, n=156, $M \pm m$, мм.рт.ст.

Линия		N	САД	ДАД
Wistar-Kyoto	Самцы	65	105±2	66±3
	Самки	43	98±3	56±4
SHR	Самцы	156	203±14	88±7
	Самки	88	199±16	93±6

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

(Т.В. Абрашова, А.П. Соколова, М.А. Ковалева)

Поиск русскоязычной литературы, содержащей числовые значения биохимических показателей у лабораторных крыс, позволил установить, что последние систематизированные данные были получены в 70-80-х годах прошлого века. Одним из наиболее полных источников был труд под редакцией проф. Трахтенберга И.М. «Проблема нормы в токсикологии», изданный в 1991 г.

Получение объективных данных, которые должны воспроизводиться в повторных опытах в любой лаборатории, достигается лишь при соблюдении стандартности всех условий и материалов эксперимента. Если речь идет о медико-биологических исследованиях на животных, то стандартными или приближенными к стандартным должны быть зоогигиенические условия содержания животных, правильность забора биоматериала и адекватная оценка полученных результатов.

На современном этапе исследования нормальных величин для лабораторных животных должны соответствовать следующим требованиям:

1. Стандартизированные аналитические методы, на современном оборудовании;
2. Одинаковые методики и единицы измерения;
3. Стандартные условия содержания животных, условия окружающей среды, рацион питания, питьевой рацион;
4. Для сопоставления результатов, полученных в ходе наработки внутри-лабораторных стандартов, необходимо использование литературных данных,

особенно зарубежных, по отдельным линиям животных обоих полов. И только в случае, если контролируются все параметры эксперимента, можно сравнивать данные двух разных лабораторий.

Мы предприняли попытку восполнить недостаток современной литературы на русском языке, и оценить некоторые показатели интактных, беспородных животных (мышей, крыс, морских свинок, кроликов и хомяков), а также трех линий крыс (Wistar, SHR и Long-Evans), полученных из питомников лабораторных животных ФГУП «ПЛЖ «Рапполово» РАМН и Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Методы оценки биохимических показателей крови

Забор крови для исследования проводили в одно и то же время, натощак. Аналитические измерения проводили с соблюдением стандартизованных методик на апробированных заводских реагентах с обязательным проведением контроля качества на автоматизированных приборах, что позволило минимизировать ошибки и нивелировать влияние человеческого фактора.

Биохимические показатели крови определяли на биохимическом автоматическом анализаторе открытого типа «А-25» (BioSystems, Испания) с использованием реагентов от различных производителей фирмы в сыворотке (или плазме) крови без следов гемолиза.

Для исследования использовали венозную кровь, которую отбирали из вены в чистую пластмассовую пробирку. Для получения сыворотки кровь центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин. Для приготовления плазмы, предварительно в пробирку добавлялся антикоагулянт (гепарин натрия, соль, цинк, натрий или 2% раствор EDTA). Полученная сыворотка (или плазма) переносилась во вторичные пробирки, которые затем загружали в анализатор.

Оценивали следующие показатели:

1. Аминотрансферазы (АЛТ и АСТ)
2. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)
3. Креатинкиназа
4. Билирубин (общий)
5. Щелочная фосфатаза
6. Креатинин

7. Мочевина
8. Общий белок
9. Альбумин
10. Глобулины (расчетный показатель)
11. Альбумин-глобулиновый коэффициент (расчетный показатель)
12. Холестерин
13. Холестерин липопротеинов высокой плотности (ЛПВП)
14. Холестерин липопротеинов низкой плотности (расчетный показатель) (ЛПНП)
15. Триглицериды
16. Общие липиды
17. Глюкоза
18. Калий
19. Натрий
20. Кальций

Аланинаминотрансферазы (АЛТ, ALT/GPT)

Кинетический метод

Принцип метода: Аланинаминотрансфераза (ALT/GPT) катализирует перенос аминокетильной группы от аланина к 2-оксоглутарату, образуя пируват и глутамат. Активность АЛТ определяется по скорости уменьшения NADH (никотинамиддинуклеотид), оптическая плотность которого измеряется при 340 нм. Метод рекомендован IFCC (Sociedad Española., 1987; Approved Recommendation, 1985; Gella F.J. et al., 1985).

Аланин + 2-оксоглутарат $\xrightarrow{\text{АЛТ}}$ Пируват + Глутамат

Пируват + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{ЛДГ}}$ Лактат + NAD⁺

Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 15.0 Ед/л=0.25 мккат/л.

Предел линейности: 500 Ед/л = 8.33 мккат/л.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация

	CV	n
34 Ед/л=0.56 мккат/л	6.8%	20
135 Ед/л=2.25 мккат/л	1.4%	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация

	CV	n
34 Ед/л=0.56 мккат/л	8.8%	25
135 Ед/л=2.25 мккат/л	4.9%	25

Диагностические характеристики: Аланинаминотрансфераза катализирует образование глютаминовой кислоты из 2-оксоглутарата посредством переноса аминогруппы. АЛТ обычно присутствует в различных тканях, но в наивысшей концентрации определяется в печени и почках.

Сывороточные концентрации АЛТ повышены при гепатите и других заболеваниях печени, связанных с некрозом: инфекционном мононуклеозе, холестазах, циррозе, метастатической карциноме печени, алкогольном делирии и после приема различных лекарств, таких как опиаты, салицилаты или ампициллин (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1994).

Сывороточные концентрации АЛТ также повышены при заболеваниях скелетной или сердечной мускулатуры (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1994).

Нормальные значения для человека: 41 - 65 Ед/л

Аспартатаминотрансферазы (АСТ, AST/GOT)

Кинетический метод

Принцип метода: Аспартатаминотрансфераза (AST/GOT) катализирует перенос аминогруппы от аспартата к 2-оксоглутарату, образуя оксалацетат и глютамат. Активность АСТ определяется по скорости уменьшения NADH, оптическая плотность которого измеряется при **340 нм**. Метод рекомендован IFCC (Sociedad Española., 1987; Approved Recommendation, 1985; Gella F.J. et al., 1985).

Аспартат + 2-Оксиглутарат $\xrightarrow{\text{АСТ}}$ Оксалацетат + Глютамат

Оксалацетат + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{МДГ}}$ Малат + NAD

Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 15.0 Ед/л=0.25мккат/л.

Предел линейности: 500 Ед/л = 8.33 мккат/л.

Сходимость (в пределах серии):

Средняя концентрация

	CV	n
65 Ед/л=1.08 мккат/л	2.0%	20
253 Ед/л=3.92 мккат/л	0.8%	20

Воспроизводимость (от серии к серии):

Средняя концентрация

	CV	n
65 Ед/л=1.08 мккат/л	3.9%	25
253 Ед/л=3.92 мккат/л	5.0%	25

Диагностические характеристики: Аспаратаминотрансфераза катализирует образование глутаминовой кислоты из 2-оксоглутарата посредством переноса аминогруппы. АСТ в максимальной концентрации находится в печени и сердечной мышце, но также присутствует в высоких концентрациях в скелетной мускулатуре, почках и поджелудочной железе.

Сывороточные концентрации АСТ повышены при гепатите и других заболеваниях печени, связанных с некрозом: инфекционном мононуклеозе, холестазе, циррозе, метастатической карциноме печени, алкогольном делирии и после приема различных лекарств (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1991).

Сывороточные концентрации АСТ также повышены после инфаркта миокарда, при заболеваниях скелетной мышцы (например, прогрессирующей мышечной дистрофии), при остром панкреатите или гемолитической болезни и т.д. (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1994).

Нормальные значения для человека: 40 - 50 Ед/л

Лактатдегидрогеназы (ЛДГ, LD/LDH)

Кинетический метод

Принцип метода: Лактатдегидрогеназа (LD/LDH) катализирует восстановление пирувата NADH с образованием лактата и NAD⁺. Активность ЛДГ определяется по скорости уменьшения оптической плотности NADH, измеряемой при **340** нм (Sociedad Española..., 1989; Scientific Committee. Recommendations..., 1982).

ЛДГ

Пируват + NADH + H⁺ -----→ Лактат + NAD⁺

Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 4.7 Ед/л=0.078 мккат/л.

Предел линейности: 1250 Ед/л = 20.92 мккат/л. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой в 2 раза и повторить измерение.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация

	CV	n
324 Ед/л=5.40 мккат/л	3.9%	20
1029 Ед/л=17.15 мккат/л	2.3%	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация

	CV	n
324 Ед/л=5.40 мккат/л	6.6 %	25
1029 Ед/л=17.15 мккат/л	3.3 %	25

Чувствительность: 0.123 Δ мА▪ л/Ед▪мин= 7.41 Δ мА▪ л/мккат ▪мин.

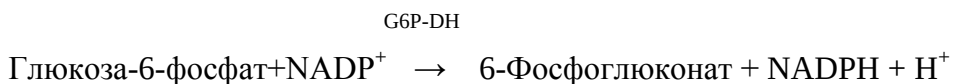
Диагностические характеристики: Лактатдегидрогеназа присутствует во всех клетках тела, но в наиболее высоких концентрациях определяется в печени, сердце, почках, скелетной мышце и эритроцитах.

Общая концентрация ЛДГ в сыворотке или плазме повышена у пациентов с заболеваниями печени, почек, инфарктом миокарда, злокачественных опухолях, прогрессирующей мышечной дистрофии и почти в любом случае гемолиза (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1994).

Нормальные значения для человека: 207 - 414 Ед/л

Креатинкиназа (КК)

Принцип метода: Креатинкиназа катализирует фосфорилирование АДФ в присутствии креатинфосфата, образуя АТФ и креатин. Активность фермента определяется по скорости образования NADPH, оптическую плотность которого измеряют при 340 нм, в ряде реакций с участием гексокиназы (ГК) и глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа (G6P-DH) (IFCC methods for the measurement..., 1989).



Метрологические характеристики:

Предел чувствительности: $9.2 \text{ Ед/л} = 153 \text{ нкат/л}$.

Предел линейности: $1300 \text{ Ед/л} = 21671 \text{ нкат/л}$. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой в 2 раза и повторить измерение.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация		
	CV	n
175 Ед/л = 2917 нкат/л	1.8 %	20
567 Ед/л = 9452 нкат/л	0.7 %	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация		
	CV	n
175 Ед/л = 2917 нкат/л	1.3 %	25
567 Ед/л = 9452 нкат/л	1.1 %	25

Чувствительность: $0.3 \Delta \text{ мА} \cdot \text{л/Ед} \cdot \text{мин} = 5 \Delta \text{ мА} \cdot \text{л/нкат} \cdot \text{мин}$.

Интерференция: Билирубин ($< 20 \text{ мг/дл}$) и гемоглобин ($< 10 \text{ г/л}$) не влияют на результаты. Липемия (триглицериды $< 10 \text{ г/л}$) может влиять на результаты.

Некоторые вещества и лекарства могут влиять на результат (Young D.S., 1997).

Диагностические характеристики:

Креатинкиназа играет важную роль в мышцах, обеспечивая превращение АДФ в АТФ, при сокращении мускулатуры, используя креатин фосфат как резервуар фосфорилирования.

Сывороточная КК вырабатывается главным образом в мышцах и ее концентрация зависит от ряда физиологических характеристик (пол, возраст, мышечная масса, физическая активность, раса).

Концентрация КК в сыворотке значительно увеличена у пациентов с некоторыми заболеваниями скелетной мускулатуры (мышечная дистрофия, миозиты, полимиозиты, злокачественная гипертермия, травма, острый рабдомиолиз), центральной нервной системы (острое цереброваскулярное заболевание, церебральная ишемия, синдром Рейе) и щитовидной железы (гипотиреоз) (Tietz..., 1999, Friedman, Young, 1997).

После инфаркта миокарда, подъем активности КК наблюдается через 3-6 часов и достигает своего пика через 24-36 часов. Фермент быстро выводится из плазмы, так что обычно его активность возвращается в норму через 3-4 дня (Tietz..., 1999, Friedman, Young, 1997).

Нормальные значения для человека:

Мужчины - 38-174 Ед/л или 633-2900 нКат/л, женщины - 26-140 Ед/л, 433-2334 нКат/л.

Билирубин общий (TOTAL BILIRUBIN)

Метод Эндрассика-Грофа

Принцип метода: Общий билирубин пробы реагирует с диазо-сульфанилом в кислой среде с образованием цветного комплекса, который может быть измерен спектрофотометрически. Оба прямой (конъюгирован с глюкоронатом) и непрямой (неконъюгированный) билирубин соединяются с диазо-сульфанилом в присутствии петримида. Термины «прямой» и «общий» относятся к реакционным характеристикам сывороточного билирубина в отсутствии или присутствии растворяющего (ускоряющего) реагента, которые только приблизительно являются эквивалентами конъюгированной и неконъюгированной фракциям. Определение абсорбции при 450 нм (Pearlman FC and Lee RTY, 1974; Zoppi F. et al., 1976).

Метрологические характеристики:

Линейность до 15 мг/дл = 257 мкмоль/л

Гемоглобин (10 г/л) не влияет на результаты. Липемические образцы (триглицериды > 5 мг/дл) могут влиять на результаты (Winsten S, Cehelyk B., 1969).

Диагностические характеристики: Билирубин - пигмент, образующийся в ретикулоэндотелиальной системе печени и селезенки при распаде гемоглобина, миоглобина и цитохромов. Он является одним из основных компонентов желчи и содержится в сыворотке крови в виде двух фракций: конъюгированного (связанного) и неконъюгированного (несвязанного, или свободного) билирубина, вместе составляющих общий билирубин крови.

Причины и формы повышения уровня общего билирубина (гипербилирубинемия):

1. За счет не прямой фракции:

усиленный распад эритроцитов (гемолиз): гемолитические анемии, желтуха новорожденных, малярия, синдром длительного сдавления, наследственные ферментопатии, при которых нарушено образование прямого билирубина (болезнь Жильбера, синдром Криглера-Найяра I и II типов).

2. За счет прямой фракции:

синдром Дабина-Джонсона (аутосомно-рецессивное наследственное заболевание при котором нарушена секреция связанного Б. в желчь);
механическая желтуха: закупорка общего желчного протока опухолью или камнем, как осложнение гепатитов, цирроз;

3. За счет обеих фракций:

поражение печени, сопровождающееся деструкцией ее клеток (гепатоцитов): вирусные гепатиты, токсическое поражение, массивное поражение органа онкологическим процессом, альвеококкоз печени, абсцедирование.

Причины снижения общего билирубина крови:

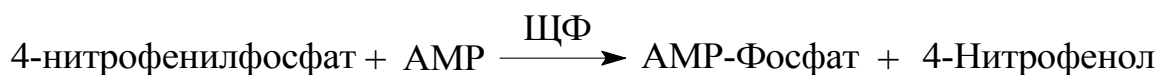
состояние после кровопотери (в крови уменьшено количество «старых» эритроцитов и в результате временно снижен гемолиз);
алиментарный фактор – общая дистрофия.

Нормальные значения для человека: до 1,1 мг/дл = до 18,8 мкмоль/л

Щелочная фосфатаза (ЩФ, ALP)AMP

Принцип метода: Щелочная фосфатаза катализирует в щелочной среде перенос

фосфатной группы от 4-нитрофенилфосфата к 2-амино-2-метил-1-пропанолу (АМР), освобождая 4-нитрофенол. Активность фермента определяется по скорости образования 4-нитрофенола, оптическая плотность которого измеряется при 405 нм (IFCC methods., 1983).



Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 6.0 Ед/л=0.10 мккат/л.

Предел линейности: 1200 Ед/л = 20 мккат/л.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация

	CV	n
131 Ед/л=2.18 мккат/л	4.6%	20
318 Ед/л=5.30 мккат/л	1.2%	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация

	CV	n
131 Ед/л=2.18 мккат/л	8.9 %	25
318 Ед/л=5.30 мккат/л	2.7 %	25

Диагностические характеристики: Щелочная фосфатаза катализирует гидролиз органических фосфатных моноэфиров в щелочной среде. Фермент присутствует практически во всех тканях организма, особенно в клеточных мембранах, и встречается в особенно высоких концентрациях в плаценте, эпителии кишечника, почечных канальцах, остеобластах и печени.

Форма, присутствующая в сыворотке нормального взрослого человека находится главным образом в печени и костной ткани.

Повышение сывороточной ЩФ наблюдается у пациентов с заболеваниями костей, связанными с повышенной активностью остеобластов (болезнь Педжета, первичный и вторичный гиперпаратирозидизм, метастазы в кости, рахит, остеомалиция, переломы), а также у пациентов с заболеваниями гепатобилиарной системы (обтурационная желтуха, гепатиты, гепатотоксичность, вызванная различными лекарствами, рак печени). Физиологические изменения, такие как костный рост и беременность, могут вызвать повышение уровней ЩФ (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1994).

Нормальные значения для человека:

Мужчины - 115 Ед/л, Женщины - 105 Ед/л

Креатинин

Псевдокинетический метод Яффе

Принцип метода: Креатинин пробы реагирует с пикратом в щелочной среде с образованием окрашенного комплекса. Скорость образования цветного комплекса измеряется за короткий промежуток времени для того, чтобы избежать интерференции. Изменение оптической плотности при 505 нм образующегося комплекса пропорционально концентрации креатинина в пробе (Bartels H, Böhmer M., 1971; Fabiny DL, Ertingshausen G., 1971).

Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 0.27 мг/дл=23.9 мкмоль/л креатинина.

Предел линейности: 20 мг/дл = 1768 мкмоль/л креатинина.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация		
	CV	n
1.76мг/дл = 156 мкмоль/л	2.6%	20
4.69 мг/дл=415 мкмоль/л	1.9%	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация		
	CV	n
1.76 мг/дл=156 мкмоль/л	11.4%	25
4.69 мг/дл=415 мкмоль/л	3.1%	25

Диагностические характеристики:

Креатинин является конечным продуктом катаболизма креатина (или фосфокреатина). Количество, производимое каждый день, зависит от мышечной массы. Креатинин свободно фильтруется через клубочки (небольшие количества реабсорбируются и также секретируются почечными канальцами).

Измерение креатинина используется почти исключительно в оценке функции почек (замедленная почечная перфузия, нарушение функционирования нефронов) и в мониторинге почечного диализа (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1999).

Нормальные значения для человека:

Сыворотка и плазма:

Мужчины: 0.9-1.3 мг/дл = 80-115 мкмоль/л

Женщины: 0.6-1.1 мг/дл = 53-97 мкмоль/л

Моча:

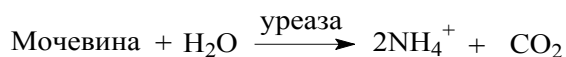
Мужчины: 14-26 мг/кг/24ч = 124-230 мкмоль/кг/24ч

Женщины: 11-20 мг/кг/24ч = 97-177 мкмоль/кг/24ч

Мочевина (UREA-UV)

Ферментативный метод

Принцип метода: Мочевина образца, благодаря сопряженным реакциям, описанным ниже, взаимодействует с NADH, оптическая плотность на **340** нм которого может быть измерена спектрофотометрически (Talke H., Schubert G.E., 1965; Gutmann I., Bergmeyer H.U., 1974).



