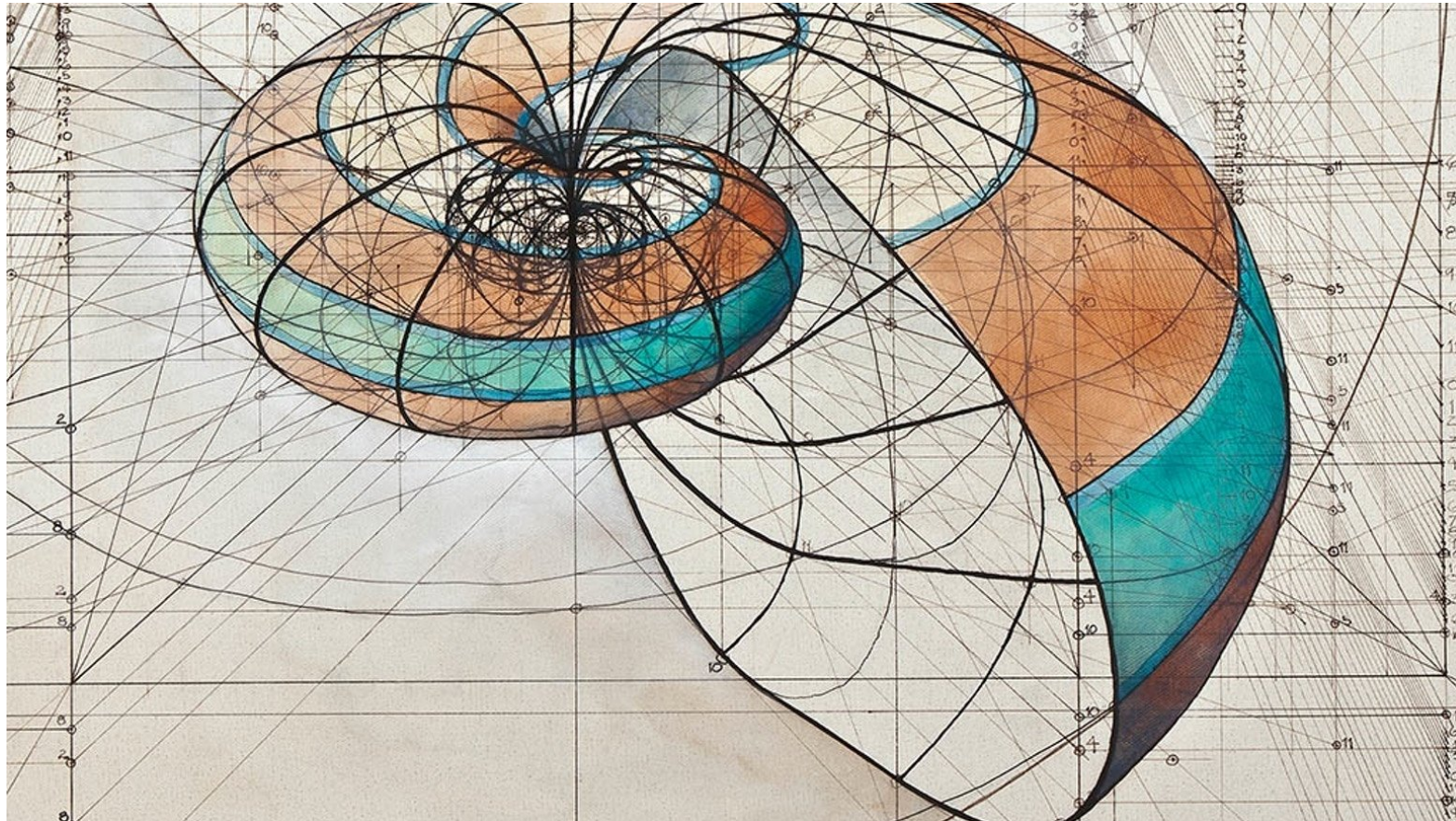


Васютина М.Л., Мурашова Л.А., Осипова С.А.  
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

## Референтные анатомо-физиологические значения биологических тест-систем



GLP Planet, 1 июля 2022 года

# Компоненты качества лабораторных животных

Стандартизированные  
условия содержания



Контролируемая  
микробиота

Определенный  
генетический  
статус

# Источники вариабельности референтных интервалов











- Референтные интервалы определяются на референтной выборке лабораторных животных, соответствующих оговоренным критериям, т.е. на группе референтных особей, представляющих референтную популяцию.
- Понимание РИ необходимо для валидации моделей и для воспроизводимости результатов.

