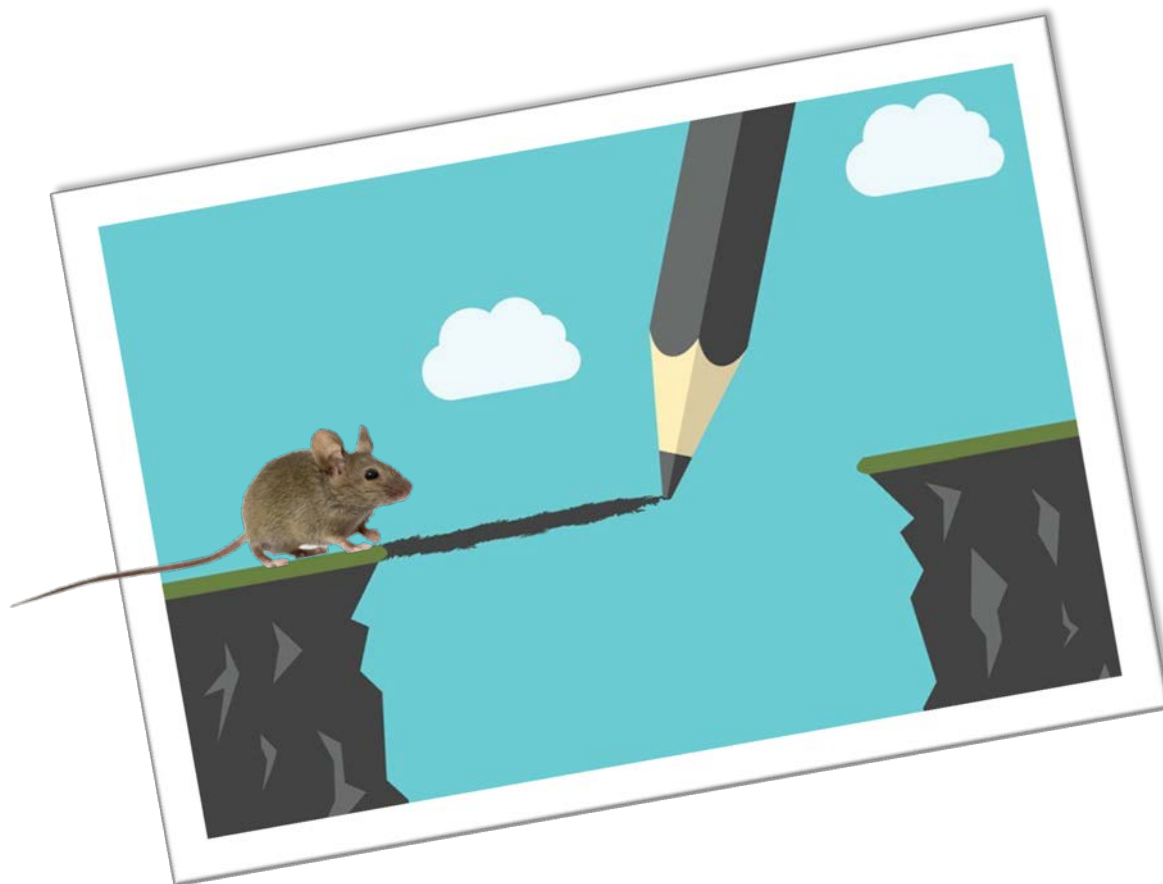


Галагудза М.М.