Метрологические характеристики:

Предел чувствительности: 3.2 мг/дл мочевины = 0.5 ммоль/л мочевины.

Предел линейности: 300 мг/дл мочевины = 140 мг/дл азота = 50 ммоль/л мочевины.

Сходимость (внутри серии)

Средняя концентрация

	CV	n
27 мг/дл=4.5 ммоль/л	4.0%	20
144 мг/дл=23.9 ммоль/л	1.5%	20

Воспроизводимость (от серии к серии)

Средняя концентрация

	CV	n
27 мг/дл=4.5 ммоль/л	4.5%	25
144 мг/дл=23.9 ммоль/л	2.4%	25

Диагностические характеристики: Мочевина синтезируется в печени как побочный продукт в реакции дезаминирования аминокислот. Ее элиминация в мочу представляет собой главный путь выведения азота.

Повышенные концентрации мочевины в плазме являются следствием высокобелковой диеты, повышенного белкового катаболизма, желудочно-кишечных кровотечений, слабой дегидратации, шока, сердечной недостаточности

или лечения глюкокортикоидами (преренальная уремия) (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1994).

Постренальная уремия вызвана состояниями, которые затрудняют мочеиспускание: нефролитиаз, опухоли или гипертрофия простаты. Полезность мочевины как индикатора функции почек ограничена вариабельностью ее плазматических концентраций в результате непочечных факторов (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1994).

Нормальные значения для человека:

Сыворотка и плазма: 15-39 мг/дл мочевины = 7-18 мг/дл азота = 2.5-6.5 ммоль/л мочевины. Концентрации в неонатальном периоде ниже, а у взрослых старше 60 лет выше, чем у взрослых. Также концентрации обычно чуть выше у мужчин, чем у женщин.

Моча: 26 - 43 г/24 часа мочевины = 12-20 г/24 часа азота = 428 – 714 ммоль/24 часа мочевины.

Общий белок (Total Protein)

Принцип метода: Белок пробы реагирует с ионами меди (II) в щелочной среде с образованием цветного комплекса, который может быть измерен спектрофотометрически при 540 (500-550) нм. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации белка в пробе (Gornall A.G. et al., 1949).

Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 6.5 г/л.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация

	CV	n
46.9 г/л	3.0%	20
74.7 г/л	1.3%	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация

	CV	n
46.9 г/л	5.7%	25
74.7 г/л	3.6%	25

Диагностические характеристики: Большинство белков плазмы синтезируются печенью. Главное исключение составляют иммуноглобулины, которые

продуцируются плазматическими клетками, найденными в селезенке, лимфатических узлах и костном мозге.

Двумя основными причинами изменений концентрации общего белка являются изменения объема воды в плазме и изменения концентраций одного или нескольких сывороточных белков.

Гиперпротеинемия может быть вызвана дегидратацией (недостаточное потребление воды, рвота, диарея, болезнь Аддисона, диабетический ацидоз) или быть результатом увеличения концентрации специфических белков (иммуноглобулины при хронических инфекциях, множественной миеломе).

Гипопротеинемия может быть вызвана гемодилюцией (синдромы задержки солей, массивные внутривенные инфузии), замедленным синтезом (острые нарушения питания, хронические заболевания печени, кишечная мальабсорбция), или избыточной потерей белка вследствие хронических болезней почек или острых ожогов (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1999).

Нормальные значения для человека: 64-83 г/л

Альбумин

Принцип метода: Альбумин сыворотки избирательно взаимодействует с бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде в присутствии детергента. Оптическая плотность, образовавшегося желто-зеленого комплекса, прямо пропорционально концентрации альбумина в пробе. Измеряется при **570-640** нм (Doumas B.T. et al., 1971).

Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 1.4 г/л.

Предел линейности: 70 г/л.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация		
	CV	n
24.1 г/л	2.0%	20
40.2 г/л	1.2%	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация		
	CV	n
24.1 г/л	2.3%	25
40.2 г/л	2.1%	25

Диагностические характеристики: Альбумин является наиболее распространенным белком плазмы человека. Альбумин имеет три основные функции: он необходим для поддержания коллоидного онкотического давления плазмы, участвует в неспецифическом транспорте как переносчик для многих неполярных веществ соединений и является источником для эндогенных аминокислот.

Гиперальбуминемия является показателем дегидратации организма (Tietz N.W., 1999).

Гипоальбуминемия является результатом нескольких факторов: уменьшение синтеза белка, вызванное заболеваниями печени, уменьшение абсорбции аминокислот, вызванное синдромом мальабсорбции или нарушением питания, увеличение катаболизма в результате воспаления, лихорадочной реакции или повреждения тканей, перераспределением между внутрисосудистым и межсосудистым пространством благодаря повышению капиллярной

проницаемости, наличием избыточной жидкости или асцитом, повышенные потери вследствие почечных заболеваний (нефротический синдром, сахарный диабет, хронический гломерулонефрит, системная красная волчанка), болезней желудочно-кишечного тракта (язвенный колит, болезнь Крона) или повреждениями кожи (экссфолиативный дерматит, обширные ожоги), эссенциальное отсутствие альбумина или анальбуминемия) (Friedman and Young, 1997; Tietz N.W., 1999).

Нормальные значения для человека:

Новорожденные, 2 – 4 дня - 28 – 44 г/л, Дети от 14 дней до 14 лет - 38 – 54 г/л, Взрослые - 35 – 50 г/л, Свыше 60 лет - 34 – 48 г/л

Глобулины (расчетный показатель)

Принцип метода: Показатель вычисляется как: Глобулины (г/л) = общий белок (г/л) – альбумин (г/л). Глобулины представлены пятью типами (Медведев В.В., Волчек Ю.З., 1995).

Диагностические характеристики:

Повышение глобулинов наблюдается при заболеваниях печени: вирусный гепатит, цирроз печени, билиарный цирроз, при системной красной волчанке, гемохроматозе, плазмоклеточной миеломе, саркоидозе, острых и хронических инфекциях. Понижение глобулинов в крови отмечается при низкокалорийном питании, лимфолейкозе, врожденном или приобретенном иммунодефиците.

Нормальные значения для человека: 20-36 г/л

Альбумин-глобулиновый коэффициент (расчетный показатель)

Принцип метода: Показатель вычисляется как: Альбумин-глобулиновый коэффициент = содержание альбумина (г/л)/содержание глобулина (г/л) (Медведев В.В., Волчек Ю.З., 1995).

Диагностические характеристики: Снижение показателя наблюдается при хронических гепатитах и циррозах печени, острых и хронических воспалительных заболеваниях, при миеломной болезни, висцеральном лейшманиозе, коллагеновых болезнях, при некоторых поражениях кроветворных органов.

Повышение показателя, как правило, связано с относительной гиперальбуминемией и наблюдается при массивных потерях жидкости при ожоговой болезни, генерализованном перитоните, кишечной непроходимости,

профузном поносе, несахарном диабете, хроническом нефрите и пр.

Нормальные значения для человека: 1,5 – 3,5

Холестерин

Ферментативный метод

Принцип метода: Свободный и этерифицированный холестерин образца образует в результате сопряженных реакций, описанных ниже, цветной комплекс, который может быть измерен спектрофотометрически. Интенсивность окраски реакционной среды пропорциональна содержанию холестерина в исследуемом материале и определяется фотометрически при длине волны **490-520** нм (Allain C.C. et al., 1974; Meiattini F. et al., 1978).

холинэстераза

Эфиры холестерина + H₂O-----> Холестерин + Жирные кислоты

холиноксидаза

Холестерин + S O₂ + H₂O-----> Холестенон + H₂O₂

пероксидаза

2 H₂O₂ + 4-Аминоантипирин + Фенол -----> Гуаноимин + 4 H₂O

Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 0,9 мг/дл = 0,023 ммоль/л

Предел линейности: 1000 мг/дл = 26 ммоль/л.

Сходимость (внутри серии)

Средняя концентрация

	CV	n
142 мг/дл=3.68 ммоль/л	1.9%	20
242 мг/дл=6.27 ммоль/л	1.5%	20

Воспроизводимость (между сериями)

Средняя концентрация

	CV	n
142 мг/дл=3.68 ммоль/л	3.1%	25
242 мг/дл=6.27 ммоль/л	3.5%	25

Диагностические характеристики: Холестерин – стероид с высокой молекулярной массой и циклопентанофенантроновым скелетом. Холестерин пищи частично абсорбируется, также холестерин синтезируется печенью и другими тканями. Холестерин транспортируется в плазму липопротеинами. Холестерин экскретируется неизмененным в желчь или после трансформации в желчные

кислоты.

Повышенные значения общего холестерина связаны с постепенно возрастающим риском атеросклероза и заболеваниями коронарных артерий (Friedman and Young, 1997; Tietz NW., 1991).

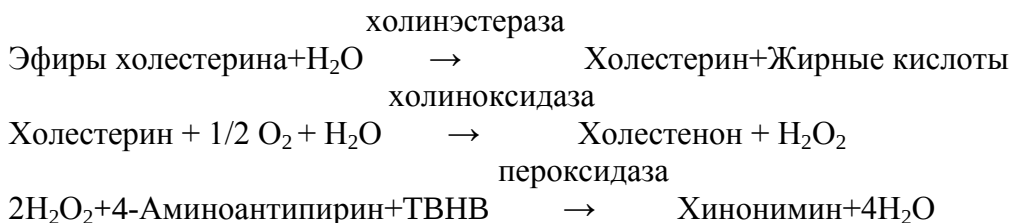
Пониженные значения общего холестерина характеризуют снижение синтетической функции печени.

Нормальные значения для человека: До 200 мг/дл=5.2 ммоль/л – допустимые значения, 200-239 мг/дл=5.2-6.21 ммоль/л – пограничные значения, >240мг/дл=6.24 ммоль/л – высокие значения.

Холестерин липопротеинов высокой плотности (Холестерин ЛПВП, HDL)

Принцип метода:

Совместное действие полимера и детергента переводит холестерин из липопотеидов высокой плотности (но не из липопотеидов низкой плотности, очень низкой плотности и хиломикронов) образца в растворенное состояние. Затем HDL Холестерин измеряют спектрофотометрически при **600 нм**, ферментативным методом с участием сопряженных реакций, описанных ниже (Warnick G.R. et al., 2001).



Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 1,8 мг/дл = 0,05ммоль/л.

Предел линейности: 150 мг/дл = 3.9 ммоль/л.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация

	CV	n
34 мг/дл=0.89 ммоль/л	1.3%	20
51 мг/дл=1.32 ммоль/л	1.2%	20

Воспроизводимость (от серии к серии):

Средняя концентрация

	CV	n
34 мг/дл=0.89 ммоль/л	9.4 %	25
51 мг/дл=1.32 ммоль/л	4.8 %	25

Интерференция: Гемоглобин (10 г/л) не влияет на результаты. Липемия (триглицериды 7.2 г/л) и билирубин (20 мг/дл) могут влиять на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут исказить результат (Tietz N.W., 1991).

Диагностические характеристики:

Липопротеины высокой плотности играют важную роль в удалении холестерина из тканей и его транспортировке в печень для выведения в качестве желчных кислот.

Пониженные концентрации HDL-холестерина в плазме прямо коррелируют с заболеваемостью атеросклерозом, инфарктами миокарда и цереброваскулярными нарушениями (Tietz N.W., 1991, Young D.S., 1995).

Существует несколько болезненных состояний, а также внешних факторов, связанных с уменьшением уровня HDL: острые или хронические гепатоцеллюлярные заболевания, внутривенное введение питательных веществ сверх нормы, острое нарушение питания, диабеты, хроническая анемия, миелопролиферативные заболевания, болезнь Танжье, аполипопротеинемия, острый стресс, некоторые лекарства и курение (Tietz N.W., 1991, Young D.S., 1995).

Нормальные значения для человека:

Возраст (годы)	мг/дл		ммоль/л	
	мужчины	женщины	мужчины	женщины
0-14	30-65	30-65	0,78-1,68	0,78-1,68
15-19	30-65	30-70	0,78-1,68	0,78-1,81
20-29	30-70	30-75	0,78-1,81	0,78-1,94
30-39	30-70	30-80	0,78-1,81	0,78-2,07
40 и более	30-70	30-85	0,78-1,81	0,78-2,20

Холестерин липопротеинов низкой плотности (расчетный показатель) (Холестерин ЛПНП, HLL)

Принцип метода: Показатель вычисляется как: ХС ЛПНП (ммоль/л) = Общий холестерин (ммоль/л) - (холестерин ЛПВП (ммоль/л) + ТГ (ммоль/л)/2,2) (Маршалл Дж., 1999). Эту формулу нельзя использовать если концентрация триглицеридов превышает 4,5 ммоль/л.

Диагностические характеристики:

Причины повышения уровня ЛПНП: алиментарные причины – неправильное питание, сахарный диабет, артериальная гипертензия, заболевания печени, гипотиреоз, наследственное нарушение обмена липидов - гиперлипидопропротеинемия II

типа.

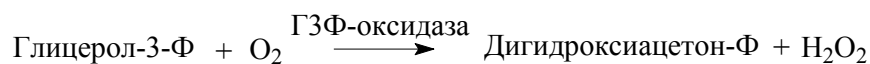
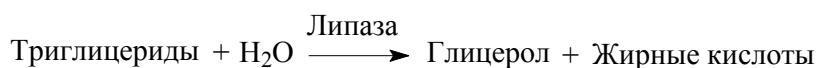
Нормальные значения для человека:

Возраст (годы)	Норма ЛПНП в крови			
	мг/дл		ммоль/л	
	Мужчины	Женщины	Мужчины	Женщины
0-19	60-140	60-150	1,55-3,63	1,55-3,89
20-29	60-175	60-150	1,55-4,53	1,55-4,14
29-39	80-190	70-170	2,07-4,92	1,81-4,40
40-49	90-205	80-190	2,33-5,31	2,07-4,92
50-59	90-205	90-220	2,33-5,31	2,33-5,70
60-69	90-215	100-235	2,33-5,57	2,59-6,09
70 и более	90-190	90-215	2,33-4,92	2,46-5,57

Триглицериды

Ферментативный метод

Принцип метода: Липаза катализирует гидролиз липидов до глицерина и жирных кислот. Глицерин запускает ряд сопряженных ферментативных реакций с участием ферментов глицерокиназы в присутствии АТФ (аденозинтрифосфат – АТР; аденозиндифосфат - ADP) и глицеролфосфатоксидазы. Образующийся в результате сопряженных реакций, описанных ниже, цветной комплекс, может быть измерен спектрофотометрически при **365** или **405** нм. Интенсивность окраски реакционной среды пропорциональна содержанию триглицеридов в исследуемом материале (Bucolo G., David H., 1973; Fossati P. Prencipe L., 1982).



Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 4.4 мг/дл = 0.05 ммоль/л.

Предел линейности: 600 мг/дл = 6.78 ммоль/л.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация

	CV	n
44 мг/дл=0.50 ммоль/л	2.8%	20
207 мг/дл=2.34 ммоль/л	1.6%	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация

	CV	n
44 мг/дл=0.50 ммоль/л	2.9%	25
207 мг/дл=2.34 ммоль/л	2.7 %	25

Диагностические характеристики: Триглицериды – эфиры глицерола и жирных кислот, поступающие с пищей или синтезированные в печени. Триглицериды транспортируются в плазму липопротеинами и используются в жировой ткани, мышцах и т.д. Главная функция триглицеридов – обеспечение энергией клетки.

Повышение уровней триглицеридов в сыворотке может быть вызвано заболеваниями печени, сахарным диабетом, нефрозом, гипотирозом, алкоголизмом, семейной гиперлипо-протеинемией IV и V и т. д. (Friedman and Young, 1997; Tietz NW., 1991).

Нормальные значения для человека: до 150 мг/дл = 1,7 ммоль/л – нормальные значения, 150-199 мг/дл=1,70-2,25 ммоль/л – пограничные значения, 200-499 мг/дл=2,26-5,64 ммоль/л – высокие значения, >500 мг/дл = >5.65 ммоль/л – очень высокие значения.

Общие липиды

Колориметрический метод

Принцип метода: Общие липиды реагируют с фосфованилином в присутствии раствора серной кислоты, формируя окрашенный комплекс. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации в пробе при длине волны **520** нм (Kaplan A et al., 1984; Cottet M.J. et al., 1965).

Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 7.7 мг/дл=0.077 г/л

Предел линейности: 1500 мг/дл = 15 г/л.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация

	CV	n
555	2,87%	20
919	0,70%	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация

	CV	n
553	1.78%	20
919	0,63	20

Чувствительность: 1 мг/дл = 0.00066A

Диагностические характеристики: Липиды – это органические вещества, наиболее важная функция которых – источник энергии. Они имеют исключительный потенциал, подкрепляемый возможностью сохранения в значительных количествах как жировая прослойка. Другие функции: они входят в состав биологических мембран, формируют защитные жировые структуры внутренних органов, обеспечивают важные компоненты в образовании различных гормонов. Значительный интерес в исследованиях уделяется выявлению зависимости между повышением этих веществ и гиперлипидемией и атеросклерозом, диабетом и сердечнососудистыми заболеваниями (Burtis A et al., 1999; Tietz N W et al., 1995).

Нормальные значения для человека: 450 – 800 мг/дл или 4,5–8,0 г/л

Глюкоза

Глюкозооксидазный метод

Принцип метода: Глюкоза в пробе с помощью описанных ниже последовательных реакций образует цветной комплекс, который может быть измерен спектрофотометрически на длине волны **505** нм (Trinder P., 1969).

Глюкозооксидаза

Глюкоза + 1/2 O₂ + H₂O -----> Глюконат + H₂O₂

Пероксидаза

2H₂O₂ + 4-аминоантипирин + Фенол -----> 4-Хинонимин + H₂O

Метрологические характеристики

Предел обнаружения: 1.6 мг/дл = 0,08 ммоль/л глюкозы

Предел линейности: 500 мг/дл = 27,5 ммоль/л глюкозы.

Сходимость (внутри серии)

Средняя концентрация

	CV	n
84 мг/дл=4.66 ммоль/л	1.3%	20
260 мг/дл=14.43 ммоль/л	1.5%	20

Воспроизводимость (между сериями)

Средняя концентрация

	CV	n
84 мг/дл=4.66 ммоль/л	1.2%	25
260 мг/дл=14.43 ммоль/л	1.4%	25

Диагностические характеристики: Глюкоза является важнейшим источником энергии в организме. Инсулин, продуцируемый островковыми клетками поджелудочной железы, облегчает вхождение глюкозы в клетки тканей. Дефицит инсулина или уменьшение его активности вызывает повышение уровня глюкозы в крови. Увеличение концентрации глюкозы в сыворотке крови или в плазме выявляется при сахарном диабете (инсулинзависимом, инсулиннезависимом) и других заболеваниях и синдромах (National Diabetes Data Group, 1979; Tietz NW., 1991).

Гипогликемия может возникать натощак, быть обусловлена приемом лекарственных средств, ядовитых веществ, врожденными дефектами метаболизма и предшествующей гастрэктомией (Friedman and Young, 1997; Tietz NW., 1991).