# Биоэтическая концепция 3R

[reduction, refinement and replacement] – сокращение, усовершенствование и замена по отношению к экспериментированию на животных, была впервые предложена Расселом и Берчем в их трактате «Принципы гуманной методики эксперимента», 1959г. Была подтверждена Европейской конвенцией и Директивами Совета Европы 86/609/ЕЕС по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях, принятой в 1986 г.

REFINEMENT	REDUCTION	REPLACEMENT
Усовершенствование, гуманизация при подготовке и проведении эксперимента (в широком смысле с момента рождения и до момента смерти животного) за счет использования обезболивающих средств и нетравматических методов.	Сокращение количества используемых животных без компромисса с научным результатом и качеством и благополучием животных за счет усовершенствования - исследовательской стратегии; - контроля вариации; - статистического анализа.	Замена высокоорганизованных животных низкоорганизованными или использование альтернативных методов. Может быть - относительной или абсолютной; - прямой или косвенной; - полной или частичной.

### Strain Highlights

-  Congenic
-  Spontaneous Mutation
-  Targeted Mutation
-  [Genetic Stability Program](#)
-  [Additional Use Restrictions Apply](#)
-  **Donating Investigator(s)**  
Dr. Leonard Shultz - The Jackson Laboratory
-  **Originating Article**   
[Browse References >](#)

### Detailed Description

The NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl/Sz</sup> mice,

### References

[Selected References](#)
[Additional References](#)

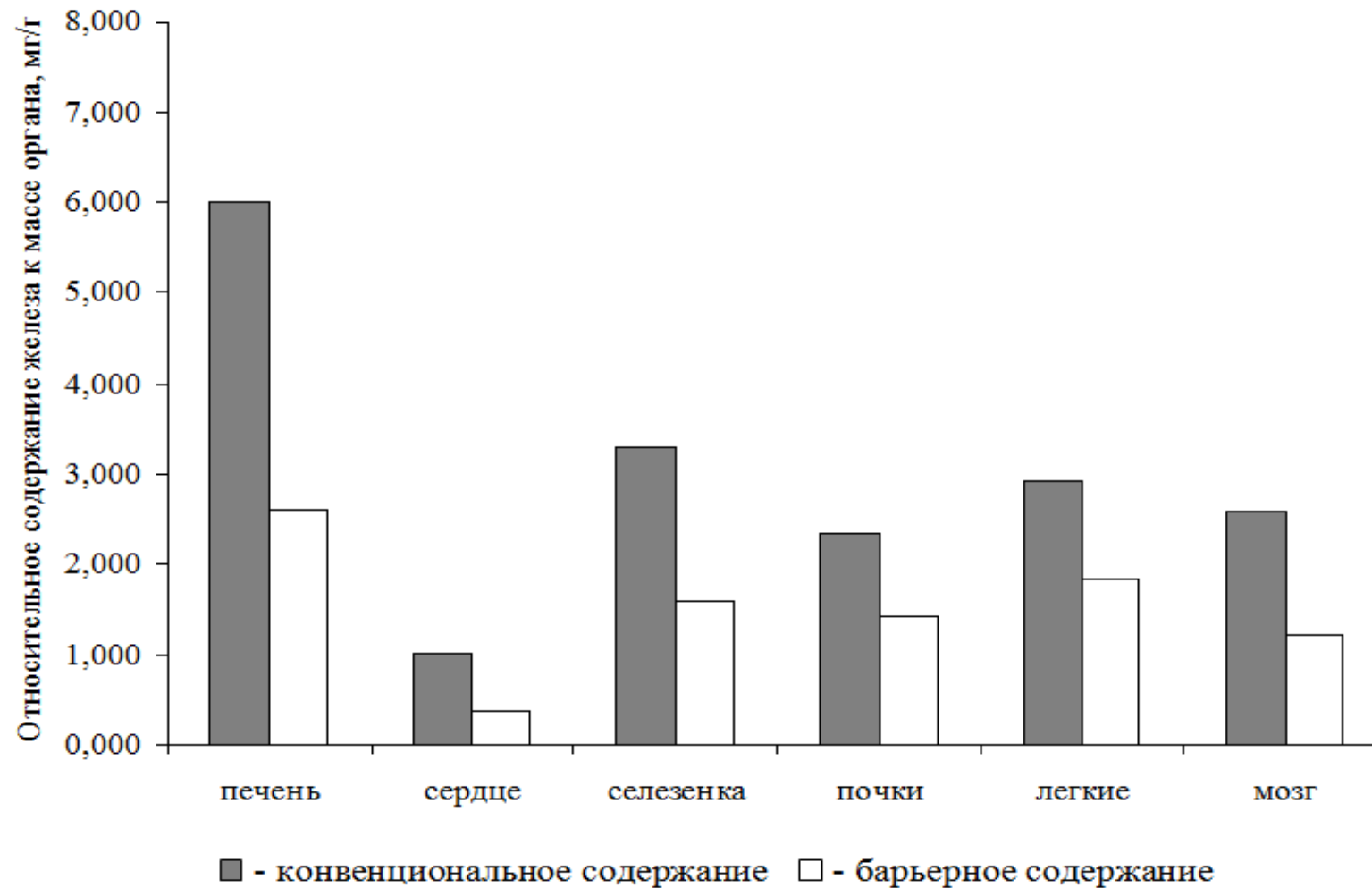
- 2016 Myeloid Engraftment in Humanized Mice: Impact of Granulocyte-Colony Stimulating Factor Treatment and Transgenic Mouse Strain. Coughlan AM , et al. [PubMed:26879149](#) [MGI:230785](#) Stem Cells Dev 25(7):530-41
- 2005 Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. Shultz LD , et al. [PubMed:15879151](#) [MGI:109833](#) J Immunol 174(10):6477-89