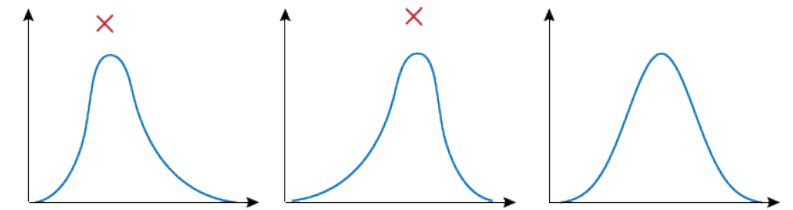
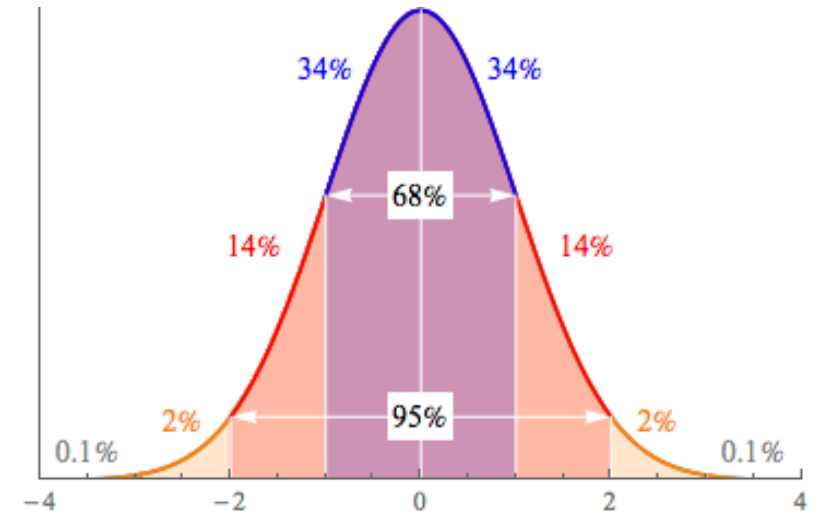
Разновидности референсных интервалов при экспериментировании на животных: зачем держать рамки?



GLP Planet, 30 июня 2022 года

Основные определения

- **Референтный (или референсный) интервал** определяется на референтной выборке лабораторных животных, соответствующих оговоренным критериям, т.е. на группе референтных особей, представляющих референтную популяцию
- **Референтное значение** — это величина параметра у референтной особи
- Совокупность референтных значений формирует **референтное распределение** (нормальное или ненормальное)
- **Референтный интервал** представляет собой 95% центральный диапазон референтных значений, ограниченный верхним и нижним референтными пределами



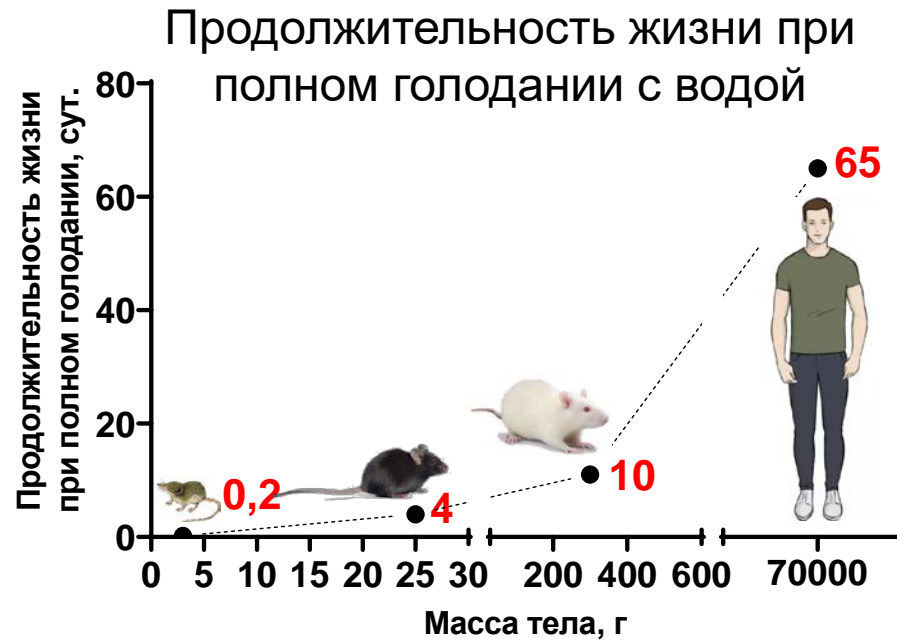
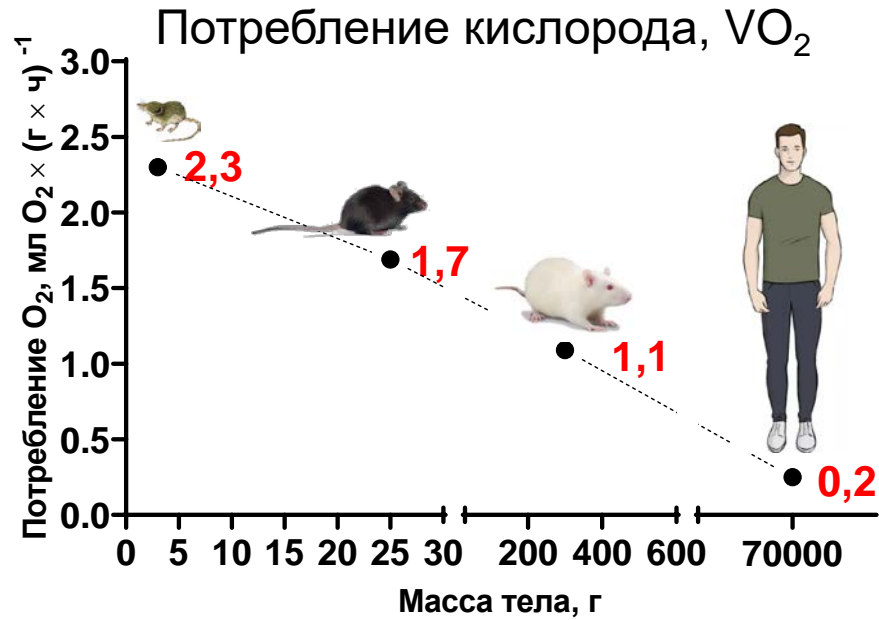
Референтный интервал отражает межиндивидуальную (и внутрииндивидуальную !) биологическую вариацию