Нормальные значения для человека: 25-80 мг/дл, 1.39 – 4.44 ммоль/л - новорожденные, недоношенные, 30 – 90 мг/дл, 1,67 – 5,00 ммоль/л - новорожденные, доношенные, 70 – 105 мг/дл, 3,89 – 5,83 ммоль/л дети, взрослые

Калий

Турбодиметрический метод без депротеинизации

Ольвекс Диагностикум

Принцип метода: В результате реакции между ионами калия и тетрафенилбората образуется стабильная суспензия. Мутность суспензии пропорциональна концентрации калия на длине волны 590 нм.

Метрологические характеристики:

Линейность 10 ммоль/л,

Коэффициент вариации не более 7%,

Чувствительность 1 ммоль/л.

Диагностические характеристики:

Гипокалиемия

Дефицит калия наблюдается при нарушении равновесия между поступлением иона с пищей и его выделением.

Гипокалиемия может быть обусловлена внепочечными или почечными причинами.

Внепочечные причины: недостаток в пище и потери через ЖКТ, перераспределение калия

Почечные причины: 1. лекарственно-обусловленные почечные потери (диуретики, пенициллины, гентамицин, амфотерицин В, теофиллин и др.). 2. гормонально индуцированные почечные потери (первичный гиперальдостеронизм, первичные аденомы надпочечников, и пр.). 3. первичные нарушения почечных канальцев

Гиперкалиемия может наблюдаться вследствие: прекращения выделения калия с мочой, наблюдаемое при почечной недостаточности, которая обусловлена преренальными и ренальными причинами, недостаточности коры надпочечников. Гиперкалиемия сопутствует повышенному распаду клеток, особенно при разрушении эритроцитов, быстром введении больших доз калия внутривенно без соответствующего энергетического обеспечения, введении раствора калия на фоне сниженной функции почек.

Нормальные значения для человека: сыворотка 3,6 – 5,5 ммоль/л, плазма 4,0 – 4,8 ммоль/л, новорожденные - 3,7 - 5,9 ммоль/л, дети грудного возраста - 4,1 – 5,3 ммоль/л, дети - 3,4 – 4,7 ммоль/л, взрослые - 3,5 - 5,0 ммоль/л.

Натрий

Ферментативно-колориметрический метод

Витал

Принцип метода: Концентрации натрия определяется энзиматическим псевдо-кинетическим методом (для автоматических анализаторов). Ион натрия активирует Na-зависимую β-галактозидазу. Активированный фермент расщепляет ONPG (о-нитрофенил-β-D-галактопиранозид) до галактозы и окрашенного о-нитрофенола. Скорость расщепления ONPG пропорциональна концентрации натрия в пробе. Измерение концентрации натрия проводится псевдокинетическим двухточечным методом по увеличению оптической плотности при длине волны **420 нм**.

Метрологические характеристики:

Линейность отклонение не более 7 % в диапазоне концентраций 110 – 160 ммоль/л

Чувствительность не более 100 ммоль/л

Коэффициент вариации не более 7 %

Диагностические характеристики: Аномально низкую концентрацию натрия в крови необходимо исследовать во взаимосвязи с осмолярностью плазмы крови и объёмом внеклеточной жидкости пациента. В большинстве случаев гипонатриемия связана со снижением осмолярности плазмы крови. Подавляющее большинство случаев гипонатриемии у взрослых связано с повышенной активностью АДГ (антидиуретического гормона). Также гипонатриемия сопровождается периферические отёки (например, при циррозе печени или пороке сердца) и прием диуретиков.

Гипернатриемия может наблюдаться при избыточном поступлении натрия в организм, при почечной недостаточности (например, в результате гломерулонефрита, нефронекроза). При гиперсекреции ренина. При повышенном образовании ангиотензина, альдостеронизме.

Нормальные значения для человека: 136-145 ммоль/л

Кальций

Принцип метода: Кальций образца реагирует с арсеназо III, образуя окрашенный комплекс, который может быть измерен спектрофотометрически при 635 нм (Michaylova V., Illkova P., 1971).

Метрологические характеристики:

Предел обнаружения: 0.26 мг/дл кальция = 0.06 ммоль/л кальция.

Предел линейности: 18 мг/дл кальция = 4.5 ммоль/л кальция.

Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация

	CV	n
8.90 мг/дл=2.22 ммоль/л	0.9%	20
13.29 мг/дл=3.32ммоль/л	1.1%	20

Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация

	CV	n
8.90 мг/дл=2.22 ммоль/л	2.2 %	25
13.29 мг/дл=3.32ммоль/л	2.2 %	25

Интерференция: Билирубин (< 20 мг/дл) не влияет на результаты. Липемия (10 г/л) и гемолиз (гемоглобин 2.5 г/л) влияют на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут влиять на результат (Young D.S., 1997).

Диагностические характеристики:

Кальций является наиболее широко распространенным катионом организма, распределенным между костями (99%), мягкими тканями и внеклеточной жидкостью. Его концентрация в плазме регулируется паратиреоидным гормоном, витамином D и кальцитонином.

Ион кальция играет важную роль при передаче нервного импульса, поддержании нормальной сократимости мышц, свертываемости крови, а также является кофактором в определенных ферментативных реакциях.

Гиперкальцемию может быть обусловлена интоксикацией витамином D, повышенной почечной задержкой, остеопорозом, саркоидозом, тиротоксикозом, гиперпаратиреозом, множественной миеломой, идиопатической гиперкальцемией у младенцев, и метастазами карциномы в костной ткани (Friedman and Young, 1997; Tietz NW., 1994).

Повышенные уровни кальция в моче найдены при почечнокаменной болезни и метаболическом ацидозе (Friedman and Young, 1997; Tietz NW., 1994).

Гипокальцемию может быть вызвана первичным и вторичным гипопаратиреозом, псевдо-гипопаратиреозом, дефицитом витамина D, нарушением питания, и кишечной мальабсорбцией (Friedman and Young, 1997; Tietz NW., 1994).

Нормальные значения для человека: Сыворотка и плазма: 8,6 - 10,3 мг/дл = 2,15 - 2,58 ммоль/л, моча: 100 - 300 мг/24 ч = 2,5 - 7,5 ммоль/24 ч

Нормальные значения биохимических показателей

Таблица 34 - Нормальные значения биохимических показателей у человека

Показатель	Ед. измерения	Мужчины	Женщины
Аланинаминотрансфераза	Ед/л= мкКат/л	До 41 = 0,68 До 65 = 1,08	
Аспартатаминотрансфераза	Ед/л= мкКат/л	До 40 = 0,67 До 50 = 0,83	
Лактатдегидрогеназа	Ед/л= мкКат/л	207-414 = 3,40-6,80	
Креатинкиназа	Ед/л= нКат/л	38-174 = 633-2900	26-140 = 433-2334
Билирубин общий	мг/дл= мкмоль/л	до 1,1 = до 18, 8	

Щелочная фосфатаза	Ед/л	115 - 270	105 - 240
Креатинин	мг/дл= мкмоль/л	0,9-1,3 = 80-115	0,6-1,1 = 53-97
Мочевина	мг/дл= ммоль/л	15-39 = 2,5-6,5	
Общий белок	г/л	64-83	
Альбумин	г/л	35 – 50	
Глобулины	г/л	20-36	
Альбумин - глобулиновый коэффициент		1,5 – 3,5	
Холестерин	мг/дл= ммоль/л	до 200 = до 5,2	
Холестерин липопротеинов высокой плотности	мг/дл= ммоль/л	30-70 = 0,78–1,81	30-80 = 0,78 – 2,07
Холестерин липопротеинов низкой плотности	мг/дл= ммоль/л	60-190 = 1,55-4,92	60-215 = 1,55-5,57
Триглицериды	мг/дл= ммоль/л	до 150 = до 1,7	
Общие липиды	мг/дл= г/л	450 – 800 = 4,5–8,0	
Глюкоза	мг/дл= ммоль/л	70 – 105 = 3,89 – 5,83	
Калий	ммоль/л	3,6 – 5,5	
Натрий	ммоль/л	136 - 145	
Кальций	мг/дл= ммоль/л	8,6 - 10,3 = 2,15 – 2,58	

Таблица 35 - Биохимические показатели беспородных мышей (M±m)

Показатель	Ед. измерения	N	Самцы	N	Самки
Аланинаминотрансфераза	Е/л	75	51±1	69	49±2,7
Аспартатаминотрансфераза	Е/л	73	111±3	60	117±7
Лактатдегидрогеназа	Е/л	57	656±38	50	733±44
Билирубин общий	мг/дл	61	3,9±0,2	60	4,1±0,2
Щелочная фосфатаза	Е/л	81	115±6	87	117±11
Креатинин	мг/дл	54	0,28±0,02	91	0,26±0,05
Мочевина	ммоль/л	70	7,4±0,2	54	6,1±0,3
Общий белок	г/л	84	57±0,8	56	55±1,0
Альбумин	г/л	73	19±0,6	53	24±1,1
Глобулины	г/л	74	39±0,8	52	32±1,3
Альбумин - глобулиновый коэффициент	-	74	0,50±0,02	62	0,82±0,06
Холестерин общий	ммоль/л	45	2,7±0,1	78	2,2±0,1
Триглицериды	ммоль/л	44	1,3±0,05	62	1,1±0,07
Общие липиды	г/л	55	1,4±0,05	52	1,5±0,04
Глюкоза	ммоль/л	250	4,7±0,3	214	4,6±0,4
Калий	ммоль/л	74	6,9±0,2	60	7,1±0,3
Натрий	ммоль/л	74	133±7	60	131±4

По сравнению с нормальными значениями, установленными для человека, у мышей ряд показателей несколько отличаются. Так, активность аспартатаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы у мышей выше примерно в 2 раза, чем нормальные значения для человека. Уровень общего белка и альбуминов несколько снижен, и, как следствие снижен альбумин-глобулиновый коэффициент.

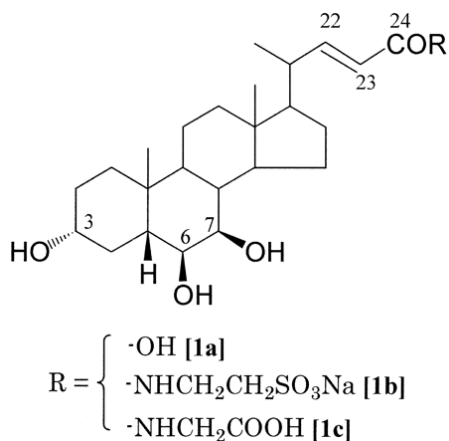
Уровень общих липидов у мышей снижен примерно в 3 раза, а уровень калия несколько повышен. Причины таких отличий требуют отдельного изучения, однако их необходимо учитывать при проведении исследований с использованием беспородных мышей.

Таблица 36 - Биохимические показатели беспородных крыс (M±m)

Показатель	Ед. измерения	N	Самцы	N	Самки
Аланинаминотрансфераза	Е/л	286	70±1	142	56±1
Аспартатаминотрансфераза	Е/л	262	58±3	87	40±2
Лактатдегидрогеназа	Е/л	111	435±102	98	476±54
Креатинкиназа	Е/л	88	191±29	85	115±36
Билирубин общий	мг/дл	216	1,7±0,10	114	3,2±0,09
Щелочная фосфатаза	Е/л	227	332±10	118	327±20
Креатинин	мг/дл	259	0,49±0,01	129	0,47±0,01
Мочевина	ммоль/л	292	7,1±0,10	134	8,3±0,14
Общий белок	г/л	298	69±0,6	160	69±0,7
Альбумин	г/л	287	29±0,4	163	30±0,4
Глобулины	г/л	287	41±0,5	165	39±0,6
Альбумин - глобулиновый коэффициент	-	287	0,63±0,01	163	0,62±0,01
Холестерин общий	ммоль/л	313	1,8±0,03	152	1,9±0,04
Холестерин липопротеинов высокой плотности	ммоль/л	110	0,74±0,02	115	0,84±0,06
Холестерин липопротеинов низкой плотности	ммоль/л	103	0,52±0,04	115	0,69±0,12
Триглицериды	ммоль/л	255	0,94±0,02	111	0,89±0,03
Общие липиды	г/л	255	1,5±0,04	111	1,5±0,04
Глюкоза	ммоль/л	249	4,4±0,3	214	4,2±0,4
Калий	ммоль/л	80	1,9±0,2	85	1,9±0,3
Натрий	ммоль/л	78	134±2	73	134±6
Кальций	ммоль/л	78	2,6±0,1	73	2,6±0,2

У крыс активность щелочной фосфатазы повышена в 1,2 раза, по сравнению с нормальными значениями для человека. Снижен уровень калия, а уровень мочевины – повышен. Уровень альбуминов несколько снижен, а уровень глобулинов незначительно повышен, в результате чего альбумин-глобулиновый коэффициент снижен.

Все показатели липидного обмена в крови крыс ниже, чем у человека. У этих животных вырабатывается особая желчная кислота, которая у людей отсутствует. Это α и β -мурихолевая кислота (Thomas J.N. et al., 1984; Луценко М.Т., 2006).



Структура β-мурихоловой кислоты

Считают, что именно благодаря ей крысы обладают способностью к быстрому выведению холестерина из организма (Луценко М.Т., 2006, Stehbens W.E., 1986 Thomas J.N. et al., 1984). Данные различия проявляются в том, что крысы очень устойчивы к изменениям уровня сывороточного холестерина, а люди нет. Кроме того, эти животные почти не подвержены образованию бляшек в артериях в результате потребления пищи богатой холестерином (Stehbens W.E., 1986). 7α-гидроксилаза имеет высокую активность у крыс, поэтому в их желчи холевой кислоты почти нет, а с желчью выводится дезоксихолевая кислота. У человека этот фермент менее активен и дезоксихолевая кислота интенсивнее преобразуется в холевую, поэтому у человека в желчи много холевой кислоты (Луценко М.Т., 2006).

Мы провели исследование некоторых показателей интактных крыс двух линий Wistar и SHR, с учетом их возраста и пола, изучение динамики этих показателей во времени (Абрашова Т.В. и др., 2010, Соколова А.П. и др., 2010).

Самой распространенной линией лабораторных крыс является линия Wistar. Линия животных получена компанией Scientific Products Farm Ltd., (предшественник компании Charles River United Kingdom [CR.UK]) из Института Вистар в 1947 году. В 1975 году сток передан из CRUK в Питомник CRL, США. Ядро колонии, существующей в настоящее время, получено в 1975 году редеривацией посредством кесарева сечения. Основные области использования: тератология, проблемы питания, проблемы старения, онкология.

Как видно из представленных в таблице 37 данных, биохимические показатели у самцов в большинстве своем относительно стабильны в различных

возрастных группах. Наблюдается некоторая тенденция увеличения АСТ в допустимых пределах, что также отмечается в литературных источниках (Малинин М.Л. и др., 2008). Повышается общий белок за счет увеличения фракции альбуминов. Однако с 6-ти месяцев эти показатели стабилизируются. Если сравнить показатели белкового обмена в одной возрастной группе (от 3 до 5 месяцев) у самцов и самок, то можно отметить более высокий уровень общего белка и глобулинов у самок, что может быть подтверждено данными других исследователей (Кигель Т.Б. и др., 1981). У молодых животных наблюдается низкий уровень альбуминов - как у самцов, так и у самок. Остаются практически без изменений в ходе онтогенеза показатели липидного спектра, мочевины, калий и натрий.

Таблица 37 - Биохимические показатели крови у крыс линии Wistar

Показатель	Ед. измерения	Самцы						Самки	
		3-5 мес.	N	6-8 мес.	N	18-24 мес.	N	3-5 мес.	N
Аланинаминотрансфераза	Ед/л	63±1	20	68±1	36	66±3	25	58±2	15
Аспартатаминотрансфераза	Ед/л	45±3	40	79±2	32	84±5	25	42±3	15
Лактатдегидрогеназа	Ед/л	405±11	21	358±9	32	563±23	25	468±18	15
Билирубин общий	мг/дл	0,9±0,02	21	0,9±0,01	32	0,8±0,01	25	1,0±0,02	15
Мочевина	ммоль/л	7,3±0,3	20	6,9±0,2	32	6,3±0,5	15	8,1±0,6	15
Общий белок	г/л	68±2	20	70±1	35	76±3	35	84±1	55
Альбумин	г/л	29±1	20	35±3	35	40±1	35	28±1	55
Глобулины	г/л	39±2	20	29±2	35	26±2	35	57±1	55
Альбумин-глобулиновый коэффициент	-	0,8±0,1	20	1,2±0,2	35	1,5±0,1	35	0,5±0,02	55
Холестерин общий	ммоль/л	1,9± 0,08	20	1,8±0,08	30	2,1±0,11	25	2,5±0,12	30
Триглицериды	ммоль/л	0,9±0,06	20	0,9±0,09	30	1,5±0,10	25	1,3±0,21	30
Калий	ммоль/л	5,9±0,2	10	5,9±0,1	20	5,6±0,2	15	4,8±0,6	30
Натрий	ммоль/л	126±2	10	124±1	20	122±1	15	126±3	30

Интересной для исследования является линия SHR (Spontaneously Hypertensive Rat). Эта линия выведена д-ром Окамото в Медицинской школе г. Киото в 1963 из аутбредных крыс Wistar-Kyoto путем скрещивания самцов, имеющих сильно повышенное кровяное давление с самками, имеющими слегка повышенное кровяное давление. Последовавшее за этим братско-сестринское скрещивание, сопровождалось непрерывной селекцией на спонтанную гипертензию. Основные области использования: исследования гипертонической болезни, заболеваний сердечно-сосудистой системы.

При исследовании белкового обмена в сыворотке крови у крыс линии SHR (табл. 38) было установлено, что с возрастом повышается концентрация общего белка за счет фракции глобулинов, в противоположность крысам линии Wistar. С возрастом наблюдалось снижение мочевины примерно в 2 раза, подобная тенденция была показана и в работе И.М. Трахтенберга (1991) на 3 и 12-месячных беспородных крысах. Это необходимо учитывать при планировании исследований педиатрических и гериатрических препаратов.

Значения аспаратаминотрансферазы были выше нормы уже с 2,5-3 месячного возраста, у годовалых животных были выше начальных в 2 раза. Эти изменения хорошо согласуются с характерной для этой линии патологией. К возрасту 4-6 месяцев у этой линии формируется высокое артериальное давление (АДс=160-180 мм. рт. ст.), при этом отмечается выраженная нагрузка на сердечную мышцу. Со временем происходит гипертрофия и дилатация левого желудочка, что сопровождается повышенным выходом в кровяное русло фермента аспаратаминотрансферазы из поврежденных участков органа (Карпищенко А.И., 2002, Snoeckx L.H. et al., 1986). Одновременно прослеживалась тенденция к снижению калия (Hubert F., 1989). Так как длительно текущая гипертензия сопровождается гиперальдостеронизмом, такую динамику можно объяснить влиянием альдостерона на выведение калия, в результате чего возникает дистрофия сердечной мышцы и, как следствие, перерастяжение и дилатация левого желудочка. Это в свою очередь вызывает застойные явления в большом и малом кругах кровообращения. В результате этого формируется портальный застой, сопровождающийся патологией функции печени со снижением мочевины, что вполне укладывается в порочный круг развития гипертензии у данной линии крыс.