Литературные данные для формирования референсной базы в большинстве случаев доступны на сайтах питомников, но требуют актуализации в зависимости от фактических условий содержания и использования ЖИВОТНЫХ.



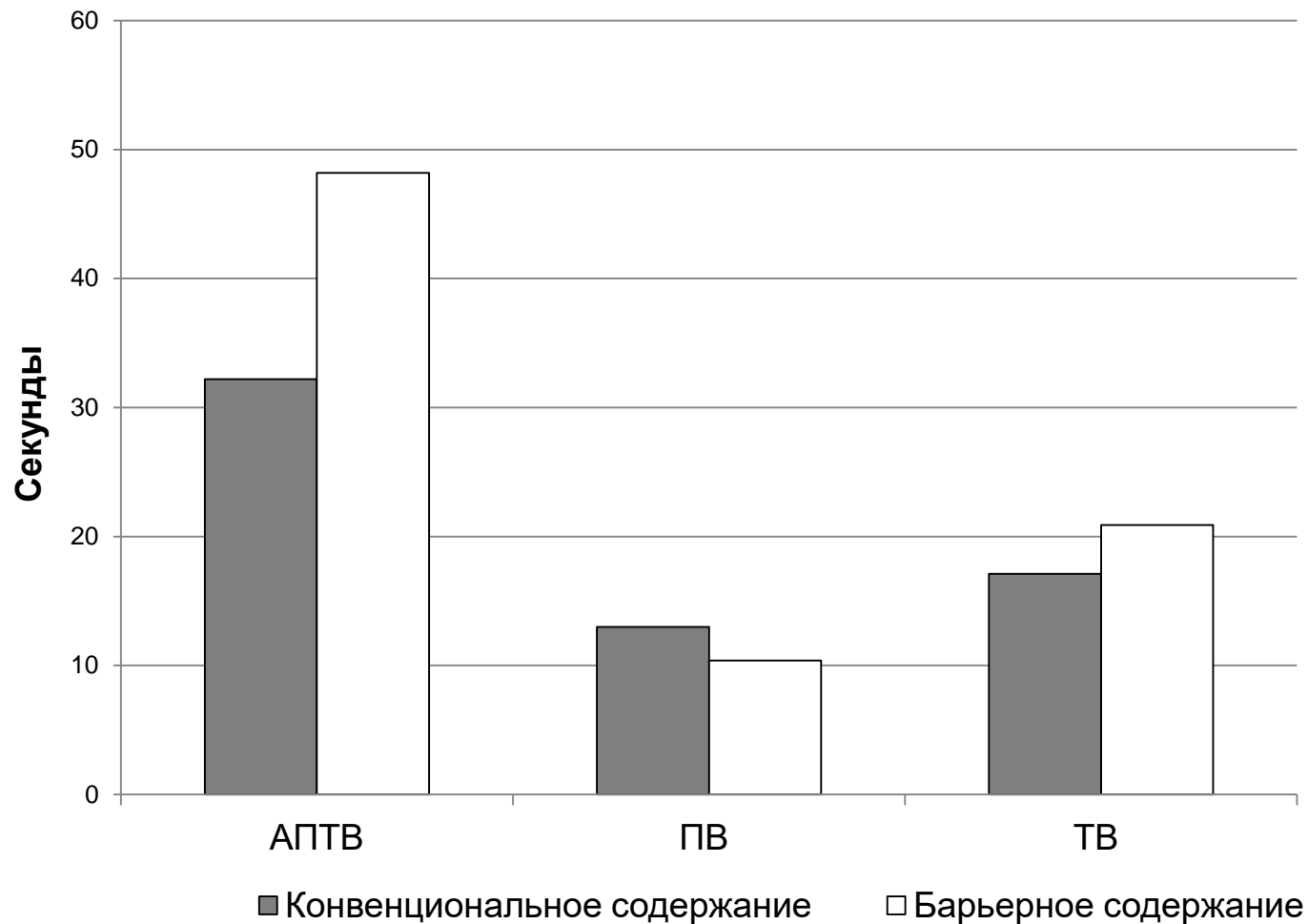
# Примеры физиологических различий между крысами стока Wistar, содержащимися в разных условиях