Разновидности референтных значений при работе с лабораторными животными

Группа референтных значений	Примеры параметров
Биохимические (кровь, моча, ткани, ...)	<ul style="list-style-type: none">- общий белок- креатинин- мочевины
Гематологические	<ul style="list-style-type: none">- эритроциты- лейкоцитарная формула
Физиологические	<ul style="list-style-type: none">- артериальное давление- жизненная емкость легких- кислотность желудочного сока
Морфологические: <ul style="list-style-type: none">- макроскопические- микроскопические	<ul style="list-style-type: none">- масса тела, массовые коэффициенты, диаметр аорты- «гистологическая норма»
Микробиологические	<ul style="list-style-type: none">- гигиенический статус лабораторных животных

Влияние размера тела на метаболизм и физиологические параметры



Функции референтных интервалов (РИ) при работе с лабораторными животными

- Разграничение «нормы» и «патологии» со стороны «нормы»
- При валидации моделей патологических процессов или заболеваний (*необходимый результат известен*)
- При оценке безопасности лекарственных средств (*сохранение в пределах РИ после воздействия*)
- При оценке эффективности лекарственных средств (*возврат отклоненного значения к нормальному РИ*)
- Для оценки внутрилабораторной воспроизводимости результатов (*РИ сами должны быть воспроизводимыми !*)