Таблица 38 - Биохимические показатели у крыс-самцов линии SHR

Показатель	Ед. измерения	N	1,5-2 мес.	2,5-3 мес.	4-6 мес.	5-7 мес.	10-12 мес.	11-13 мес.
	Возраст, мес.							
Аланинаминотрансфераза	Ед/л	42	54±3	66±3	58±2	60±2	59±3	65±2
Аспаргатаминотрансфераза	Ед/л	42	103±22	184±10	188±16	194±6	158±11	227±9
Лактатдегидрогеназа	Ед/л	42	345±13	402±7	367±12	326±19	364±15	408±18
Билирубин общий	мг/дл	42	1,0±0,03	0,09±0,03	0,9±0,02	1,0±0,02	0,8±0,03	0,8±0,01
Мочевина	ммоль/л	36	10±0,6	8,4±0,4	6,8±0,5	4,7±0,2	5,6±0,3	5,7±0,2
Общий белок	г/л	36	62±1	67±2	74±2	73±1	81±1	78±1
Альбумин	г/л	42	32±0,6	30±1	32±0,8	31±0,9	32±0,6	31±0,6
Глобулины	г/л	45	30±1,5	37±1,7	42±2	43±1	51±1	47±1
Альбумин-глобулиновый коэффициент	-	45	1,1±0,10	0,8±0,05	0,8±0,06	0,7±0,04	0,6±0,02	0,65±0,02
Холестерин общий	ммоль/л	45	1,9±0,10	1,6±0,07	1,4±0,1	1,5±0,2	1,7±0,2	1,3±0,08
Триглицериды	ммоль/л	36	0,5±0,04	0,9±0,04	0,6±0,03	0,7±0,03	1,0±0,05	0,7±0,06
Калий	ммоль/л	36	3,0±0,2	1,1±0,3	1,1±0,3	1,3±0,1	1,3±0,1	6,6±0,2
Натрий	ммоль/л	36	134±2	129±3	131±2	129±2	128±2	128±2

Таблица 39 - Биохимические показатели беспородных морских свинок ($M \pm m$)

Показатель	Ед. измерения	N	Самцы	N	Самки
Аланинаминотрансфераза	Е/л	14	50 $\pm$ 3	14	62 $\pm$ 4
Аспаратаминотрансфераза	Е/л	14	59 $\pm$ 6	14	61 $\pm$ 7
Лактатдегидрогеназа	Е/л	10	411 $\pm$ 45	11	420 $\pm$ 50
Билирубин общий	мг/дл	15	0,24 $\pm$ 0,07	14	0,28 $\pm$ 0,10
Щелочная фосфатаза	Е/л	15	110 $\pm$ 9	15	147 $\pm$ 17
Креатинин	мг/дл	14	0,50 $\pm$ 0,04	15	0,46 $\pm$ 0,07
Мочевина	ммоль/л	14	6,1 $\pm$ 0,6	14	6,1 $\pm$ 0,6
Общий белок	г/л	15	61 $\pm$ 1,9	15	69 $\pm$ 2,2
Альбумин	г/л	14	31 $\pm$ 0,6	15	30 $\pm$ 0,8
Глобулины	г/л	14	29 $\pm$ 1,0	15	29 $\pm$ 1,5
Альбумин - глобулиновый коэффициент	-	14	0,73 $\pm$ 0,03	15	0,72 $\pm$ 0,02
Холестерин общий	ммоль/л	14	1,3 $\pm$ 0,1	15	1,7 $\pm$ 0,3
Триглицериды	ммоль/л	15	0,99 $\pm$ 0,13	15	1,06 $\pm$ 0,11
Общие липиды	г/л	25	1,5 $\pm$ 0,05	22	1,5 $\pm$ 0,04
Глюкоза	ммоль/л	16	4,1 $\pm$ 0,6	18	3,9 $\pm$ 0,5
Калий	ммоль/л	11	5,0 $\pm$ 0,3	10	5,9 $\pm$ 0,3
Натрий	ммоль/л	12	131 $\pm$ 3	10	134 $\pm$ 2

У морских свинок в сравнении с нормальными значениями для человека обнаружено сниженное значение креатинина. Остальные значения не отличаются.

Таблица 40 - Биохимические показатели джунгарских хомяков ($M \pm m$)

Показатель	Ед. измерения	N	Самцы	N	Самки
Аланинаминотрансфераза	Е/л	12	114 $\pm$ 9	14	123 $\pm$ 7
Аспаратаминотрансфераза	Е/л	12	38 $\pm$ 4	14	42 $\pm$ 2
Лактатдегидрогеназа	Е/л	12	211 $\pm$ 33	14	222 $\pm$ 26
Билирубин общий	мг/дл	12	0,30 $\pm$ 0,05	14	0,14 $\pm$ 0,05
Щелочная фосфатаза	Е/л	12	24 $\pm$ 5	14	18 $\pm$ 4
Креатинин	мг/дл	12	0,80 $\pm$ 0,05	14	0,60 $\pm$ 0,04
Мочевина	ммоль/л	12	5,8 $\pm$ 0,4	14	5,4 $\pm$ 0,3
Общий белок	г/л	11	64 $\pm$ 1,7	14	61 $\pm$ 1,8
Альбумин	г/л	11	28 $\pm$ 0,5	20	29 $\pm$ 0,7
Глобулины	г/л	11	35 $\pm$ 1,3	20	32 $\pm$ 1,4
Альбумин - глобулиновый коэффициент	-	11	0,79 $\pm$ 0,04	20	0,90 $\pm$ 0,04
Холестерин общий	ммоль/л	15	1,3 $\pm$ 0,2	20	1,2 $\pm$ 0,2
Триглицериды	ммоль/л	15	1,12 $\pm$ 0,14	20	1,09 $\pm$ 0,20
Общие липиды	г/л	15	1,7 $\pm$ 0,08	20	1,9 $\pm$ 0,06
Глюкоза	ммоль/л	23	3,1 $\pm$ 0,4	20	3,0 $\pm$ 0,3
Калий	ммоль/л	15	3,8 $\pm$ 0,2	14	3,7 $\pm$ 0,2
Натрий	ммоль/л	15	141 $\pm$ 6	14	140 $\pm$ 8

У хомяков также как и у мышей по сравнению с нормальными значениями у человека несколько повышена активность аспартатаминотрансферазы и снижена активность щелочной фосфатазы, снижены уровень креатинина, альбуминов и общих липидов.

Таблица 41 - Биохимические показатели кроликов породы Советская шиншилла ($M \pm m$)

Показатель	Ед. измерения	N	Самцы	N	Самки
Аланинаминотрансфераза	Е/л	35	49 $\pm$ 7	26	56 $\pm$ 3
Аспартатаминотрансфераза	Е/л	35	30 $\pm$ 5	29	19 $\pm$ 1
Лактатдегидрогеназа	Е/л	35	234 $\pm$ 21	29	211 $\pm$ 20
Билирубин общий	мг/дл	29	1,1 $\pm$ 0,13	29	0,2 $\pm$ 0,02
Щелочная фосфатаза	Е/л	35	45 $\pm$ 4	29	50 $\pm$ 3
Креатинин	мг/дл	35	1,1 $\pm$ 0,05	29	1,4 $\pm$ 0,03
Мочевина	ммоль/л	35	10 $\pm$ 0,5	29	8 $\pm$ 0,2
Общий белок	г/л	35	63 $\pm$ 1	29	62 $\pm$ 1
Альбумин	г/л	35	41 $\pm$ 1	29	42 $\pm$ 1
Глобулины	г/л	35	23 $\pm$ 1	29	20 $\pm$ 1
Альбумин - глобулиновый коэффициент	-	35	1,9 $\pm$ 0,1	29	2,2 $\pm$ 0,1
Холестерин общий	ммоль/л	29	2,6 $\pm$ 0,1	23	3,0 $\pm$ 0,1
Триглицериды	ммоль/л	32	1,1 $\pm$ 0,05	26	1,2 $\pm$ 0,05
Общие липиды	г/л	35	3,4 $\pm$ 0,3	38	4,0 $\pm$ 0,4
Глюкоза	ммоль/л	36	3,2 $\pm$ 0,4	38	3,4 $\pm$ 0,4
Калий	ммоль/л	31	5,1 $\pm$ 0,2	30	5,0 $\pm$ 0,4
Натрий	ммоль/л	32	135 $\pm$ 2	30	131 $\pm$ 4

У кроликов породы Советская шиншилла снижена активность щелочной фосфатазы, повышен уровень мочевины.

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА

(Т.В. Абрашова, А.П. Соколова, М.А. Ковалева)

Методы оценки гематологических показателей крови и показателей гемостаза

Методы оценки клеточных элементов

Гематологические показатели экспериментальных животных целесообразно определять в цельной крови с антикоагулянтом на гематологическом анализаторе, например, «ABACUS junior vet» (Австрия).

Принцип определения основан на методе импеданса, который заключается в определении количества и размера клеток в зависимости от изменения электрического сопротивления, когда частица (клетка) в токопроводящей жидкости

проходит через маленькую апертуру. Каждая клетка при этом вызывает изменение импеданса проводящей суспензии клеток крови. Эти изменения регистрируются как увеличение напряжения между электродами. Количество импульсов определяет количество клеток. Амплитуда импульса пропорциональна объему клетки. Импульсы подсчитываются только в границах, которые находятся между заранее установленными нижними и верхними пределами (дискриминаторами).

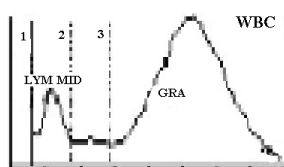
Определяемые показатели:

Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	Количество лейкоцитов.
WBC (клеток/л, клеток/мкл)	$\text{WBC} = \text{WBC}_{\text{cal}} \times (\text{клеток/л или клеток/мкл})$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	Количество эритроцитов.
RBC (клеток/л, клеток/мкл)	$\text{RBC} = \text{RBC}_{\text{cal}} \times (\text{клеток/л или клеток/мкл})$
Гематокрит, HCT (абсолютное значение), %	Рассчитывается по значениям RBC и MCV. $\text{HCT} (\%) = \text{RBC} \times \text{MCV} \times 100,$ $\text{HCT (абсолют.)} = \text{RBC} \times \text{MCV}$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	Количество тромбоцитов
PLT (клеток/л, клеток/мкл)	$\text{PLT} = \text{PLT}_{\text{cal}} \times (\text{клеток/л, клеток/мкл})$

Дифференцировка лейкоцитов на три части:

Лимфоциты, LYM, LY, %	Абсолютные значения подсчитываются по каналам, заданным по трем дискриминаторам лейкоцитов (WBC):
MID - средние клетки (моноциты, эозинофилы), %	Проценты рассчитываются по абсолютным значениям WBC.

Гранулоциты (нейтрофилы,
эозинофилы и базофилы)
GRA, GR, %



Метрологические характеристики:

Диапазон линейности

Параметр	Диапазон линейности	Максимум	Единицы
Лейкоциты (WBC)	0...100	150	$10^9/\text{л}$ (клеток/л)
Эритроциты (RBC)	0...15	20	$10^{12}/\text{л}$ (клеток/л)
Гематокрит (HCT)	0...100	-	%
Тромбоциты (PLT)	0...700	1000	$10^9/\text{л}$ (клеток/л)

Диагностические характеристики:

Параметр	Диагностические характеристики
Лейкоциты (WBC)	Повышение уровня лейкоцитов может говорить о воспалении. Значительное повышение уровня лейкоцитов (в 10 и более раз) может быть признаком лейкоза.

	Снижение уровня лейкоцитов является признаком угнетения кроветворения, истощения организма, иммунодефицита.
Эритроциты (RBC)	К физиологическому увеличению количества эритроцитов могут приводить интенсивные физические нагрузки, стрессы, обезвоживание, обильное потребление жидкости. Эритроциты повышены (эритроцитоз) наблюдается при заболеваниях крови (первичный эритроцитоз, полицитемия), кислородном голодании, заболеваниях легких, врожденные пороки сердца, обезвоживание (рвота, диарея), недостаточность функции коры надпочечников. Эритроциты понижены (анемия) при: кровопотере, гемолизе, дефиците железа, дефиците витамина В-12, дефиците фолиевой кислоты.
Гематокрит (HCT)	Снижение гематокрита свидетельствует об анемии. Также может быть вызван гиперпротеинемией или гипергидратацией. У беременных, особенно во второй половине срока, также довольно часто гематокрит понижен. Повышение гематокрита происходит при эритремиях. Происходит это при гипоксиях различного происхождения. Повышенный гематокрит, сопровождающийся усиленным синтезом эритропоэтина, может свидетельствовать о новообразованиях в почках, поликистозе и гидронефрозе почек. Уменьшение объема жидкой фазы крови может произойти при ожоговой болезни, перитоните, дегидратации организма, а также при лейкозах.
Тромбоциты (PLT)	Снижение тромбоцитов может быть вызвано повышенным потреблением тромбоцитов (хроническим кровотечением) или иммунными нарушениями, из-за которых тромбоциты частично перестают вырабатываться или имеют неправильную структуру. Повышение тромбоцитов чаще всего вызвано сгущением крови (обезвоживанием из-за рвоты или частого жидкого стула, малым потреблением воды).

Нормальные значения для человека:

Параметр	Нормальные значения	
	мужчины	женщины
Лейкоциты (WBC)	$4 \times 10^9 - 8,5 \times 10^9 / \text{л}$	
Эритроциты (RBC)	$4 \times 10^{12} / \text{л} - 5,1 \times 10^{12} / \text{л}$	$3,7 \times 10^{12} / \text{л} - 4,7 \times 10^{12} / \text{л}$
Гематокрит (HCT)	40—48%	36—42%
Тромбоциты (PLT)	$180-360 \times 10^9 / \text{л}$	
Лимфоциты	25-40%	
Эозинофилы	до 5%	
Нейтрофилы	60-75%	

Метод измерения гемоглобина (HGB)

Принцип метода: Гемоглобин определяется в лизированном разведении 1:196 цианметгемоглобиновым методом. Реагент лизирует эритроциты, при этом высвобождается гемоглобин. Железо гемоглобина окисляется из двухвалентного в трехвалентное, формируя метгемоглобин, который реагирует с цианидом калия с образованием стабильного цианметгемоглобина или гемоглобинцианида. Затем концентрация гемоглобина измеряется фотометрически при 540 нм. $HGB = HGB_{cal} \times (HGB_{пробы} - HGB_{blank})$ (г/л).

Метрологические характеристики:

Диапазон линейности

Параметр	Диапазон линейности	Максимум	Единицы
Гемоглобин (HGB)	0...250	400	г/л

Диагностические характеристики:

Повышение уровня гемоглобина может наблюдаться при эритроцитозе, сгущении крови, врожденных пороках сердца, кишечной непроходимости, ожогах, сердечно-легочной недостаточности. Повышение гемоглобина в крови происходит после физической нагрузки, при гипоксии.

Анемия может развиваться в результате потери гемоглобина при кровотечениях, при заболеваниях крови, сопровождающихся разрушением эритроцитов. Низкий гемоглобин возникает вследствие переливания крови. Причиной понижения гемоглобина — анемии может стать нехватка железа или витаминов (B12, фолиевой кислоты), необходимых для синтеза гемоглобина и эритроцитов. Анализ крови на гемоглобин может показать пониженный гемоглобин вследствие различных хронических заболеваний (талассемии и др.).

Нормальные значения для человека:

мужчины: 130-160 г/л

женщины: 120-140 г/л

Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) в крови экспериментальных животных

Методика определения ручная.

Принцип метода. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) - показатель скорости разделения крови в пробирке с добавленным антикоагулянтом на 2 слоя: верхний (прозрачная плазма) и нижний (осевшие эритроциты). Скорость оседания эритроцитов оценивается по высоте образовавшегося слоя плазмы (в мм) за 1 час. Удельная масса эритроцитов выше, чем удельная масса плазмы, поэтому в пробирке при наличии антикоагулянта (цитрата натрия) под действием силы тяжести эритроциты оседают на дно. Процесс оседания (седиментации) эритроцитов можно разделить на 3 фазы, которые происходят с разной скоростью. Сначала эритроциты, под действием силы тяжести, медленно оседают отдельными клетками. Затем они образуют агрегаты - "монетные столбики", и оседание происходит быстрее. В третьей фазе образуется много агрегатов эритроцитов, их оседание сначала замедляется, а потом постепенно прекращается.

Капилляр Панченкова предварительно промывают 3,8% раствором цитрата натрия, затем набирают этот раствор в пипетку до метки «75» (25мкл) и выливают на дно пробирки. Кровь набирают тем же капилляром - целый капилляр до метки «0» (100 мкл). Кровь помещают в пробирку с цитратом и после тщательного перемешивания вновь набирают в капиллярную пипетку до метки «0».

Капилляр с цитратной кровью ставят в штатив вертикально между двумя резиновыми прокладками и оставляют на 1 час. Через час определяют величину оседания по столбику плазмы над осевшими эритроцитами, деление капиллярной пипетки соответствующее границе плазмы и эритроцитов, записывают как величину СОЭ в миллиметрах в час. Проба стабильна в течение 2 ч при 25 °С и 12 ч при 4 °С.

Метрологические характеристики:

Линейность: 1-50 мм/час.

Диагностические характеристики:

Наиболее частой причиной повышения СОЭ является увеличение содержания в плазме крупнодисперсных белков (фибриногена, α-, γ или β-

глобулинов, парапротеинов), а также уменьшение содержания альбуминов. Крупнодисперсные белки обладают меньшим отрицательным зарядом. Адсорбируясь на отрицательно заряженных эритроцитах, они уменьшают их поверхностный заряд и способствуют сближению эритроцитов и более быстрой их агрегации.

Повышение СОЭ может быть связано с инфекциями, воспалительными заболеваниями, деструкцией тканей, злокачественными опухолями, парапротеинемиями (например, макроглобулинемия, множественная миелома), при инфаркте миокарда, пневмонии, заболеваниях печени и др. Также повышение СОЭ может наблюдаться при коллагенозах, заболеваниях эндокринной системы (диабет), анемии (СОЭ увеличивается в зависимости от тяжести), травмах, а также при беременности, отравлении химическими агентами, у пожилых людей.

Снижению СОЭ способствуют три основных фактора: сгущение крови, ацидоз и гипербилирубинемия. Причиной понижения значения СОЭ может быть: полицитемия, серповидноклеточная анемия, сфероцитоз, гипофибриногенемия, гипербилирубинемия, голодание, снижение мышечной массы, прием кортикостероидов, беременность, вегетарианская диета, гипергидратация, миодистрофии, выраженные явления недостаточности кровообращения.

Нормальные значения для человека: у новорожденных СОЭ очень замедлена - около 2 мм/час, что связано с высокой величиной гематокрита и низким содержанием глобулинов. К 4 неделям СОЭ слегка ускоряется, к 2 годам она достигает 4-17 мм, у взрослых и детей старше 10 лет СОЭ составляет от 2 до 10 мм для мужчин и от 2 до 15 мм для женщин, что может быть объяснено разным уровнем андрогенных стероидов.