## Фоновое содержание железа в органах



*Королев Д.В., Евреинова Н.В., Торопова Я.Г.*

## Показатели гемостаза



### **Протромбиновый индекс (%)**

Конвенциональное: 98,2

Барьерное: 125,9

### **Международное нормализованное отношение (ед)**

Конвенциональное: 1,0

Барьерное: 0,9

$n = 5$

*Сонин Д.Л., Васина Л.В., Почкаева Е.И.*

## ЯМР-релаксометрия у лабораторных животных как инструмент для валидации моделей метаболического синдрома

Корнюшин О.В.,  
Васютина М.Л.,  
Полозов А.С.,  
Торопова Я.Г.,  
Глистенкова Д.Д.,  
Берко О.М.,  
Степаненко А.В.

Способ моделирования ожирения: высокожировая диета (22% жира, 48% углеводов и 20% белка).

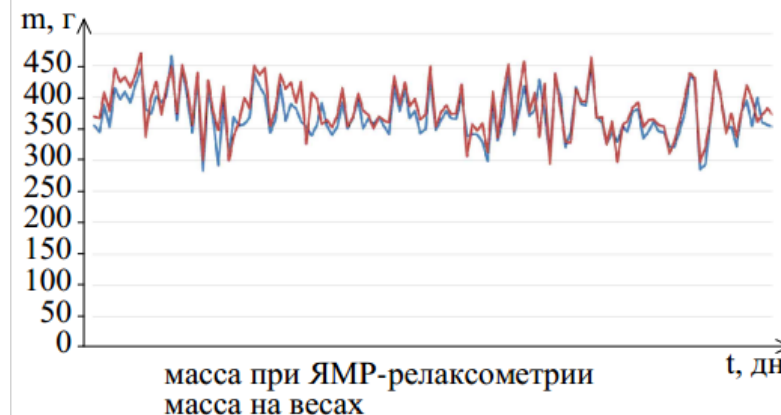
Способ моделирования инсулинорезистентности: введение низких доз Стрептозоцина (30 мг/кг) внутривенно.

Параметры оценки валидности модели:

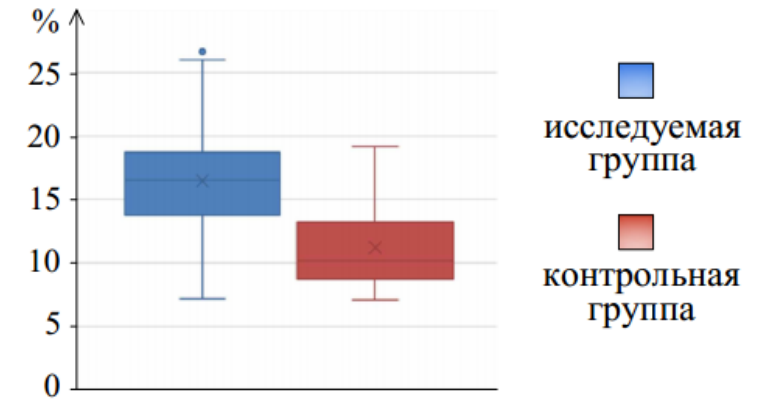
- определение массы тела животных (лабораторные весы GX-600)
- определение компонентного состава тела методом ЯМР-релаксометрии (тканевый анализатор состава тела EchoMRI 500 (система Echo Medical Systems' EchoMRI™ Whole Body Composition Analyzer) следующими режимами оценки:
  - жировая ткань,
  - остальные ткани,
  - тканевая вода, с перерасчетом относительно массы тела животного.