Прямой и непрямой методы определения референтных интервалов

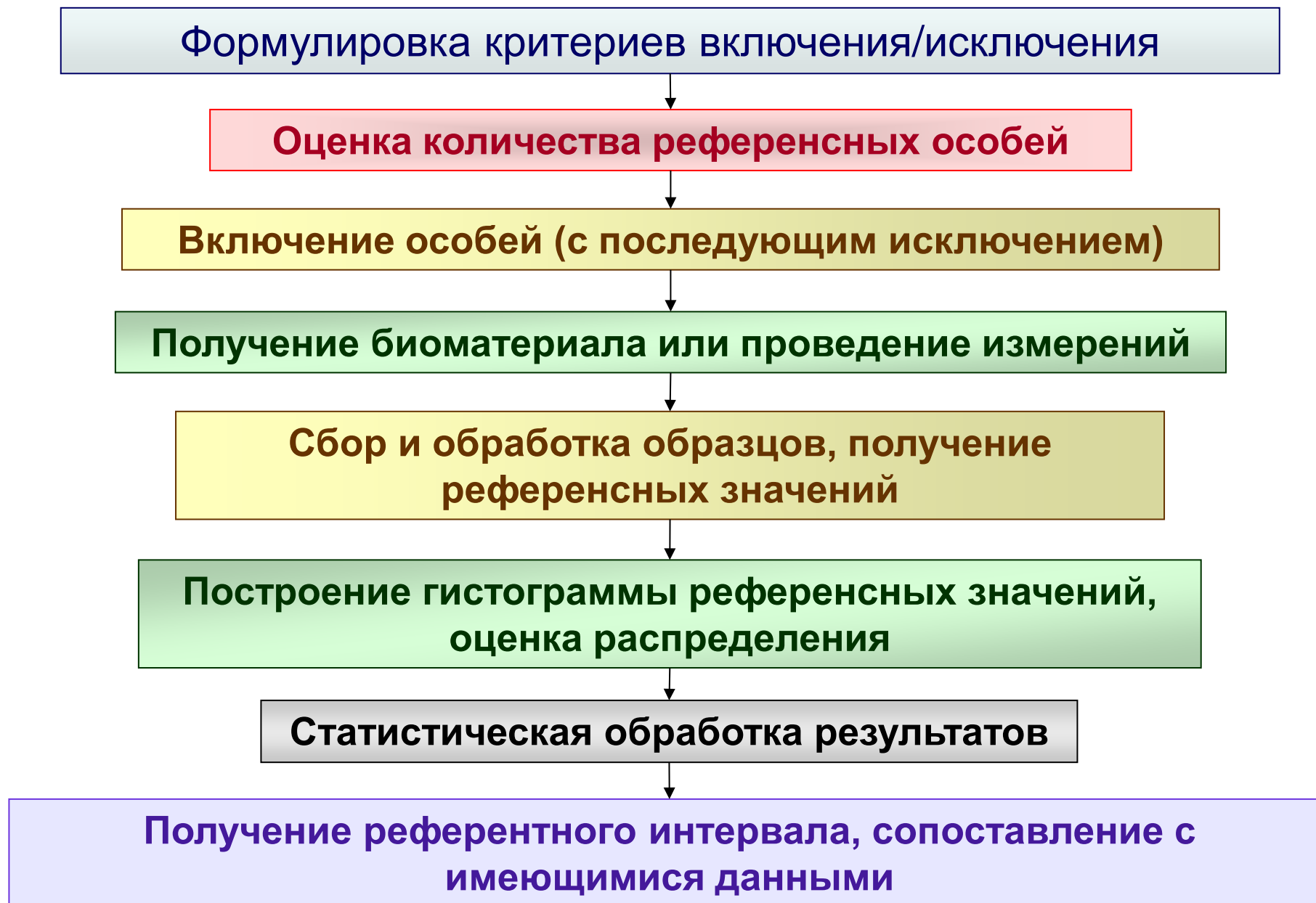
**Прямой метод
(целенаправленный
проспективный набор
референтных значений)**

- **Рекомендован CLSI**
- **Хороший контроль преаналитического и аналитического этапов**
- **Полная информация о референтных особях**
- **Исследователь сам формирует критерии включения**

**Непрямой метод
(ретроспективный
анализ баз данных)**

- **Меньше материальные затраты**
- **Возможна более обширная выборка**
- **Преаналитический и аналитический этапы «ближе к жизни»**

Этапы процесса прямого получения референтных интервалов



Дискуссионные вопросы, связанные с использованием референтных интервалов в науке о лабораторных животных

- Какое количество животных должно составлять референтную выборку?
- Животные какого качества должны формировать референтную выборку?
- Какие факторы влияют на результаты оценки референтных значений?
- Следует ли формировать базу референтных значений в каждом испытательном центре?
- Можно ли вводить референсные интервалы при моделировании патологии («эталон патологии»)?
- Следует ли «бороться» за максимально узкие референсные интервалы?
- ... ?

Какое количество животных должно составлять референтную выборку?