Подсчет ретикулоцитов в мазке

Суправитальный пробирочный метод

Принцип метода. Выявление зернисто-сетчатой субстанции ретикулоцитов при суправитальной окраске щелочными красками с дальнейшим подсчетом их в мазке крови. Окраска ретикулоцитов проводится в пробирке бриллиантовым крезиловым синим (Clinical Hematology..., 1997, Methods for Reticulocyte..., 2004). Рабочий раствор бриллиантового крезилового синего готовят из расчета на каплю 1% раствора оксалата калия 4 капли раствора краски бриллиантового крезилового

синего. В краску добавляют 0,04 мл крови (две пипетки до метки 0,02). Смесь тщательно, но осторожно перемешивают и оставляют на 30 минут. Затем снова перемешивают и готовят тонкие мазки.

Мазки микроскопируют с иммерсионным объективом. Находят поля зрения, где эритроциты располагаются монослойно. В этих полях зрения подсчитывают не менее 1000 эритроцитов и отмечают среди них количество эритроцитов, содержащих зернисто-нитчатую субстанцию. Количество подсчитанных ретикулоцитов выражают на 1000 (в промилле) эритроцитов.

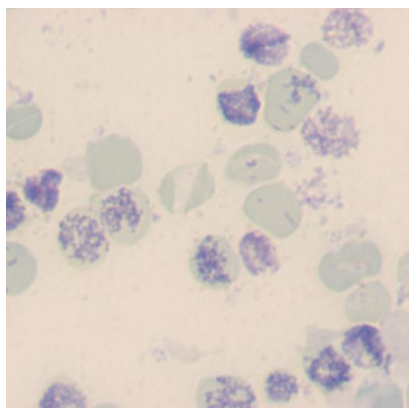


Рис. 17. Ретикулоциты в мазке. Окуляр x10, иммерсионный объектив x100.

Диагностические характеристики:

Количество ретикулоцитов, их степени зрелости и фракция незрелых ретикулоцитов являются проверенными параметрами, предоставляющими клиническую информацию о состоянии эритропоэза, помогающими при дифференциальной диагностике анемий и мониторинге гемопоэтической активности костного мозга.

Увеличение ретикулоцитов их в периферической крови (ретикулоцитоз) отмечается при гемолитических анемиях (число ретикулоцитов может достигать до 60% и более), острых кровопотерях, малярии, полицитемии, лечении железом железодефицитных анемий (через несколько дней (3 - 10) после начала антианемического лечения пернициозной анемии), при остром недостатке кислорода, при метастазах опухолей в костный мозг.

Снижение количества или отсутствие ретикулоцитов (ретикулоцитопения) наблюдается при регенераторных апластических и гипопластических анемиях, при анемиях, вызванных недостаточностью содержания железа, витамина B12, фолиевой кислоты (микроцитарно-гипохромные и мегалобластные анемии), при

талассемии, сидеробластной анемии, метастазах рака в кость, лучевой болезни и лучевой терапии, лечении цитостатиками, аутоиммунных заболеваниях системы кроветворения, заболеваниях почек, алкоголизме, микседеме.

Нормальные значения для человека:

Нормальное количество ретикулоцитов в периферической крови здорового взрослого человека колеблется в пределах 0,2–1,2% (2-12 ‰).

В нашей лаборатории определение показателей гемостаза (ПВ и АЧТВ) проводят на полуавтоматическом коагулометре АПГ2-02П. Кровь для исследования забирают из хвостовой вены в пластиковые пробирки типа эппендорф, содержащие цитрат натрия (3,8%) в соотношении 9:1. Цитратную кровь центрифугируют 15 мин. при 3000 об. для получения бедной тромбоцитами плазмы. Для исследования используют стандартные наборы реагентов по определению протромбинового времени и активированного частичного тромбопластинового времени производства «Технология стандарт», Россия.

Определение протромбинового времени (ПВ)

ТЕХПЛАСТИН™-ТЕСТ

Протромбиновое время - показатель системы свертывания крови, оценка "внешнего пути свертывания" (характеризует активность протромбинового комплекса в образовании фибрина).

Принцип метода заключается в определении времени свертывания цитратной плазмы крови под влиянием тромбопластина (растворимого экстракта из тканей мозга кролика) в присутствии ионов кальция (Баркаган З.С., Момот А.П., 2001).

Метрологические характеристики:

Линейность определения протромбинового времени - в диапазоне от 11 до 90 с. Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени не превышает 6%. Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы крови разными наборами одной серии не превышает 10%.

Диагностические характеристики:

Удлинение протромбинового времени отмечается при дефиците факторов, определяющих образование протромбиназы по внешнему пути. Наблюдается при недостатке факторов превращающих протромбин в тромбин (X, V, II), а также при

приёме непрямых антикоагулянтов, тяжёлых поражениях паренхимы печени, недостаточности витамина К.

Уменьшение протромбинового времени (укорочение ПВ) - свидетельство гиперкоагуляции, которое наблюдается при тромботических состояниях.

Нормальные значения для человека: Взрослые: 12-15 сек. Новорождённые: 14-18 сек.

Определение активированного частичного (парциального) тромбопластинового времени (АЧТВ)

АПТВ (АЧТВ)-ЕI-тест

Принцип метода заключается в определении времени свертывания цитратной плазмы в условиях стандартизированной активации контактной фазы раствором смеси фосфолипидов (растительного происхождения) и активатора (эллаговой кислоты) в присутствии ионов кальция (раствор хлорида кальция). При этом имитируется запуск свертывания по внутреннему пути и выявляется возможный дефицит факторов, участвующих в нем, или наличие ингибиторов свертывания (Баркаган З.С., Момот А.П., 2001).

Метрологические характеристики:

Линейность определения - в диапазоне от 25 до 300 с.

Коэффициент вариации результатов определения АПТВ не превышает 6%.

Допустимый разброс результатов определения АПТВ в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10%.

Тест чувствителен к присутствию в крови антикоагулянтов.

Диагностические характеристики:

Удлинение АЧТВ выше нормальных значений свидетельствует о гипокоагуляции (склонности к кровотечениям) и может быть вызвано: введением гепарина, тяжелыми заболеваниями печени, при которых нарушается синтез белков, участвующих в свертывании крови, недостатком витамина К (многие факторы свертывания крови витамин К-зависимые), врожденным дефицитом некоторых факторов свертывания крови, антифосфолипидным синдромом (заболевание, при котором в крови определяется большое количество антител к компонентам мембран клеток, наличием гемофилии, второй стадией ДВС - синдрома (резкое нарушение всех процессов свертывания крови, наблюдающееся

при многих критических состояниях: шоках, тяжелых травмах, ожогах, массивных тромбозах и т.д.).

Укорочение АЧТВ свидетельствует об ускорении образования протромбиназы по внутреннему механизму и рассматривается как фактор повышенного тромбообразования и может быть связано с: тромбозами любой локализации, некоторыми наследственными заболеваниями, наступлением первой стадии ДВС-синдрома.

Нормальные значения для человека: 28-40 сек.

Нормальные показатели гематологии и гемостаза

Таблица 42 - Нормальные показатели гематологии и гемостаза у человека

Параметр	Единицы измерения	Нормальные значения	
		мужчины	женщины
Лейкоциты (WBC)	$\cdot 10^9/\text{л}$	4 – 8,5	
Лимфоциты	%	19-37	
Эозинофилы	%	0,5-5	
Моноциты	%	3-11	
Нейтрофилы - палочкоядерные - сегментоядерные	%	1-6 47-72	
Базофилы	%	0-1	
Эритроциты (RBC)	$\cdot 10^{12}/\text{л}$	4 - 5,1	3,7 - 4,7
Гемоглобин (HGB)	г/л	130-160	120-140
Гематокрит (HCT)	%	40—48	36—42
Тромбоциты (PLT)	$\cdot 10^9/\text{л}$	180-360	
Ретикулоциты	%	0,2–1,2	
Скорость оседания эритроцитов (СОЭ)	мм/час	2 до 15	
Протромбиновое время (ПВ)	сек.	12-15	
Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ)	сек.	28-40	

Таблица 43 - Показатели гематологии и гемостаза у беспородных мышей, ($M \pm m$)

Показатель	Единицы измерения	Самцы	N	Самки	N
Лейкоциты	$\cdot 10^9/\text{л}$	$3,1 \pm 0,3$	229	$1,8 \pm 0,2$	222
Лимфоциты	%	63 ± 2	228	66 ± 5	221
MPD (эозинофилы, моноциты)	%	$4,7 \pm 0,7$	228	$1,8 \pm 0,5$	221
Гранулоциты	%	31 ± 2	228	33 ± 5	221
Эритроциты	$\cdot 10^{12}/\text{л}$	$7,0 \pm 0,5$	229	$5,0 \pm 0,5$	224
Гемоглобин	г/л	111 ± 4	229	129 ± 3	225
Гематокрит	%	28 ± 2	229	17 ± 2	224

Тромбоциты	*10 ⁹ /л	371±17	210	414±14	228
Ретикулоциты	%	21±3	210	24±5	228
СОЭ	мм/час	2,0±0,1	210	2,3±0,1	228
ПВ	сек.	11±1	210	10±1	228
АЧТВ	сек.	11±1	229	10±1	227

У мышей, по сравнению с нормами, установленными для человека, наблюдается сниженное количество лейкоцитов, повышенное количество эритроцитов, такие же данные были получены И.М. Трахтенбергом (1991).

Наблюдается сдвиг в лейкоцитарной формуле – увеличено количество лимфоцитов и снижено количество гранулоцитов, аналогичные данные были представлены Гольдбергом Д.И. и соавт. (1973). У самцов отмечается сниженное количество гемоглобина, существенно занижены значения гематокрита и увеличено количество ретикулоцитов. Отличия в системе гемостаза отмечаются со стороны количества тромбоцитов (их количество немного выше, чем у человека) и в 2,5 раза укорочено АЧТВ.

Таблица 44 - Показатели гематологии и гемостаза у беспородных крыс, (M±m)

Показатель	Единицы измерения	Самцы	N	Самки	N
Лейкоциты	*10 ⁹ /л	7,3±0,1	298	7,0±0,2	240
Лимфоциты	%	63±1	298	66±1	237
МID (эозинофилы, моноциты)	%	4,5±0,2	298	5,1±0,1	237
Гранулоциты	%	33±1	298	29±1	237
Эритроциты	*10 ¹² /л	7,9±0,1	236	8,5±10,3	239
Гемоглобин	г/л	117±1	236	113±8	241
Гематокрит	%	46±1	198	39±3	233
Тромбоциты	*10 ⁹ /л	530±12	196	641±17	244
Ретикулоциты	%	24±1	110	26±1	296
СОЭ	мм/час	1,5±0,1	110	2,1±0,1	298
ПВ	сек.	22±1	62	22±1	33
АЧТВ	сек.	21±1	61	18±1	32

У крыс, так же как и у мышей, по сравнению с нормами, установленными для человека, наблюдается повышенное количество эритроцитов, и при этом снижено количество гемоглобина, такие же данные были получены И.М. Трахтенбергом (1991). Лейкоцитарная формула с преобладанием лимфоцитов, что согласуется с литературными данными (Гольдберг Д.И. и др., 1973). Почти в 2 раза увеличено количество тромбоцитов, при этом ПВ удлинено, а АЧТВ укорочено.

Таблица 45 - Показатели гематологии и гемостаза у кроликов породы Советская шиншилла, (M±m)

Показатель	Единицы измерения	Самцы	N	Самки	N
Лейкоциты	*10 ⁹ /л	8,2±0,3	52	9,0±0,1	24
Лимфоциты	%	63±3	52	76±3	24
МID (эозинофилы, моноциты)	%	6,2±0,3	52	5,1±0,4	24
Гранулоциты	%	31±3	52	19±3	24
Эритроциты	*10 ¹² /л	5,8±0,2	52	5,1±0,2	23
Гемоглобин	г/л	123±3	50	125±2	24
Гематокрит	%	36±1	52	29±1	23
Тромбоциты	*10 ⁹ /л	304±10	26	384±14	28
Ретикулоциты	%	11±1	26	9±1	28
СОЭ	мм/час	4±0,1	26	4±0,3	28
ПВ	сек.	9±1	58	10±1	28
АЧТВ	сек.	19±1	55	22±2	28

Лейкоцитарная формула у кроликов характеризуется преобладанием лимфоцитов, что согласуется с литературными данными (Гольдберг Д.И. и др., 1973). По сравнению с нормальными значениями, установленными для человека, у кроликов отличий практически не наблюдается.

Таблица 46 - Показатели гематологии и гемостаза у беспородных морских свинок, (M±m)

Показатель	Единицы измерения	Самцы	N	Самки	N
Лейкоциты	*10 ⁹ /л	6,8±0,4	15	4,1±0,5	13
Лимфоциты	%	71±3	15	75±3	13
МID (эозинофилы, моноциты)	%	6,7±0,6	15	4,2±0,3	13
Гранулоциты	%	23±3	15	21±4	13
Эритроциты	*10 ¹² /л	6,2±0,3	15	4,4±0,6	13
Гемоглобин	г/л	99±7	15	102±15	13
Гематокрит	%	47±2	15	36±5	13
Тромбоциты	*10 ⁹ /л	383±51	15	432±73	13
Ретикулоциты	%	9±1	16	7±1	13
СОЭ	мм/час	3±0,1	16	2±0,1	13
ПВ	сек.	12±1	15	19±2	13
АЧТВ	сек.	31±2	15	30±2	13

Лейкоцитарная формула у морских свинок характеризуется преобладанием лимфоцитов, несколько снижен уровень гемоглобина, и увеличено количество ретикулоцитов, что согласуется с литературными данными (Гольдберг Д.И. и др., 1973). По сравнению с нормальными значениями, установленными для человека, у морских свинок отличий практически не наблюдается.

Таблица 47 - Показатели гематологии и гемостаза у беспородных хомяков, (M±m)

Показатель	Единицы измерения	Самцы	N	Самки	N
Лейкоциты	*10 ⁹ /л	3,8±1,5	17	5,7±1,7	17
Лимфоциты	%	81±4	16	84±5	17
MID (эозинофилы, моноциты)	%	0,9±0,03	16	0,7±0,04	17
Гранулоциты	%	19±2	16	16±1	17
Эритроциты	*10 ¹² /л	8,5±1,1	17	8,3±0,6	17
Гемоглобин	г/л	150±6	17	144±4	17
Гематокрит		36±2	17	35±3	17
Тромбоциты	*10 ⁹ /л	308±9	13	304±11	13
Ретикулоциты	%	4±1	12	6±1	12
СОЭ	мм/час	5±0,2	12	7±0,1	12
ПВ	сек.	14±1	11	10±1	12
АЧТВ	сек.	31±2	12	30±2	12

У хомяков, также как и у других лабораторных грызунов обращает на себя внимание измененная лейкоцитарная формула – увеличено количество лимфоцитов и снижено количество гранулоцитов, что согласуется с литературными данными (Гольдберг Д.И. и др., 1973). Других отличий по сравнению с нормальными значениями, установленными для человека, у хомяков практически не наблюдается.

Мы провели исследование некоторых показателей интактных крыс двух линий Wistar и SHR (табл. 48 и 49), с учетом их возраста и пола, изучение динамики этих показателей во времени (Абрашова Т.В. и др., 2010, Соколова А.П. и др., 2010).

Таблица 48 - Гематологические показатели крови у крыс линии Wistar

Показатель	Ед. измерения	Самцы						Самки	
		3-5 мес.	N	6-8 мес.	N	18-24 мес.	N	3-5 мес.	N
Возраст, мес.									
Лейкоциты	*10 ⁹ /л	6,5±0,1	52	5,9±0,3	52	6,0±0,1	52	6,1±0,3	68
Лимфоциты	%	45±3	52	56±6	52	64±4	52	47±5	68
MID (эозинофилы, моноциты)	%	3,6±0,1	52	2,9±0,2	52	5,6±0,4	52	4,4±0,2	68
Гранулоциты	%	51±3	52	41±3	52	31±2	52	49±4	68
Эритроциты	*10 ¹² /л	8,1±0,3	52	8,3±0,1	52	7,7±0,6	52	7,8±0,4	68
Гемоглобин	г/л	155±7	52	152±9	52	151±11	52	121±6	68
Тромбоциты	*10 ⁹ /л	505±11	52	546±12	52	577±15	52	243±7	68

Таблица 49 - Гематологические показатели у крыс-самцов линии SHR

Показатель	Ед. измерения	N	1,5-2 мес.	2,5-3 мес.	4-6 мес.	5-7 мес.	10-12 мес.	11-13 мес.
			Возраст, мес.					
Лейкоциты	*10 ⁹ /л	45	7,1±0,6	7,1±0,3	6,3±0,4	6,1±0,5	8,6±0,4	11,1±05
Лимфоциты	%	45	60±3	62±2	54±3	54±2	51±3	57±1
MID (эозинофилы, моноциты)	%	45	2,1±0,1	4,2±0,2	5,3±0,1	5,2±0,1	6,8±0,4	7,3±0,8
Гранулоциты	%	36	37±2	34±2	42±3	41±3	42±2	36±3
Эритроциты	*10 ¹² /л	36	8,3±0,3	8,1±0,3	11,0±0,4	10,4±0,5	11,1±0,6	9,9±0,5
Гемоглобин	г/л	36	141±6	148±8	177±6	169±8	173±5	162±7
Тромбоциты	*10 ⁹ /л	36	352±16	363±13	524±24	551±20	527±19	653±22

Гематологические параметры у крыс линии Wistar в онтогенезе относительно стабильны. У стареющих животных 6-8 и 18-24 месяцев, происходит увеличение лимфоцитов и снижение гранулоцитов, при этом все значения лейкоцитарной формулы максимально приближены к значениям, установленным для беспородных крыс. Хотелось обратить внимание на количество тромбоцитов у самцов, которое, как и у беспородных крыс, существенно превышает нормальные значения у человека. Гематологические параметры у крыс-самок линии Wistar максимально приближены к нормальным значениям в человеческой популяции.

В отличие от крыс линии Wistar гематологические параметры у крыс линии SHR менее стабильны. В ходе онтогенеза этой линии крыс происходит увеличение общего числа лейкоцитов, со сдвигом лейкоцитарной формулы, увеличением средних клеток (эозинофилы, моноциты), относительной нестабильностью уровня лимфоцитов и гранулоцитов. Также с увеличением возраста изменяются и показатели красной крови: увеличивается количество эритроцитов и гемоглобина. Количество тромбоцитов у крыс-самцов линии SHR в онтогенезе возрастает, что видимо, связано с имеющимся у этой линии крыс дефектом сердечно-сосудистой системы, проявляющимся артериальной гипертензией.

ПОКАЗАТЕЛИ МИЕЛОГРАММЫ

(Т.В. Абрашова, А.П. Соколова)

Изучение реакций системы крови при острых и хронических лучевых поражениях, воздействии лекарственных средств, особенно при исследовании противоопухолевых препаратов требует углубленного изучения сдвигов со стороны костного мозга на различных фазах поражения гемопоэтической системы.

Морфологический анализ клеток костного мозга с подсчётом миелограммы. Миелограмма представляет собой процентное соотношение различных клеток костно-мозгового пунктата.

Костный мозг состоит из двух групп клеток:

- Клетки ретикулярной системы (составляют меньшинство по численности): фибробласты, остеобласты, жировые клетки, эндотелиальные клетки.
- Клетки кровеносной ткани костного мозга с их производными зрелыми клетками крови.