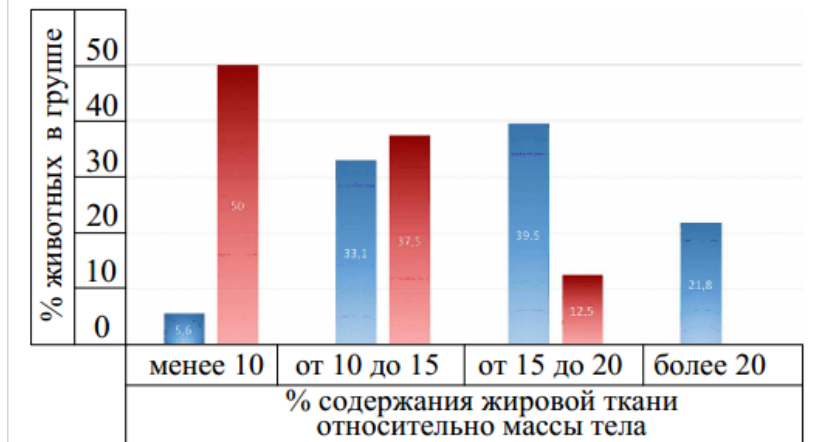
Сравнение массы тела животных при различных способах измерения:



Сравнение процента содержания жировой ткани относительно массы тела в контрольной и исследуемой группах:



Сравнение процентного соотношения животных в пределах групп, имеющих процент содержания жировой ткани относительно массы тела: менее 10%, от 10 до 15%, от 15 до 20% и более 20%.



■ исследуемая группа    ■ контрольная группа

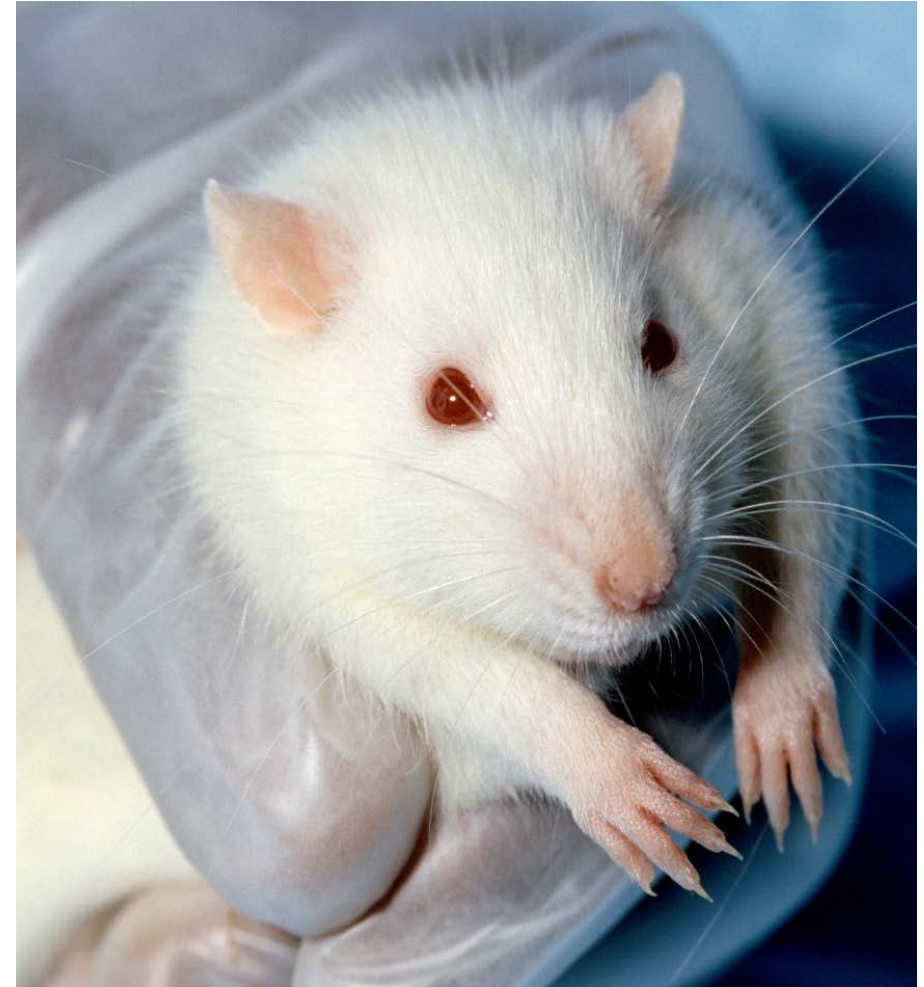


**Иногда стрессорная реакция на фиксацию может быть сильнее, чем на экспериментальную процедуру, особенно для неприученных животных. Нужно придерживаться следующих принципов:**

- Выбирать метод фиксации, доставляющий меньше дискомфорта животному.
- Предварительно приучить животное к фиксатору, дать спокойно посидеть в фиксаторе, сначала открытом, потом закрытом.
- Убедиться, что размер фиксатора подходит животному.
- Не держать животное в фиксаторе дольше, чем это необходимо.
- Не оставлять животное в фиксаторе без присмотра.
- При мануальной фиксации держать животное руками крепко, но при этом не применяя чрезмерную силу.
- Перед процедурой полностью подготовить рабочее место.