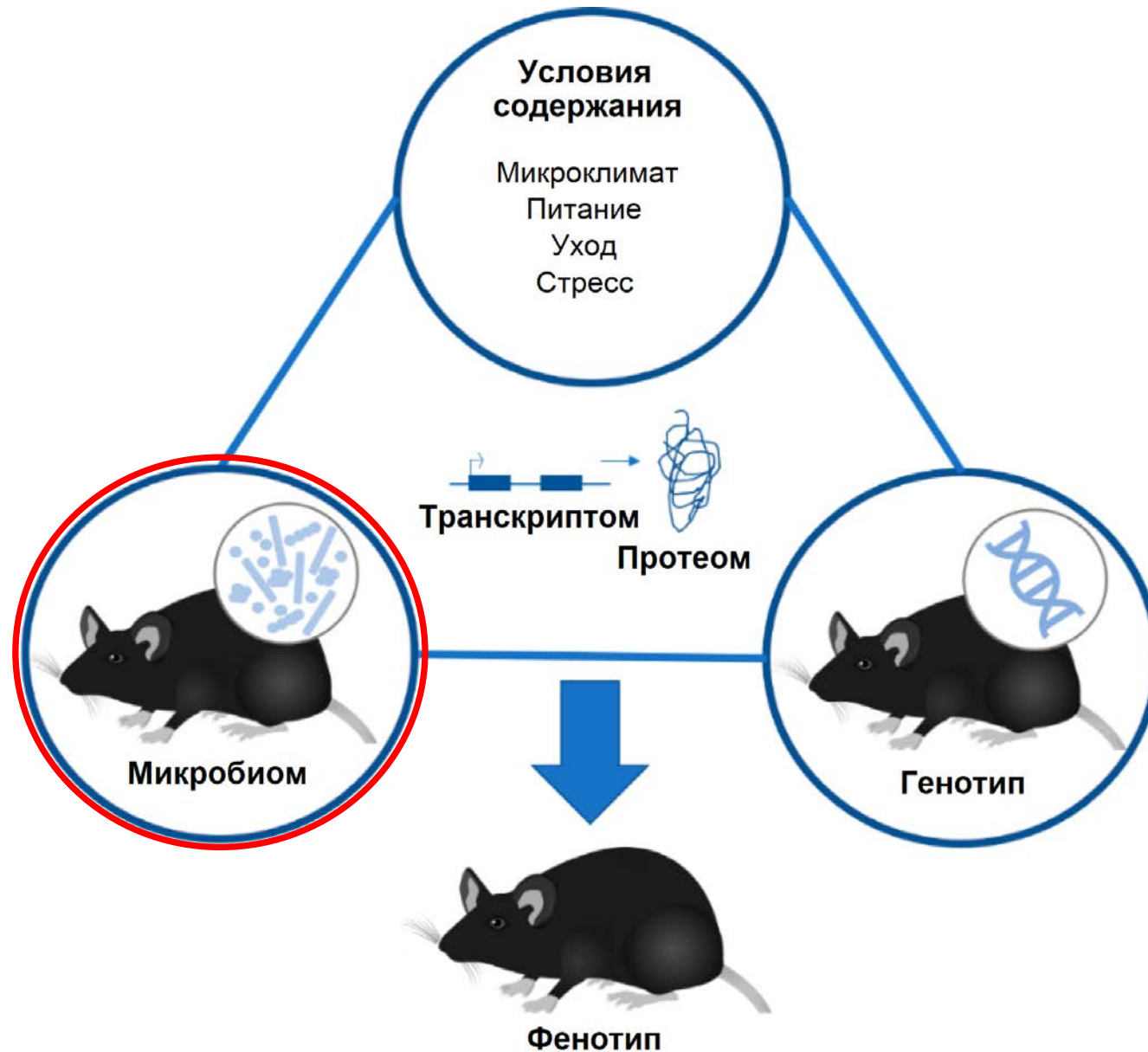
В клинической практике (рекомендации IFCC, 2010):

- непараметрический метод – min 120 значений
- параметрический метод – min 200 значений
- робастный метод – min 80 значений