При исследовании костного мозга определяют процентное содержание всех клеток костного мозга. Производят дифференцированный подсчёт не менее 500 клеток и вычисляют процент каждого вида (можно считать отдельно клетки эритро- и лейкопоза).

Морфология клеток эритроидного ряда.

В норме в пунктате костного мозга определяют эритробласты, пронормобласты, базофильные, полихроматофильные и оксифильные нормобласты.

Морфология клеток гранулоцитарного ряда.

В норме в пунктате костного мозга определяют миелобласты, промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты.

При подсчёте клеток моноцитарного ряда в норме в пунктате костного мозга определяют монобласты и промоноциты.

При подсчёте клеток лимфоидного ряда в пунктате костного мозга определяют лимфобласты и пролимфоциты.

При подсчёте клеток мегакариоцитарного ряда в пунктате костного мозга определяют мегакариобласты, промегакариоциты, базофильные, полихроматофильные и оксифильные мегакариоциты.

Так же подсчитывается количество зрелых клеток всех ростков гемопоэза, с оценкой морфологии, количества плазматических клеток и клеток ретикулярной системы.

Так же важным считается определение лейко-эритробластического отношения (Л/Э), которое вычисляется как отношение суммы процентного содержания всех лейкоцитов (сюда относят и гранулоциты, и агранулоциты - моноциты, лимфоциты, плазматические клетки) к общему содержанию всех ядерных элементов эритроидного ряда - от пронормобласта до зрелых форм. У здоровых взрослых людей лейко-эритробластическое отношение равно 2,1 - 4,5.

Метод оценки миелограммы

При работе с экспериментальными животными после извлечения костного мозга из проксимального отдела бедренной кости готовят окрашенные мазки по Майн-Грюнвальду и докраской по Гимза.



Рис. 18. Подготовка материала: извлечение костного мозга из проксимального отдела бедренной кости

Микроскопия и морфологический анализ клеток костного мозга с подсчетом миелограммы выполняется по методике Е.А. Кост (1952) (Карпищенко А.И., 2002).

При проведении исследований на лабораторных животных, в отличие от исследования пунктатов костного мозга у человека, у лабораторных животных предпочтительнее использовать материал, непосредственно отобранный из грудины или проксимального отдела бедренной кости, что позволяет получить более точную картину костного мозга, особенно количественного состава отдельных ростков (Гольдберг Д.И. и др. 1973, Veterinary hematology..., 2010).

Таблица 50 – Нормальное соотношение клеток у взрослых людей

Клетки	%
Недифференцированные бласты	0,1 — 1,1
Миелобласты	0,1 — 3,0
Нейтрофильные промиелоциты	0,5 — 5,0
Нейтрофильные миелоциты	7,0 — 20,0

Нейтрофильные метамиелоциты	8,0 — 18,0
Палочкоядерные нейтрофилы	9,5 — 23,7
Сегментоядерные нейтрофилы	12,0 — 24,0
Эозинофильный миелоциты	0,5 — 4,0
Эозинофильный метамиелоциты	0,1 — 2,2
Палочкоядерные эозинофилы	0,0 — 2,0
Сегментоядерные эозинофилы	0,1 — 5,0
Базофильные миелоциты	0,0 — 0,1
Базофильные метамиелоциты	0,0 — 0,3
Палочко- и сегментоядерные базофилы	0,0 — 0,5
Прозэритробласты	0,2 — 1,0
Базофильные эритробласты	0,8 — 3,5
Полихроматофильные эритробласты	7,5 — 15,0
Оксифильные эритробласты	0,1 — 1,0
Полихроматофильные нормобласты	6,0 — 15,0
Оксифильные нормобласты	0, 0 — 1,0
Лимфоциты	6,0 — 15,0
Моноциты	0,1 — 2,5
Плазматические клетки	0,0 — 1,5
Мегакариоциты	0,3 — 0,5

Воздействие различных факторов (лекарственные средства, ионизирующее излучение, токсические агенты, ксенобиотики и др.) провоцирует не только количественные сдвиги в миелограмме, но и качественные изменения в структуре клеток различных ростков кроветворения. Количественные сдвиги могут характеризоваться увеличением бластных клеток, пролиферацией одного ростка и угнетением другого, дисбалансом клеточного состава, цитопенией или гиперклеточностью. Качественные сдвиги могут характеризоваться многоядерностью клеток, мегалобластоидностью, диссоциацией в созревании ядра и цитоплазмы, кариорэксисом, наблюдением межъядерных мостиков, появлением телец Жоли и Деле, базофильной пунктацией эритроцитов, гиперсегментацией нейтрофилов, отсутствием гранул в цитоплазме, появлением кольцевидных ядер, вакуолизацией цитоплазмы и др.

Сочетание данных качественных и (или) количественных проявлений в миелограмме могут встречаться при различных заболеваниях, таких как анемии, острые и хронические лейкозы, миелодиспластический синдром (МДС), аномалия Чедиака, миелофиброз, лимфомы, плазмоклеточные неоплазии и др.

Ниже рассмотрены некоторые причины изменений клеточного состава костного мозга.

Причины высоких мегакариоцитов и мегакариобластов:

миелопролиферативные заболевания, метастазы злокачественных опухолей в костный мозг, идиопатическая аутоиммунная тромбоцитопения, лучевая болезнь в период восстановления, хронический миелолейкоз

Причины низких мегакариоцитов и мегакариобластов:

гипопластические и апластические процессы, лучевая болезнь, иммунные и аутоиммунные процессы, метастазы злокачественных опухолей, острые лейкозы, миеломная болезнь, В12-дефицитная анемия, системная красная волчанка.

Для острых и хронических лейкозов характерно увеличение количества бластных клеток.

Фолиеводефицитная и В12-дефицитная анемии сопровождаются наличием мегалобластов и мегалоцитов различных генераций, крупных нейтрофильных миелоцитов, метамиелоцитов, гиперсегментированных нейтрофилов.

Причины увеличения количества миелоидных элементов (зрелых и незрелых форм): интоксикации, острое воспаление, гнойные инфекции, шок, острая кровопотеря, туберкулез, злокачественные опухоли.

Причины эозинофилии костного мозга: аллергия, глистные инвазии, злокачественные новообразования, миелоидные лейкозы, инфекции.

Причины увеличения количества моноцитоподобных клеток: моноцитарные лейкозы, инфекционный мононуклеоз, хронические инфекции, злокачественные опухоли.

Причины высоких атипичных мононуклеаров:

вирусные инфекции: инфекционный мононуклеоз, аденовирус, грипп, вирусный гепатит, краснуха, корь.

Причины увеличения лимфоидных элементов (появление тени Гумпрехта): лимфопролиферативные заболевания: хронический лимфолейкоз, макроглобулинемия Вальденстрема, лимфосаркома.

Причиной повышения содержания плазматических клеток с появлением полиморфизма могут вызвать плазмцитомы.

Причиной высоких эритрокариоцитов (без нарушения созревания) может стать эритремия.

Постгеморрагические и гемолитические анемии вызывают увеличение содержания эритрокариоцитов и уменьшение лейкоэритробластического соотношения.

Гипопластические процессы сопровождаются уменьшением содержания эритрокариоцитов при снижении общего количества миелокариоцитов и небольшого увеличения бластных клеток, лимфоцитов, плазмоцитов.

Важное значение для оценки миелограммы имеет взаимное соотношение костномозговых элементов: индекс созревания эритрокариоцитов характеризует состояние эритроидного ростка - это соотношение процентного содержания нормобластов (содержащих гемоглобин) к общему процентному содержанию всех нормобластов. Снижение индекса созревания эритрокариоцитов говорит о задержке гемоглобинизации, преобладании молодых базофильных форм: железодефицитные анемии, В12-дефицитные анемии, иногда гипопластические анемии. Индекс созревания нейтрофилов характеризует состояние гранулоцитарного ростка - это отношение процентного содержания молодых элементов зернистого ряда (промиелоцитов, миелоцитов, метамиелоцитов) к процентному содержанию зрелых гранулоцитов (палочкоядерных, сегментоядерных). Снижение индекса созревания нейтрофилов наблюдается при задержке созревания на стадии зрелых гранулоцитов или задержке их вымывания: гиперспленизм, инфекционные и гнойные процессы). Увеличение индекса созревания нейтрофилов наблюдается при миелолейкозах, лейкомоидных реакциях миелоидного типа, некоторых формах агранулоцитоза.

Лейкоэритробластическое соотношение снижается при анемиях; увеличивается - при лейкозах (иногда при угнетении эритроидного ростка при гипопластической анемии): причины повышения лейкоэритробластического соотношения при богатом пунктате костного мозга: гиперплазия лейкоцитарного ростка (хронический лейкоз), причины повышения лейкоэритробластического соотношения при бедном пунктате костного мозга: редукция красного ростка (гемолитическая анемия); причины снижения лейкоэритробластического соотношения при богатом пунктате костного мозга: гиперплазия красного ростка

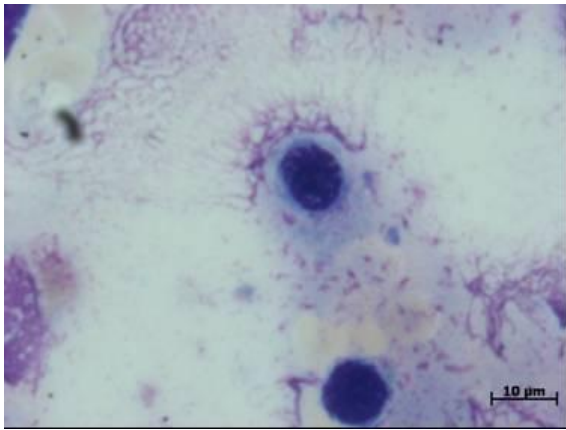
(гемолитическая анемия); причины снижения лейкоэритробластического соотношения при бедном пунктате костного мозга: редукция гранулоцитарного роста (агранулоцитоз).

Характеристика миелограммы лабораторных грызунов

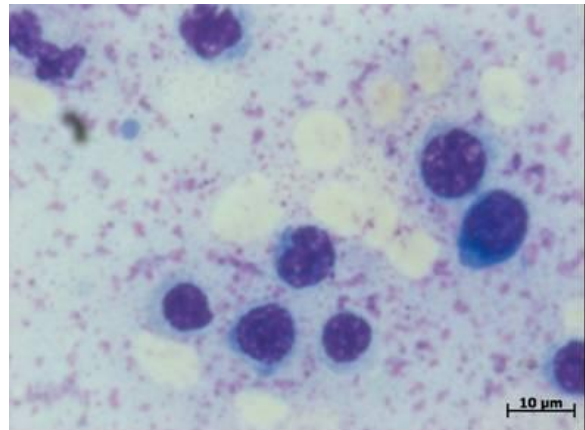
Процент лимфоцитов в костном мозге здоровых мышей и крыс составляет от 7 до 21 % от общего количества ядро-содержащих клеток, их количество сильно варьирует в зависимости от пола и возраста животных (Veterinary hematology..., 2010). Лимфоциты имеют сильно пикнотическое ядро, иногда обнаруживается значительная азурофильная зернистость. Основная масса сегментоядерных клеток имеет нейтрофильную, мало выраженную зернистость в мазках. Ядра эозинофильных клеток образованы из рыхлого хроматинового вещества и имеют округлую форму. Ядра эозинофилов и нейтрофилов образуются по кольчатому типу, поэтому нередко встречаются кольцеобразные ядра у палочковидных форм. Моноциты сильно отличаются от лимфоцитов, которые равны по величине двум эритроцитам, имеют большое бобовидное ядро и широкую протоплазматическую кайму, которая окрашивается в синий или фиолетовый цвет с нежной грануляцией. Кровяные пластинки сгруппированы островками.

Органы кроветворения содержат круглоядерные клетки, нейтрофильные и эозинофильные миелоциты, полинуклеарные нейтрофилы и эозинофилы, нормобласты и гигантские клетки. Основная масса клеток костного мозга состоит из круглоядерных клеток, полинуклеаров и переходных форм с перешнуровкой ядра разной степени выраженности. Одноядерные клетки разнообразны, ядра их мелкие, расположены центрально или эксцентрично, в ряде случаев полностью заполняют клетку. Нейтрофильная грануляция не выражена. Эозинофильная грануляция ярко выражена. Базофилы имеют круглое или лопастное ядро. Гигантские клетки с гомогенной плазмой и многочисленными мелкими центрально лежащими ядрами попадаются редко. Нормобласты имеют типичные ядра и протоплазму.

Типичная миелограмма беспородных крыс

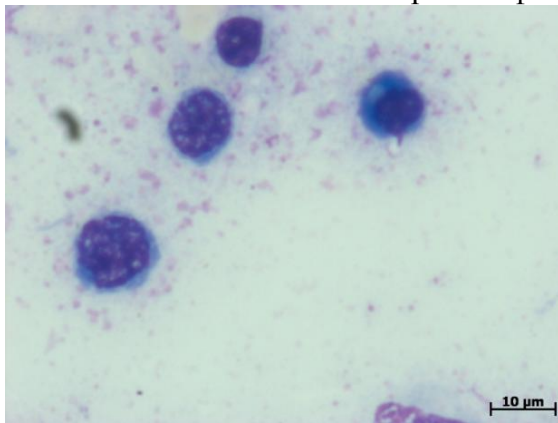


а

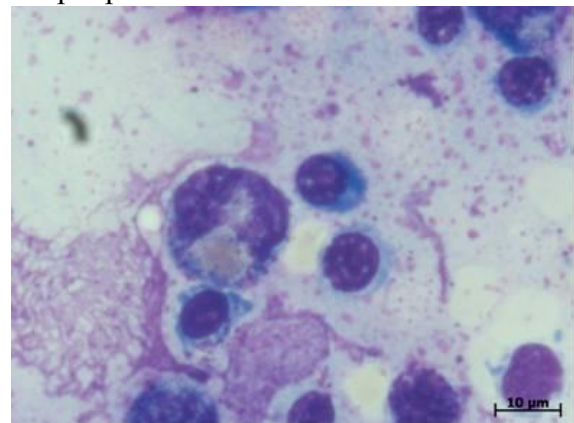


б

Рис. 19. Мазок костного мозга беспородной крысы. Ув.1000. Окуляр (10), объектив (100). а) Единичные полихроматофильные эритробласты. б) Скопление полихроматофильных эритробластов.



а



б

Рис. 20. Мазок костного мозга беспородной крысы. Ув.1000. Окуляр (10), объектив (100). а) Полихроматофильные нормобласты. б) Базофильные нормобласты.

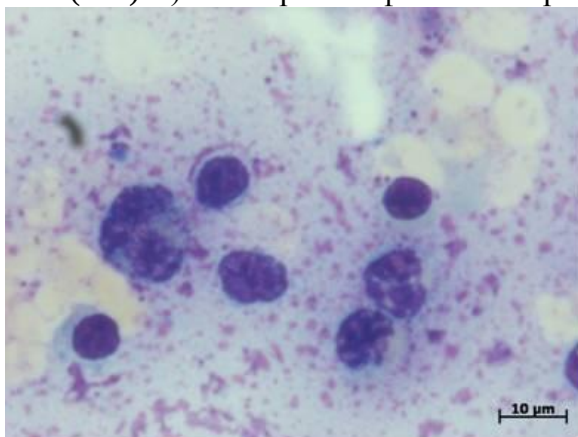


Рис. 21. Мазок костного мозга беспородной крысы. Скопление полихроматофильных и оксифильных эритробластов. Ув.1000. Окуляр (10), объектив (100).

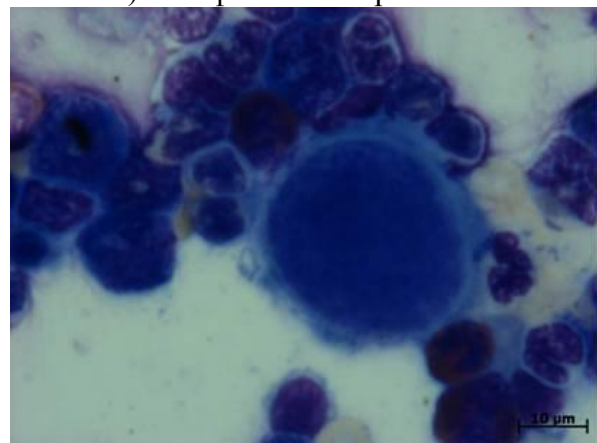


Рис. 22. Мазок костного мозга беспородной крысы. Мегакариобласт. Ув.1000. Окуляр (10), объектив (100).

В таблицах ниже представлены типичные параметры миелограммы крыс.

Таблица 51 – Миелограмма беспородных крыс-самцов (M±m, n=40)

Исследуемые показатели	Возраст крыс				
	8 недель	12 недель	20 недель	32 недели	36 недель
Эритробласты %	0,42±0,03	0,36±0,03	0,43±0,04	0,43±0,05	0,48±0,06
Прозэритробласты %	0,31±0,03	0,40±0,04	0,41±0,05	0,41±0,04	0,46±0,05
Базофильные эритробласты %	4,2±0,3	4,1±0,4	4,2±0,2	4,3±0,5	4,6±0,4
Полихроматофильные эритробласты %	12±1	13±1	15±1	14±1	14±1
Оксифильные эритробласты %	13±1	15±2	14±1	14±2	14±1
Лимфоциты %	17±2	22±2	21±1	21±1	21±2
Моноциты %	8,4±1,0	7,6±0,5	7,1±0,6	8,7±1,0	8,6±1,2
Плазматические клетки %	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Ретикуло-эндотелиальные клетки %	1,2±0,04	1,2±0,08	1,1±0,03	1,1±0,05	1,1±0,06
Прочие клетки %	0,95±0,04	0,78±0,04	1,00±0,08	1,12±0,07	1,16±0,06
Миелобласты %	0,45±0,05	0,58±0,03	0,48±0,04	0,52±0,05	0,52±0,06
Промиелоциты %	0,81±0,15	0,95±0,08	1,24±0,08	1,44±0,12	1,36±0,11
Миелоциты %	5,6±0,6	4,2±0,5	5,0±0,9	4,8±0,9	4,8±0,12
Метамиелоциты %	4,0±0,5	3,8±0,3	4,6±0,3	4,6±0,4	4,3±0,5
Палочкоядерные нейтрофилы %	8,2±0,6	8,9±0,7	7,4±0,5	7,5±0,6	7,2±0,6
Сегментоядерные нейтрофилы %	20±1	18±1	16±2	16±2	16±1
Базофилы %	0,31±0,04	0,36±0,04	0,34±0,03	0,5±0,1	0,6±0,1
Эозинофилы %	1,1±0,02	1,1±0,03	1,0±0,04	1,1±0,03	1,1±0,07
Лейко-эритробластическое отношение	2,3±0,1	2,4±0,1	1,9±0,04	2,1±0,06	2,2±0,06

Таблица 52 – Миелограмма беспородных крыс-самок (M±m, n=40)

Исследуемые показатели	Возраст крыс				
	8 недель	12 недель	20 недель	32 недели	36 недель
Эритробласты %	0,35±0,04	0,42±0,03	0,48±0,07	0,36±0,04	0,42±0,04
Прозэритробласты %	0,42±0,03	0,41±0,06	0,37±0,03	0,40±0,04	0,36±0,05
Базофильные эритробласты %	3,6±0,3	4,2±0,4	3,3±0,2	3,6±0,5	3,9±0,3
Полихроматофильные эритробласты %	13±1	12±1	13±1	13±1	13±1
Оксифильные эритробласты %	14±1	13±1	13±1	14±1	15±1
Лимфоциты %	21±1	23±2	21±1	21±2	21±1
Моноциты %	7,3±0,5	12±0,5	11±0,4	9,8±0,7	9,9±0,5

Плазматические клетки %	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Ретикуло-эндотелиальные клетки %	1,2±0,1	1,0±0,1	1,2±0,1	1,1±0,1	1,2±0,1
Прочие клетки %	0,55±0,05	0,57±0,04	0,48±0,04	0,47±0,05	0,48±0,03
Миелобласты %	0,41±0,05	0,57±0,04	0,38±0,04	0,43±0,06	0,46±0,05
Промиелоциты %	0,57±0,05	0,51±0,08	0,43±0,05	0,39±0,05	0,41±0,04
Миелоциты %	3,4±0,4	4,1±0,4	4,3±0,5	4,2±0,3	4,5±0,3
Метамиелоциты %	4,4±0,4	4,2±0,5	4,5±0,5	4,4±0,5	4,6±0,5
Палочкоядерные нейтрофилы %	7,9±0,6	7,8±0,7	7,4±0,5	7,8±0,5	7,7±0,6
Сегментоядерные нейтрофилы %	20±1	18±1	17±1	18±2	17±1
Базофилы %	0,33±0,01	0,51±0,02	0,43±0,02	0,44±0,02	0,44±0,03
Эозинофилы %	1,21±0,04	0,86±0,06	0,92±0,09	1,12±0,08	0,96±0,05
Лейко-эритробластическое отношение	2,4±0,11	2,3±0,2	2,3±0,1	2,3±0,1	2,2±0,1

Гендерных отличий в миелограмме крыс не отмечено. Полученные в нашей лаборатории данные хорошо совпадают с литературными данными (Гольдберг Д.И., 1973, Veterinary hematology..., 2010).