## Проведение хендлинга:

- Минимизирует стресс у животных, вызванный взаимодействиями с человеком
- Снижает риск укусов у персонала
- Способствует снижению variability экспериментальных данных.



## Пример влияния выбранного метода эвтаназии на ряд показателей:

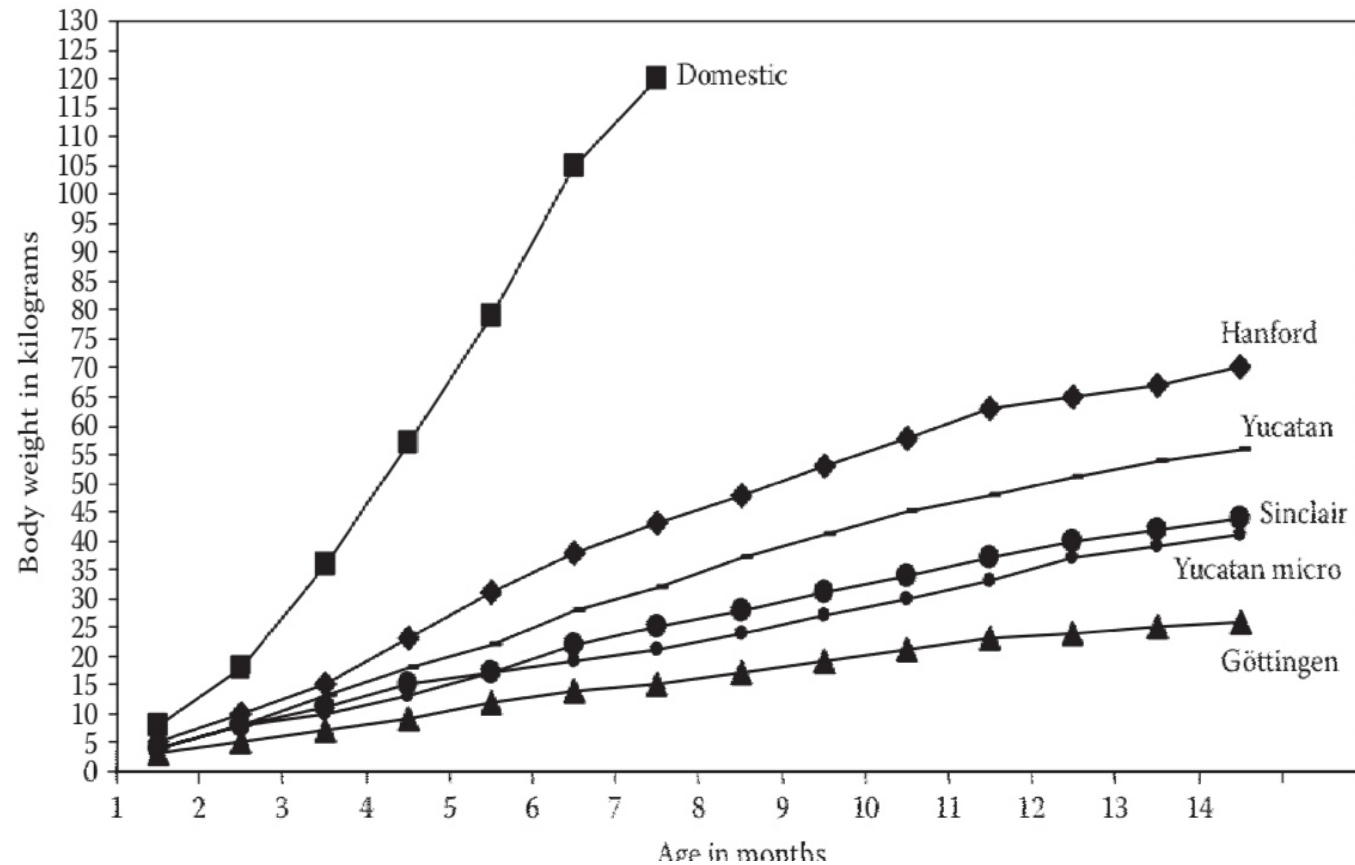
<b>Биологические эффекты декапитации</b>	
<b>Эффект</b>	<b>Механизм</b>
Увеличение содержания Na, K, Ca, Mg в плазме	
Увеличение концентрации ГАМК (в мозгу)	
Увеличение концентрации аланина (в мозгу)	
Увеличение содержания аскорбиновой кислоты в плазме	Гемолиз
Увеличение уровней катехоламина крови	Посмертные биохимические изменения
Изменения функции митохондрий в сердечной мышце	
Увеличение содержания кортикостерона в крови	Стресс-фактор -> мобилизация из тканей в кровь; общая метаболическая реакция, связанная с симпатoadреналовым ответом на внешнее воздействие.