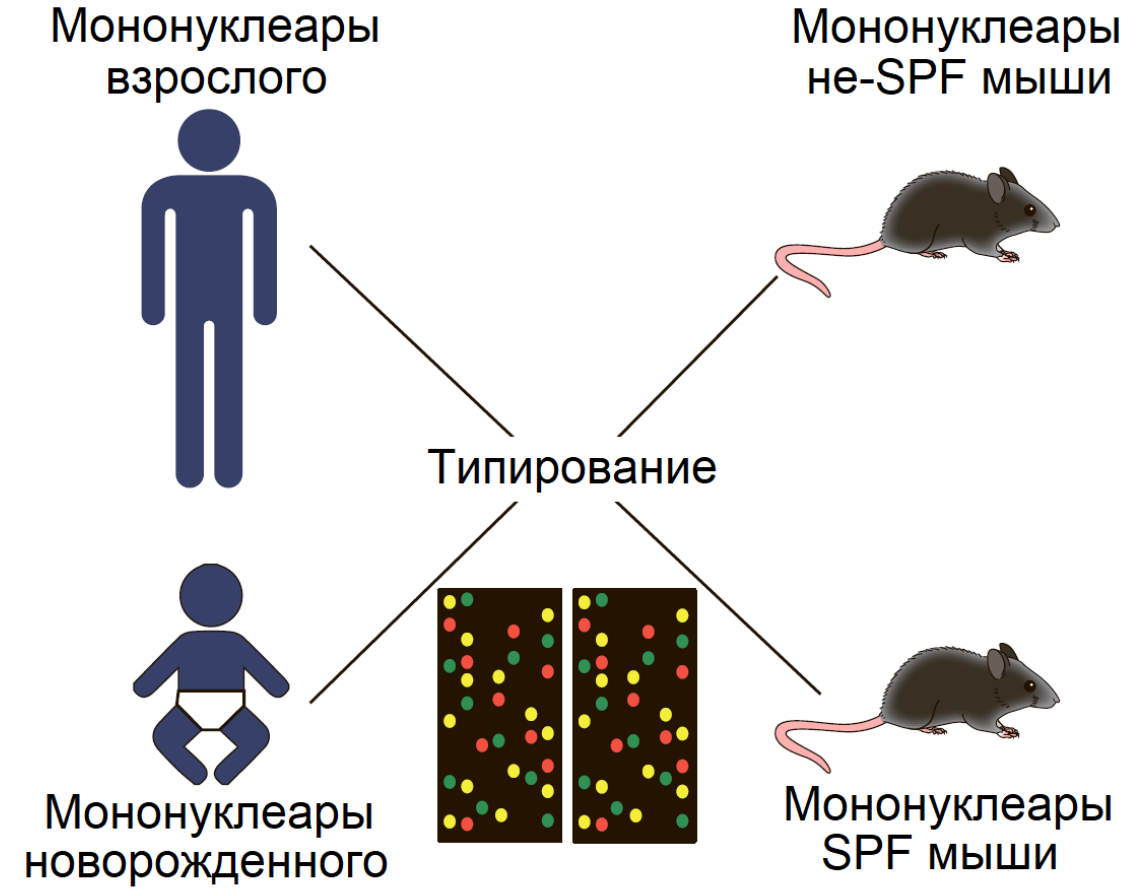
В экспериментальной практике (рандомная подборка):

	Самцы	Самки	Источник
Мыши	220	220	Aleman C.L. et al., 2000
Крысы	250	250	He Q. et al., 2017
Кролики	50	50	Aleman C.L. et al., 2000
Кролики	127	127	Войтенко Н.Г. и соавт., 2020
Собаки	72	48	Aleman C.L. et al., 2000
Мини-свиньи	47	38	Yeom S.-Ch. et al., 2012