Типичная миелограмма кроликов породы Советская шиншилла

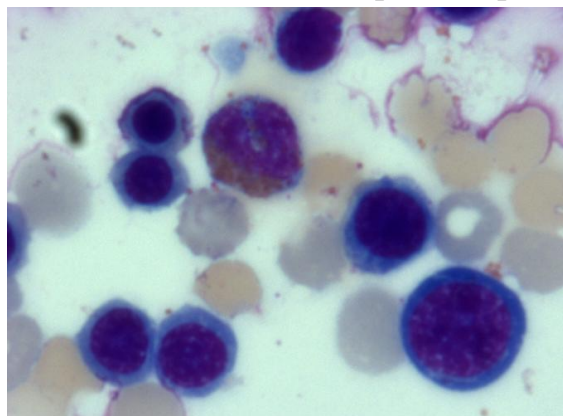


Рис. 24 Мазок костного мозга кролика породы Советская шиншилла. Прозеритробласт. Полифроматофильные нормобласты и палочкоядерный эозинофил. Ув.1000. Окуляр (10), объектив (100).

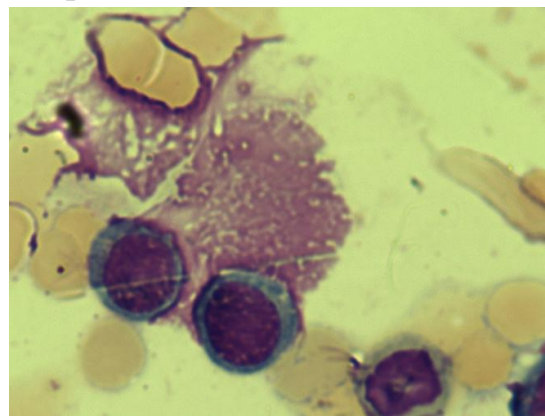


Рис. 25 Мазок костного мозга кролика породы Советская шиншилла. Лимфоциты. Ув.1000. Окуляр (10), объектив (100).

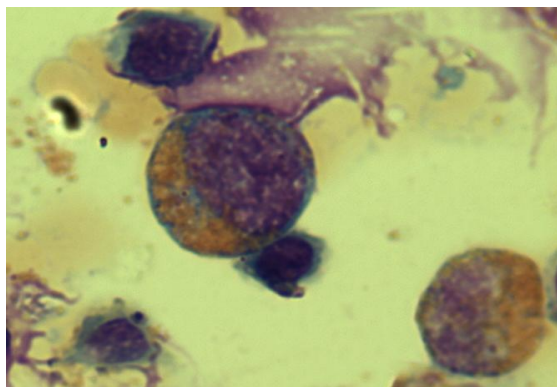


Рис. 26 Мазок костного мозга кролика породы Советская шиншилла. Эозинофильный миелоцит и эозинофильный метамиелоцит. Ув.1000. Окуляр (10), объектив (100).

В таблице представлены данные миелограмм кроликов породы Советская шиншилла.

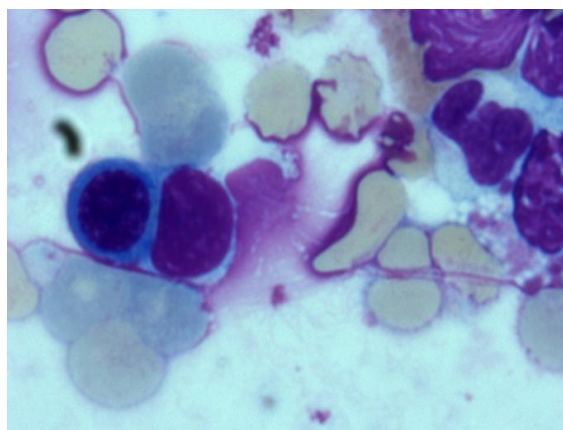
Таблица 53 – Миелограмма кроликов породы Советская шиншилла ($M \pm m$, $n=32$)

Исследуемые показатели	Самцы	Самки
Эритробласты %	$0,21 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,03$
Прозеритробласты %	$0,56 \pm 0,04$	$0,52 \pm 0,03$
Базофильные эритробласты %	$5,6 \pm 0,4$	$5,5 \pm 0,4$
Полихроматофильные эритробласты %	19 ± 1	18 ± 1
Оксифильные эритробласты %	16 ± 1	17 ± 1
Лимфоциты %	14 ± 1	13 ± 1
Моноциты %	$1,7 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$
Плазматические клетки %	$0,26 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,03$
Ретикуло-эндотелиальные клетки %	$1,14 \pm 0,03$	$1,08 \pm 0,04$
Прочие клетки %	$0,35 \pm 0,04$	$0,31 \pm 0,03$
Миелобласты %	$0,68 \pm 0,04$	$0,75 \pm 0,03$
Промиелоциты %	$0,62 \pm 0,02$	$0,66 \pm 0,03$
Миелоциты %	$3,4 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,4$
Метамиелоциты %	$7,2 \pm 0,2$	$7,5 \pm 0,5$
Палочкоядерные нейтрофилы %	22 ± 1	24 ± 1
Сегментоядерные нейтрофилы %	$5,8 \pm 0,3$	$6,1 \pm 0,2$
Базофилы %	$0,57 \pm 0,06$	$0,48 \pm 0,05$
Эозинофилы %	$2,2 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,4$
Лейко- эритробластическое отношение	$1,4 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$

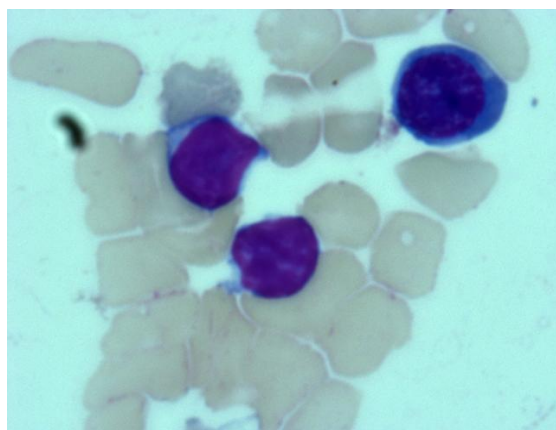
Гендерных отличий в миелограмме кроликов не отмечено. В целом, полученные в нашей лаборатории данные совпадают с литературными данными (Гольдберг Д.И., 1973, Veterinary hematology..., 2010).

Типичная миелограмма беспородных морских свинок

Миелобласты отличаются голубой цитоплазмой, нежно структурированным ядром с одним или несколькими ядрышками. Цитоплазма промиелоцитов содержит грубую азурофальную зернистость. В цитоплазме нейтрофильных миелоцитов обнаруживается скудная мелкая зернистость. В более зрелых элементах грануляция более обильна. Гранулы эозинофильных форм обильные, грубые, ярко окрашены в красный цвет. Клетки лимфоидного ростка хорошо определяются, наряду с малыми лимфоцитами встречаются клетки в 1,5—2 раза крупнее. В аганулоцитах с тельцами Курлова ядро клеток чаще располагается несколько эксцентрически. Со стороны эритроидного ростка доминируют полихроматофильные формы, на втором месте — базофальные эритробласты.



а



б

Рис. 27 Мазок костного мозга морской свинки. а) Базофильный нормобласт
б) Лимфоциты и базофильный нормобласт. Ув.1000. Окуляр (10), объектив (100).

ХАРАКТЕРИСТИКА АНАЛИЗА МОЧИ

(А.В. Абрашова, А.П. Соколова)

Методы исследования мочи

Для сбора мочи крыс помещают в индивидуальные клетки, как правило, на 4 часа.

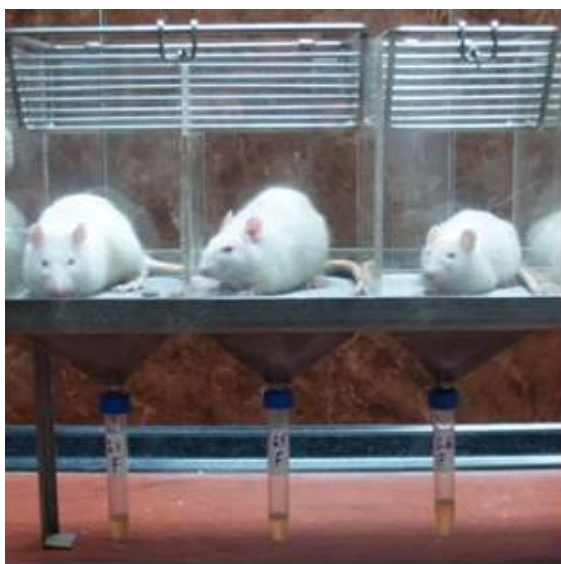


Рис. 28. Сбор мочи в индивидуальных клетках

В полученных образцах мочи помощью тест-полосок Uriscan определяют следующие показатели: количество эритроцитов, билирубина, уробилиногена, кетоновых тел, белка, нитритов, глюкозы, лейкоцитов, концентрацию аскорбиновой кислоты, pH, относительную плотность.



Рис. 29. Тест-полоски Uriscan



Рис. 30. Готовые к регистрации
показателей тест-полоски

Полоску полностью погружают в мочу на 2-3 с, через 1-2 минуту сравнивают цветовое окрашивание реакгентной зоны тест-полоски с цветовой шкалой на

упаковке. Все значения тест-полосок регистрируют в течение 60 с, а количество лейкоцитов не ранее, чем через 2 минуты.

Далее исследуемую мочу переливают в чистую сухую промаркированную пробирку и центрифугируют при 2000 об./мин 10 мин. Надосадочную жидкость сливают, осадок наносят на предметное стекло и изучают сначала при увеличении 100, затем при увеличении 400. При микроскопии определяют организованные и неорганизованные осадки мочи. К организованным компонентам мочи относят эритроциты, лейкоциты, эпителий. К неорганизованным компонентам относят соли. Запись результатов производят по среднему количеству элементов в 10-15 полях зрения.

Нормальные показатели анализа мочи

Таблица 54 - Анализ мочи у крыс, n=60

Дни введения	Самцы	Самки
Диурез за 4 часа, M±m	1,1±0,04	1,2±0,02
	(Me(Q1;Q2))	
Кровь, Rbc/μL	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Билирубин, мг/100мл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Уробилиноген, мг/100мл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;1,0)
Кетон, mg/100ml	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Белок, мг/100мл	0,0 (0,0;10,0)	0,0 (0,0;10,0)
Нитриты	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Глюкоза, мг/100мл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
pH	7,0 (6,0;7,0)	7,0 (7,0;7,0)
Относительная плотность	1,025 (1,025;1,030)	1,020 (1,020;1,025)
Лейкоциты, в 1 мкл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Аскорбиновая кислота, мг/100мл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;10,0)

Таблица 55 - Анализ мочи у мышей, n=90

Дни введения	Самцы	Самки
Диурез за 4 часа, M±m	0,42±0,02	0,58±0,03
	(Me(Q1;Q2))	
Кровь, Rbc/μL	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Билирубин, мг/100мл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Уробилиноген, мг/100мл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;1,0)
Кетон, mg/100ml	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Белок, мг/100мл	0,0 (0,0;10,0)	0,0 (0,0;10,0)
Нитриты	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Глюкоза, мг/100мл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
pH	6,6 (6,0;7,0)	7,0 (7,0;7,0)
Относительная плотность	1,024 (1,024;1,030)	1,019 (1,019;1,025)
Лейкоциты, в 1 мкл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)
Аскорбиновая кислота, мг/100мл	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)

При микроскопировании осадка содержание форменных элементов (эритроцитов, лейкоцитов) подсчитывают в нескольких полях зрения на большом увеличении микроскопа. Обычно просматривают 10 – 15 полей зрения. У здоровых животных эритроциты в моче не обнаруживаются. Количество лейкоцитов составляет не более 2 – 4 в поле зрения, что сопоставимо с литературными данными (Трахтенберг И.М., 1991).

Для оценки содержания других элементов, например, бактерий, в клинике принято давать оценку "большое", "умеренное", "небольшое" или "незначительное" количество или присваивать баллы. В нашей лаборатории используется бальная система. Критерии подсчета: 0 - 1 в п/зр. (10-15 просмотренных полей) соответствует 1 баллу, от 2 до 5 клеток в п/зр. - 2 балла, от 6 до 10 клеток в п/зр. - 3 балла, от 11 до 20 клеток в п/зр. - 4 балла, свыше 20 в п/зр. - 5 баллов. В норме моча стерильна, поэтому бактерий в осадке быть не должно. Однако, как правило, незначительное количество бактерий у всех подопытных животных обнаруживается, что связано с нестерильными условиями забора мочи, а также с невозможностью гигиенической обработки наружных половых органов у животных. Эпителиальные клетки встречаются в осадках мочи крыс от единичных в препарате до единичных в поле зрения, что соответствует физиологической норме [Трахтенберг И.М., 1991].

В норме соли в осадках мочи не обнаруживаются, однако при применении лекарственных препаратов или диеты, приводящих к изменению рН мочи, осадок может наблюдаться.



Рис. 31 Микроскопия осадка мочи крысы не содержащего солей

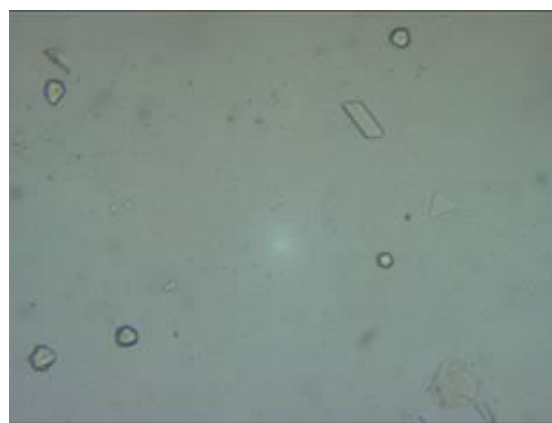


Рис. 32 Микроскопия осадка мочи крысы, содержащего минимальное количество кристаллов

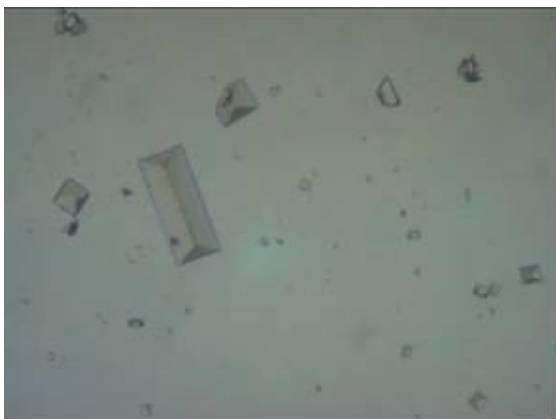


Рис. 33 Микроскопия осадка мочи крысы, содержащего небольшое количество кристаллов



Рис. 34 Микроскопия осадка мочи крысы, содержащего значимое количество кристаллов

Характер кристалла (т.е. форма минеральных кристаллов) используется как указатель его структуры. Оценка кристаллов может помочь в выявлении состояний, которые предрасполагают к образованию уролитов, а так же в анализе минерального состава существующих уролитов и определении эффективности терапии, направленной на их разрушение или предотвращение их образования. У лабораторных животных в норме может обнаруживаться небольшое количество магнeзии фосфата аммония (струвита). Струвит - бесцветные призмы с 3-6 сторонами, которые чаще встречаются в слабокислой или щелочной моче, появление струвита может быть связано со струвитными камнями и инфекцией уреазопродуцирующими бактериями. Реже при микроскопии осадка мочи могут обнаруживаться другие кристаллы: оксалат кальция, фосфат кальция, урат аммония, мочевые кислоты, билирубин, холестерин и др. (Уиллард М.Д. и др., 2004)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ежегодно в нашей стране на экспериментальные цели расходуется огромное количество лабораторных животных, при этом повышаются требования к качеству лабораторных животных, к стандартизации их как объекта исследования.

Понимание исходного состояния животных, полученных из питомника, составление паспорта здоровья животных, позволят избежать многих ошибок еще на этапе планирования эксперимента.

В процессе проведения доклинических исследований, при анализе полученных данных главную трудность представляет оценка возникающих сдвигов, их интерпретация и сопоставление с биологической нормой - соответствующими биометрическими, физиологическими, биохимическими, гематологическими показателями. Именно такое сопоставление позволяет специалистам делать выводы о характере и степени изменений, развивающихся в организме под влиянием условий эксперимента.

Приведенные данные относительно нормальных биометрических, физиологических, биохимических, гематологических показателей у лабораторных животных, не охватывают во всей полноте данную тему. Однако авторы надеются, что данный труд окажется полезным для исследователей в области токсикологии, фармакологии, ветеринарии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрашова Т.В., Соколова А.П., Селезнева А.И., Хуттунен О.Э., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Вариабельность биохимических и гематологических показателей у лабораторных крыс в зависимости от линии и возраста // Международный вестник ветеринарии. – 2010, №2 С.55-60.
2. Балынина Е.С, Березовская И.В. Сравнительная оценка методов определения ориентировочной реакции крыс в токсикологическом эксперименте // Фарм. и токсикол. — 1976. — № 5. — С. 635-638.
3. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: "Ньюдиамед-АО", 2001. - 296 с.
4. Гамбарян П.П., Дукельская Н.М. Крыса. М.: Из-во «Советская наука», 1955. -254 с.
5. Гольдберг Д.И., Гольдберг Е.Д., Шубин Н.Г. Гематология животных. Из-во Томского университета. –Томск. -1973. – 182 с.
6. Кабак Я.М. Практикум по эндокринологии. Основные методики экспериментально-эндокринологических исследований. - М. Издательство Московского университета 1968 г.- 276 с.
7. Карадулева Е.В, Вихлянцев И.М., Подлубная З.А. Экспрессия тайтина в миокарде спонтанно-гипертензивных крыс при развитии гипертрофии // Биофизика. -2010. –Т. 55. №. 4. -С. 612-618.

8. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования. М.: Из-во ВПК, 2005, 608 с.
9. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии. Справочник./ Под ред. проф. Том 1- С-Пб: Интермедика. - 2002. - 408 с.
10. Кигель Т.Б., Харабаджахьян А.В., Новодержкина Ю.Г., Душкин В.А. Содержание общего белка и белковых фракций в сыворотке крови конвенциональных неинбредных лабораторных крыс. Методическое руководство. М. - 1981. - с. 24.
11. Кирющенко А.П., Тараховский М.Л. Влияние лекарственных средств на плод. М. 1990. 271 с.
12. Кобалова Ж.Д. Эволюция комбинированной антигипертензивной терапии: от многокомпонентных высокодозовых свободных комбинаций до низкодозовых фиксированных комбинаций как средств первого выбора // Российский Медицинский Журнал. -2001. –Т. 9, № 18.
13. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. проф. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987.
14. Луценко М.Т. Гепатоэнтеральная рециркуляция холестерина // Бюллетень СО РАМН. -2006. –Т. 120, № 2. –С. 23-28.
15. Малинин М.Л. и др. Половые различия по биохимическим показателям крови у разных видов лабораторных животных // Известия Саратовского университета. - 2008. - Т.8, вып.1. – С. 51-54.
16. Маршалл Дж. Клиническая биохимия/ Пер.с англ. - М.-СПб.: "Издательство Бином"- "Невский Диалект", 1999. -368 с.
17. Медведев В.В., Волчек Ю.З. Клиническая лабораторная диагностика. Справочник для врачей. Под ред. В.А.Яковлева. Издат."Гиппократ" СПб 1995.
18. Методические указания по использованию поведенческих реакций в токсикологических исследованиях». Составители: Буркацкая Е. Н., Витер В. Ф. и др.— Киев, 1980.— 47 с.
19. Мурашко В.В., Струтынский А.В. Электрокардиография: учебное пособие. 8-е изд М.: МЕДпресс-информ. 2007. 320с.

20. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Анатомия крысы (Лабораторные животные)/Под ред. Академика А.Д. Ноздрачева. СПб. Из-во «Лань», 2001. 464 с. (Учебники для ВУЗов. Специальная литература).
21. Орлов В.Н. Руководство по электрокардиографии. М.: Медицина. 1983. 528с.
22. Пошивалов В.П. Этологический атлас для фармакологических исследований на грызунах (мыши, крысы). Рукопись депонирована в ВИНТИ 26 июля 1978 г., N 3164-78 деп., 43 с.
23. Проблема нормы в токсикологии / Под ред. проф. И.М. Трахтенберга. — М.: Медицина, 1991. — 204 с.
24. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
25. Соколова А.П., Абрашова Т.В., Хуттунен О.Э., Селезнева А.И., Макарова М.Н., Макаров В.Г. сравнительная характеристика биохимических и гематологических показателей у лабораторных крыс разных линий и возрастов // Международный вестник ветеринарии. – 2010, №2 С.58-62.
26. Уиллард М.Д., Торнвальд Т.Г., Грант Г. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных/Под редакцией д.б.н. В.В. Макарова. - М: ООО «Аквариум Бук», 2004. 432с.:ил.
27. Allain C.C., Poon L.S., Chan C.S.G., Richmond W., Fu P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol// Clin Chem. -1974. –Vol. 20. –P. 470-475.
28. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 3: IFCC Method for Alanine Aminotransferase (EC 2.6.1.2) // J. Clin Chem Clin Biochem. -1986. –Vol. 24. –P. 481-495.
29. Arribas S.M., Gordon J.F., Daly C.J., Dominiczak A.F., McGrath J.C.. Confocal Microscopic Characterization of a Lesion in a Cerebral Vessel of the Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat. - Stroke. 1996. – v.27. – p.1118-1123
30. Bartels H., Böhmer M. Eine mikromethode zur kreatininbestimmung //Clin Chim Acta. -1971. –Vol. 32. –P. 81-85.
31. Bucolo G., David H. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes// Clin Chem. -1973. –Vol. 19. –P. 476-482.

32. Burtis A. et al. Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
33. Chatterjee I.B., Kar N.C., Ghosh N.C., Guha B.C. Aspects of ascorbic acid biosynthesis in animals // Ann. NY Acad Sci. – 1961. - № 92. – P. 36-56.
34. Clinical Hematology: principles, procedures, correlations / eds. E. Anne Stiene — Martin, Cheryl A. Lotspeich-Steininger. New York : Lippincott. 1997. — P. 114–117.
35. Cohen S.M., Ellwein L.B. Cell proliferation in carcinogenesis// Science. -1990. – Vol. 249. –Vol. –P. 1007-1011.
36. Cottet M.J. et al. Dosage des lipides sriques par la mǐthode sulfo-phosphovanillique (1) de E Chabrol et R. Charonnat// Acadǐmie National de Mǐdicine. - 1965. –Vol. 149. –P. 331-338.
37. Current protocols in pharmacology. Series editor Gwan P. Taylor. John Wiley&Sons. Inc. -2009.
38. Devynck M.A., Pernollet M.G., Nunez A.M., Aragon I., Montenay-Garestier T., Helene C., Meyer P. Diffuse structural alterations in cell membranes of spontaneously hypertensive rats // Proc Natl Acad Sci USA. -1982. –Vol. 79(16). –P. 5057-5060.
39. Dietz R., Schömig A., Dart A.M., Kübler W. Possible mechanisms of action of potassium in arterial hypertension // Arch Mal Coeur Vaiss. -1984. _vol. 77, № 73. –P. 9.
40. Dumas B.T., Watson W.A., Biggs H.G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green// Clin Chim Acta. -1971. –Vol. 31. –P. 87-96.
41. Fabiny D.L., Ertingshausen G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with CentrifChem // Clin Chem. -1971. -Vol. 17. -P. 696-700.
42. Fossati P., Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide // Clin Chem. -1982. –Vol. 28. –P. 2077-2080.
43. Fregly M.J. Thyroid activity of spontaneous hypertensive rats // Proc Soc Exp Biol Med. -1975. –Vol. 149(1). –P. 124-132.
44. Friedman R.B., Young D.S. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

45. Gella F.J., Olivella T., Cruz Pastor M., Arenas J., Moreno R., Durban R., Gómez J.A. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate// Clin Chim Acta. -1985. – Vol. 153. –P. 241-247.
46. Gordon C.J. Thermal biology of the laboratory rat // Physiol. Behav. - 1990. - V.47. - V 5. - P. 963-991.
47. Gornall A.G., Bardawill C.S., David M.M. Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction// J Biol Chem. -1949. –Vol. 177. –P. 751-766.
48. Grobecker G., Roizen M.F., Weise V., Saavedra J.M., Kopin I.J. Letter: Sympathoadrenal medullary activity in young, spontaneously hypertensive rats // Nature. -1975. –Vol. 20. № 258(5532). –P. 267-268.
49. Gutmann I., Bergmeyer H.U. Methods of enzymatic Analysis, ed Bergmeyer H.U., Academic Press, NY. -1974. –Vol. 4. –P. 1794-1798.
50. Hall C.S. The method of open field // J. Comparative Psychology. -1934. –Vol. 17. –P. 89.
51. Harkness J.E., Wagner J.E. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents, 2nd edition. Philadelphia: Lea & Febiger, 1983.
52. Hofstetter J., Suckow M.A., Hickman D.L. Morphophysiology. Chapter 4 in book: The laboratory rat. Edited by Suckow M.A., Weisbroth S.H., Franklin C.L. Elsevier Academic Press, USA. -2006. –pp. 929.
53. Hubert F. Minerals in renal and SHR hypertensive rats// Biological Trace Element Research. Humana Press Inc. -1989. – 99pp.
54. Hudelson K.S. Exotic companion medicine handbook for veterinarians. Zoological education network. 2008.
55. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7: IFCC method for creatine kinase// JIFCC. -1989. –Vol. 1. –P. 130-139.
56. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 5: IFCC methods for alkaline phosphatase// J Clin Chem Clin Biochem. -1983. –Vol. 21. –P. 731-748.
57. Kaplan A. et al. Lipids. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 918-919.

58. Kohn D.F., Barthold S.W. Biology and diseases of rats. In: Laboratory Animal Medicine, ed. Fox J.G., Cohen B.J., Loew F.M. Orlando, FL: Academic Press, Inc., 1984, pp. 91-122.
59. Krinsky N.I., Mathews-Roth M.M., Welankiwar S., Sehgal P.K., Lausen N.C.G., Russett M. The metabolism of [14C]beta-carotene and the presence of other carotenoids in rats and monkeys // J. Nutrition. -1990. –Vol. 120. –P. 81-87.
60. Levy B.M., Dreizen S., Bernick S. Periodontal disease. In: Spontaneous Animal Models of Human Disease, Volume I, ed. Andrews EJ, Ward BC, Altman NH. New York: Academic Press, Inc., 1979, pp. 4-10. 24. Briggs G.B., Oehme F.W. Toxicology. In: The Laboratory Rat, Volume II, pp. 103-18.
61. Lindsey J.R. Historical foundations. In: The Laboratory Rat, Volume I, Biology and Diseases, ed. Baker H.J., Lindsey J.R., Weisbroth S.H. New York: Academic Press, Inc., 1979, pp. 1-36.
62. Mäkanjuola R.O., Hill G., Dow C., Campbell G., Asshcroft G.W. The effects of psychotropic drugs on exploratory and stereotyped behaviour of rats studied on a Hole-Board //J. Psychopharmacol. — 1977.-V. 55.-P. 67-74.
63. Meiattini F., Prencipe L., Bardelli F., Giannini G., Tarli P. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone chromogenic system used in the enzymic determination of serum cholesterol// Clin Chem. -1978. –Vol. 24. –P. 2161-2165.
64. Merskey H., Bogduk N. Classification of Chronic Pain, Second Edition, IASP Task Force on Taxonomy // IASP Press, Seattle - 1994, pp. 209-214.
65. Methods for Reticulocyte Counting (Automated Blood Cell Counters, Flow Cytometry, and Supravital Dyes); Approved Guideline. — 2nd ed. — Vol. 24, № 8. 5. Алексеев Н. А. Анемии / Н. А. Алексеев. — СПб. : Гиппократ, 2004. — 512 с.
66. Meyer P., Marche P. Cell membrane in hypertension //Am J Med Sci. -1988. – Vol. 295(4). –P. 396-9.
67. Michaylova V., Illkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with Arsenazo III// Anal Chim Acta. -1971. –Vol. 53. –P. 194-198.
68. Morton JJ, Beattie EC, Griffin SA, MacPherson F, Lyall F, Russo D. Vascular hypertrophy, renin and blood pressure in the young spontaneously hypertensive rat. - Clinical Science. –1990. –Vol.79. –P. 523–530.

69. National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance// *Diabetes*. -1979. –Vol. 28. –P. 1039-1057.
70. Navia J.M., Narkates A.J. Dental research. In: *The Laboratory Rat, Volume II, Research Applications*, ed. Baker H.J., Lindsey J.R., Weisbroth S.H. New York: Academic Press, Inc., 1980, pp. 59-74.
71. Ognibene D.T., Moss M.B., Matsuura C., Brunini T.M., de Moura R.S., Mendes-Ribeiro A.C., Resende A.C. Characterization of the L-arginine-NO-cGMP pathway in spontaneously hypertensive rat platelets: the effects of pregnancy// *Hypertens Res*. -2010. –Vol. 33(9). –P. 899-904.
72. Okamoto K, Yamori Y, Nagaoka A. Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR)// *Circ Res*. -1974. –Vol. 34(35). -P. 143–153.
73. Okamoto K., Tabei R., Yamori Y. Ooshima A. Spontaneously hypertensive rat as a useful model for hypertension research // *Jikken Dobutsu*. -1973. Vol. 22 Suppl (0). –P. 289-298.
74. Okamoto K., Yamori Y., Nosaka S., Ooshima A. Hazama F. Studies on hypertension in spontaneously hypertensive rats // *Clin Sci Mol Med Suppl*. -1973. –Vol. 45. -Suppl 1. –P. 11s-4.
75. Olsen J.A. Serum levels of vitamin A and carotenoids as reflectors of nutritional status// *JNCI*. -1984. –Vol. 73(6). –P. 1439-1444.
76. Pearlman F.C., Lee R.T.Y. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents// *Clin Chem*. -1974. –Vol. 20. –P. 447-453.
77. Pellow S., Chopin P., File S. E., Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus- maze as a measure of anxiety in the rat // *J. Neurosci*. — 1985. — V. 14(3). — P. 149-167.
78. Porsolt R.D. Animal model of depression// *Biomed*. - 1979. - V. 30(3). - P. 139-140.
79. Pullen A.H. A parametric analysis of the growing CFHB (Wistar) rat // *J. Anat*. - 1976. –Vol. 121, № 2. –P. 371-383.

80. Ribaya-Mercado J.D., Holmgren S.C., Fox J.G., Russell R.M. Dietary beta-carotene absorption and metabolism in ferrets and rats// J. Nutrition. -1989. –Vol. 119. –P. 665-668.
81. Rogers L.J., Bolden S.W., Patrech A.S., Ehrlich D. Visual dysfunction in the spontaneously hypertensive rat // Physiol Behav. -1993. –Vol. 54(5). –P. 903-907.
82. Scientific Committee. Recommendations pour la mesure de la concentration catalytique de la lactate deshydrogenase dans le serum humain a 30°C.// Ann Biol Clin. -1982. –Vol. 40. –P. 187-164.
83. Sewell R.D., Spencer P.S. Antinociceptive activity of narcotic agonist and partial agonist analgesics and other agents in the tail-immersion test in mice and rats // Neuropharmacol. — 1976. — V. 15(11).-P. 683-688.
84. Siguel E.N. Cancerostatic effect of vegetarian diets// Nutrition and Cancer. -1983. –Vol. 4(4). –P. 285-291.
85. Snoeckx L.H., van der Vusse G.J., Coumans W.A., Willemsen P.H., van der Nagel T., Reneman R.S. Myocardial function in normal and spontaneously hypertensive rats during reperfusion after a period of global ischaemia// Cardiovascular Research. -1986. –Vol. 20(1). –P. 67-75.
86. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la alanina aminotransferasa en suero sanguíneo humano// Quim Clin. -1987. –Vol. 6. –P. 241-244.
87. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de lactato deshydrogenasa en suero sanguíneo humano// Quim Clin. -1989. –Vol. 8. –P. 57-61.
88. Stehbens W.E. An appraisal of cholesterol feeding in experimental atherogenesis // Prog Cardiovasc Dis. -1986. –Vol. 29(2). –P. 107-128.
89. Stone K.J., Willis A.L., Hart M., Kirtland S.J., Kernoff P.B.A., McNicol G.P. The metabolism of dihomo-gamma-linolenic acid in man // Lipids. -1979. –Vol. 14(2). –P. 174-180.

90. Swenberg J.A., Short B., Borghoff S., Strasser J., Charbonneau M. The comparative pathobiology of alpha-2u-globulin nephropathy// *Tox. and Appl. Pharm.* -1989. –Vol. 97. –P. 35-46.
91. Swislocki A., Tsuzuki A. Insulin resistance and hypertension: glucose intolerance, hyperinsulinemia, and elevated free fatty acids in the lean spontaneously hypertensive rat // *Am J Med Sci.* -1993. –Vol. 306(5). –P. 282-286.
92. Talke H., Schubert G.E. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut und serum im optischen test nach Warburg // *Klinische Wochenschrift.* -1965. –Vol. 43. –P. 174-175. Tanase H., Suzuki Y., Ooshima A., Yamori Y., Okamoto K. Genetic analysis of blood pressure in spontaneously hypertensive rats // *Jpn Circ J.* -1970. –Vol. 34(12). –P. 1197-1212.
93. Tanase H., Yamori Y., Hansen C.T., Lovenberg W. Heart size in inbred strains of rats. Part 1. Genetic determination of the development of cardiovascular enlargement in rats // *Hypertension.* -1982. –Vol. 4(6). –P. 864-872.
94. Thomas J.N., Kelley M.J., Story J.A. Alteration of regression of cholesterol accumulation in rats by dietary pectin // *Br J Nutrition.* -1984. –Vol. 51. –P. 339-345.
95. Thomas J.N., Kelley M.J., Story J.A. Alteration of regression of cholesterol accumulation in rats by dietary pectin// *Br. J. Nutrition.* -1984. –Vol. 51. –P. 339-345.
96. Tietz N.W. *Clinical guide to laboratory tests*, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
97. Tietz N.W. et al. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed AACCC 1995.
98. Tietz N.W. *Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
99. Tietz N.W. *Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
100. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor// *Ann Clin Biochem.* -1969. –Vol. 6. –P. 24-27.
101. *Veterinary hematology*. Ed. D.J. Weiss, K.J. Wardrop. John Wiley & Sons, Ltd.. -2010.

102. Warnick G.R. Nauck M., Rifai N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays// Clin Chem. - 2001. –Vol. 47. –P. 1579-1596.
103. Werner S.C., Manger W.M., Radichevich I., Wolff M., von Estorff I. Excessive thyrotropin concentrations in the circulation of the spontaneously hypertensive rat // Proc Soc Exp Biol Med. -1975. –Vol. 148(4). –P. 1013-1017.
104. Winsten S, Cehelyk B. A rapid micro diazo technique for measuring total bilirubin // Clin Chim Acta. -1969. –Vol. 25. –P. 441-446.
105. Yamori Y. Animal models for hypertension // Nippon Rinsho. -1984. –Vol. 42(2). –P. 258-270.
106. Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
107. Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
108. Zoppi F., Peracino A., Fenili D., Marcovina S., Ramella C. Metodo per la determinazione della bilirubina totale e coniugata. Uso di un tensioattivo cationico come agente solubilizzante// Giorn It Chim. -1976. –Vol. 1. –P. 343-359.

Подписано в печать 04.04.2013г.
Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 6,7. Тираж 250 экз.
Заказ № 3039.

Отпечатано в ООО «Издательство “ЛЕМА”»
199004, Россия, Санкт-Петербург, В.О., Средний пр., д. 24
тел.: 323-30-50, тел./факс: 323-67-74
e-mail: izd_lemma@mail.ru
<http://www.lemaprint.ru>

Санкт-Петербургский Институт Фармации



Токсикологические
исследования

Оценка
специфической
фармакологической
активности

Разработка
лекарственной
формы

Химико-
аналитические
исследования

(812) 545-2230, (812) 322-5605

e-mail: spbpharm@mail.ru www.ipharm.sp.ru