## Пример влияния выбранного метода отбора крови на ряд показателей:

<b>Ретроорбитальный синус</b>	Высокие значения глюкозы, сравнительно низкие уровни АСТ, АЛТ, белка, альбумина, триглицеридов, общего холестерина, креатинина. Высокие значения клеток по лейкоцитарной формуле в сравнении с пункцией сердца, но меньшие, чем при использовании надреза хвоста. Небольшой процент гемолизированной крови.
<b>Лицевая вена</b>	Более высокие уровни АСТ, АЛТ, белка, альбумина, триглицеридов, общего холестерина, креатинина и меньшее количество тромбоцитов, чем при отборе из ретроорбитального синуса.
<b>Надрез кончика хвоста</b>	Небольшой процент гемолизированной крови, хорошо подходит для определения глюкозы в крови, значения глюкозы увеличивается в серийных образцов в течение короткого времени. Метод оказывает минимальный стресс и, следовательно, влияние на уровень кортикостеронов.
<b>Хвостовая вена</b>	Наименьшие биохимические изменения в крови. Лейкоцитарная формула вдвое выше, чем в образцах крови из сердца (правый желудочек), брюшной аорты, каудальной полой вены, ретроорбитального узла. Значительные изменения по показателям белых кровяных клеток, красных кровяных телец, гемоглобина и гематокрита, лейкоцитарной дифференцировке (лимфоцитов и нейтрофилов) по сравнению с другими методами.
<b>Кардиопункция</b>	Небольшие колебания химического состава крови. Низкие показатели красной крови.
<b>Каудальная полая вена</b>	Большой разброс в показателях биохимии крови.
<b>Декапитация</b>	Изменения в б/х показателях. Изменения гормонального статуса на фоне стресса.

## Несколько слов о крупных животных

Relative Body Weights and Growth of Domestic and Miniature Pigs



Моделирование:

1. Сахарный диабет
2. Атеросклероз
3. Воспалительные заболевания кишечника
4. Патологии сердечного ритма
5. Заболевания кожи
6. Нейродегенеративные заболевания

Потенциально жизнеугрожающие состояния:

1. Гипертрофическая кардиомиопатия (в популяции откормочных животных в отдельных регионах до 75% животных)
2. Злокачественная гипертермия (чаще у свиней породы ландрас)

## Специфика сердечно-сосудистой системы

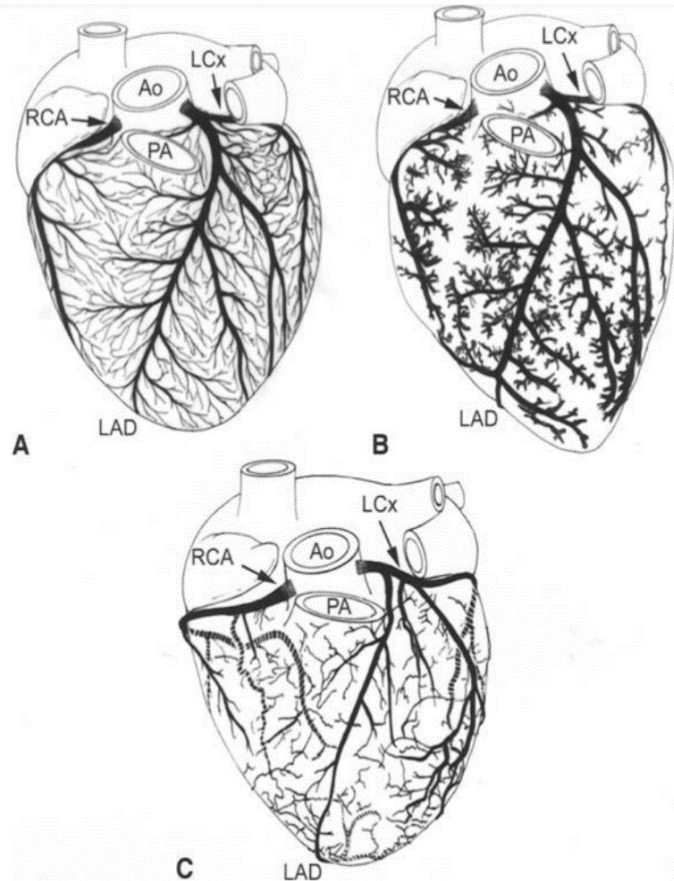


Fig. 1. The coronary arterial circulation in the dog (A), pig (B), and human (C). Notice the extensive network of coronary collateralization in the dog heart, including many arterial anastomoses. The normal pig and human hearts have significantly less collateralization; each area of myocardium is usually supplied by a single coronary artery. Ao, aorta; LAD, left anterior descending artery; LCx, left circumflex artery; PA, pulmonary artery; RCA, right coronary artery.