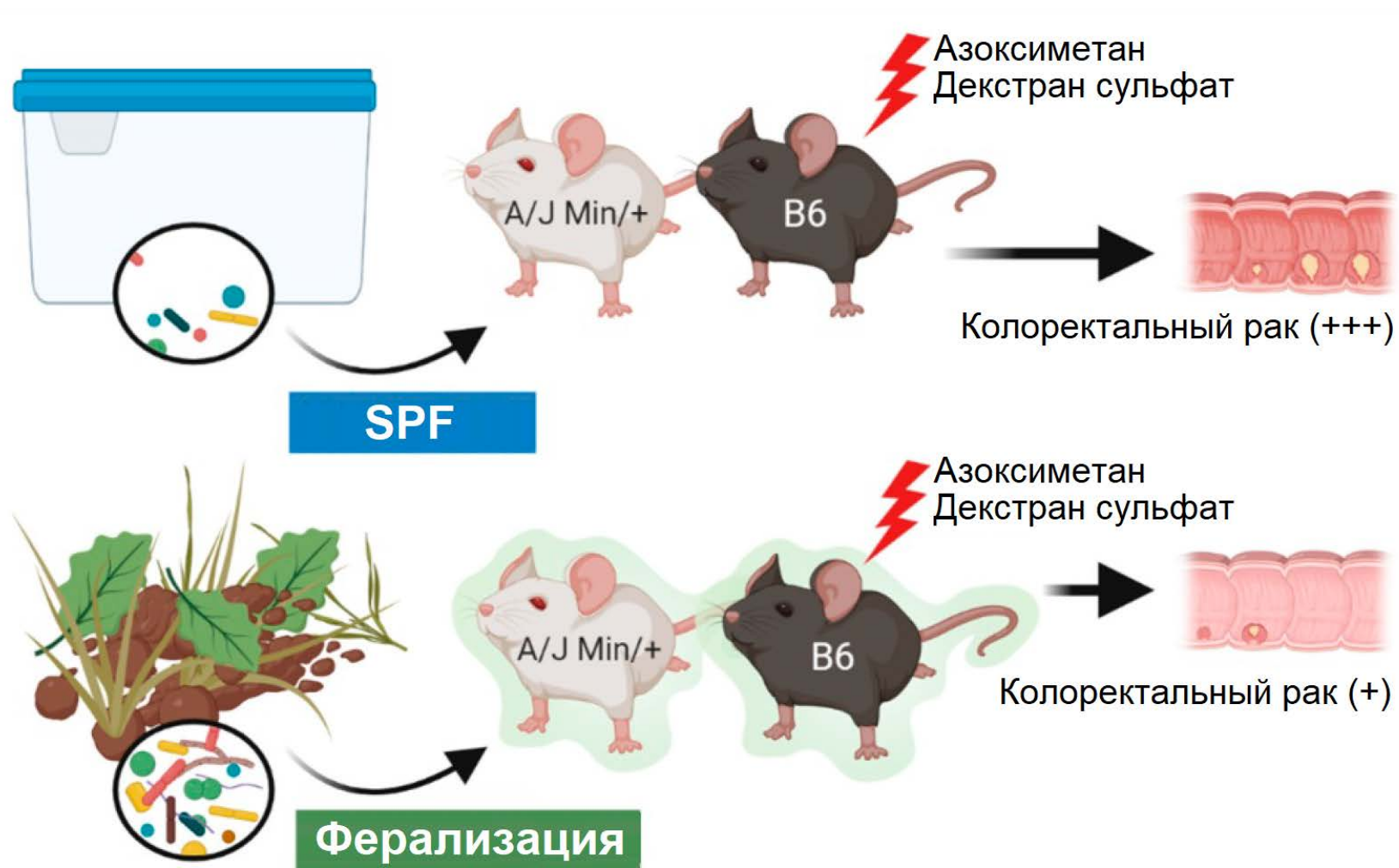
Животные какого качества должны формировать референтную выборку?



Иммунная система SPF животных соответствует иммунной системе новорожденного человека



Микробиологическое “одичание” SPF мышей приводит к уменьшению частоты и выраженности колоректального рака



Приводит ли жесткая стандартизация качества животных к сужению референтных интервалов?

Параметр	Конвенциональные крысы Sprague-Dawley	Крысы Sprague-Dawley SPF категории
Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	9,62 \pm 0,25	13,29 \pm 0,86*
Лимфоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	7,01 \pm 0,17	9,57 \pm 0,85*
Моноциты ($\times 10^9/\text{л}$)	0,51 \pm 0,03	1,39 \pm 0,47
Нейтрофилы ($\times 10^9/\text{л}$)	2,09 \pm 0,10	3,25 \pm 0,33*
Эритроциты ($\times 10^{12}/\text{л}$)	7,17 \pm 0,07	7,36 \pm 0,22*
Тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	168 \pm 16	247 \pm 33*
Гемоглобин, г/л	155,8 \pm 1,4	139 \pm 4,5*
Гематокрит, %	38,17 \pm 0,40	39,82 \pm 1,41*