Table 1 | Physiological parameters of animal models and humans

Parameter	Human <sup>272,273</sup>	Pig <sup>229,274-277</sup>	Dog <sup>278,279</sup>
<b>General</b>			
Lifespan (years)	79	10-15	10-15
Adult mass (kg)	50-90	150-300	5-70
Body temperature (°C)	36.5-37.0	38.5-39.2	38-39
<b>Cardiac anatomy</b>			
Heart mass (g)	148-383	250-400	107-500
Heart:body mass ratio	0.4	0.32	0.64-0.80
<b>Haemodynamics</b>			
Blood pressure (mmHg)	120/80	130/75	136/66
Cardiac output (ml/min)	4,900-16,000	3,000	3,086-3,633
Respiratory rate (breaths per min)	12-15	15-20	15-25
<b>Electrocardiogram</b>			
Heart rate (bpm)	60-80	68-100	80-160
P-wave duration (ms)	110	60-80	40
PR interval (ms)	120-200	50-120	60-130
QRS duration (ms)	84-110	70-90	50-60
QT interval (ms)	400-430	260-380	150-250

### Vessel Luminal Diameters (ID) in Various Breeds of Swine

Breed	Body Weight (kg)	Coronary Artery (mm)	Thoracic Aorta (mm)	Postrenal Abdominal Aorta (mm)	Carotid Artery (mm)	External Iliac Artery (mm)	Internal Iliac Artery (mm)	Posterior Vena Cava (mm)	Femoral Artery (mm)	Portal Vein (mm)	Renal Artery (mm)
Hanford <sup>a</sup>	15	2.0–2.5									
Hanford <sup>b</sup>	30–35	1–1.5									
Hanford <sup>b</sup>	44		13	5		3	2	14			
Yucatan <sup>a</sup>	10–20	2–3.5				2.5–4		20			
Yucatan <sup>b</sup>	29		12	6		2	1				
Yucatan <sup>b</sup>	48		11		4						4
Yucatan <sup>b</sup>	109		11	6		4	3				2
Yucatan Micro <sup>a</sup>	14–33		12	6		5	1–2		3.5	10	
Yucatan Micro <sup>b</sup>	55–60		9–16	5–7	3–4	2					
Sinclair <sup>a</sup>	45					4.8	3.5		4		
Göttingen <sup>b,d</sup>	20–40	1.5–2.0	14–16		3						
Göttingen <sup>b</sup>	37–50						3–5				
Farm <sup>a,c</sup>	30–39					5.3	3.4		4.8		
Farm <sup>a,c</sup>	40–49					5.8	3.7		4.9		
Farm <sup>a,c</sup>	50–59					5.9	4.5		4.6		
Farm <sup>a,c</sup>	60–69					6.1	4.2		5.6		
Farm <sup>a</sup>	55			12		6					
Farm <sup>b</sup>	70	3	12	5	3.5						
Farm <sup>a</sup>	16	3	13	8.5	4	4	2.1		4		2.5
Farm <sup>b</sup>	25		21	10	5	6	3	12		16	4
Farm <sup>b</sup>	47	3	22	15	5	6	4	18	4		5

<sup>a</sup> *In vivo* measurement using fluoroscopy and contrast material.

<sup>b</sup> *In vitro* necropsy measurement.

Zurbrigg K, van Dreumel T, Rothschild MF, Alves D, Friendship R, O'Sullivan TL. Cardiac weights and weight ratios as indicators of cardiac lesions in pigs: A study of pig hearts from an Ontario abattoir. *Can J Vet Res.* 2018 Jul;82(3):198-202. PMID: 30026644; PMCID: PMC6040014.

Swine in the Laboratory Surgery, Anesthesia, Imaging, and Experimental Techniques, Third Edition *Edited By M. Michael Swindle Alison C. Smith* 2016

Garg, S., Singh, P., Sharma, A., & Gupta, G. (2013). A Gross Comparative Anatomical Study of Hearts in Human Cadavers and Pigs. *International Journal of Medical and Dental Sciences*, 170–176. <https://doi.org/10.19056/ijmdsjssmes/2013/v2i2/86776>

Спасибо за внимание!



Vasyutina\_ml@almazovcentre.ru  
Raluwow@gmail.com