* - $p < 0,05$ в сравнении с конвенциональными крысами

Источники варибельности референтных интервалов

Биологическая
варибельность



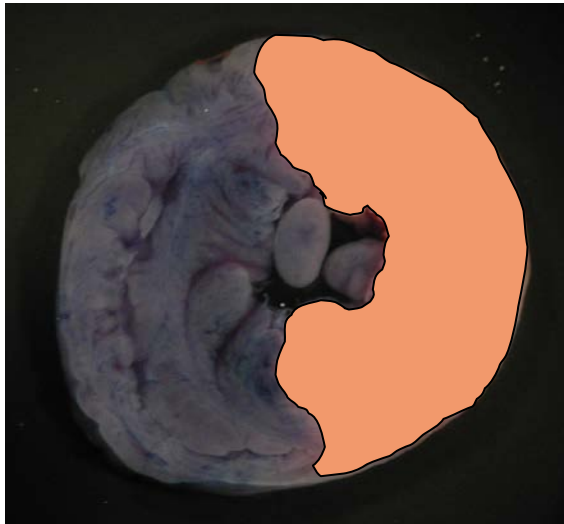
Аналитическая
варибельность

Следует ли формировать базу референтных значений в каждом испытательном центре?

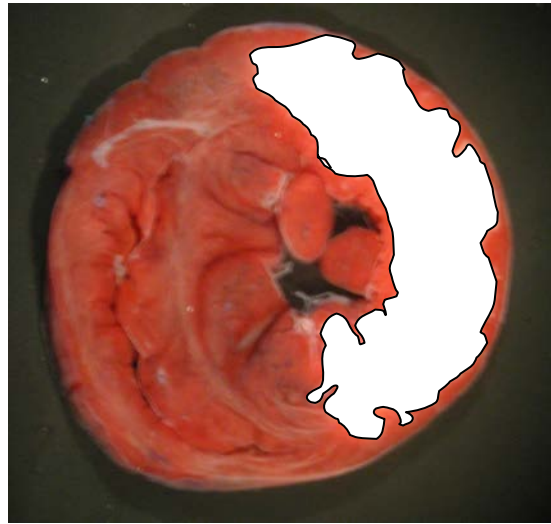
Параметр	Данные литературы		Результат оценки референтного значения	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Креатинин, мкмоль/л	60 - 140	60 - 140	70,4 – 130,4	69,7 – 155,8
Холестерин, ммоль/л	0,2 – 2,3	0,6 – 2,6	0,28 – 1,91	0,53 – 2,33
Общий белок, г/л	54 - 72	51 - 74	44 - 67	45 – 68
Альбумин, г/л	34 - 49	32 - 47	37 - 55	36 – 56
Глобулины, г/л	14 - 34	16 - 33	2,3 – 16,0	1,7 – 18,9
Глюкоза, ммоль/л	6,2 – 22,8	6,9 – 20,0	5,61 – 8,78	5,90 – 9,42
Общий билирубин, мкмоль/л	1,7 – 6,8	1,7 – 6,9	0,61 – 3,37	0,75 – 2,80

Можно ли вводить референсные интервалы при моделировании патологии («эталоны патологии»)?

Модель регионарной ишемии-реперфузии миокарда у крысы



Размер зоны ишемии 34-46%



Размер зоны некроза 56-68%

- Модель стрептозотоцинового сахарного диабета 1 типа – РИ уровня гликемии?
- Модель вазоренальной гипертензии – РИ уровня артериального давления?
- Модель ожирения, индуцированного диетой – РИ содержания жировой ткани в организме?

Следует ли «бороться» за максимально узкие референсные интервалы?

**РИ как классический
параметр нормы**

Скорее, нет...
***(при уверенности в правильных
критериях включения)***

Улучшение природы –
неблагодарная задача

РИ как «эталон патологии»

Скорее, да...

Больше возможность корректного
доказательства эффективности ЛС

Благодарю за
внимание!

