

Токсикологические исследования. Референтные интервалы массовых коэффициентов внутренних органов на выборке, состоящей из 1000 аутбредных крыс

И.А. Луговик, фармаколог, ORCID 0000-0003-3840-5049;
М.Н. Макарова, доктор медицинских наук, директор, ORCID 0000-0003-3176-6386;
АО НПО «Дом Фармации»,
188663, Россия, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245
E-mail: lugovik.ua@doclinika.ru

Резюме. Измерение массы внутренних органов и подсчет их массовых коэффициентов относительно массы тела являются обязательной манипуляцией при исследовании токсических эффектов препаратов в доклинических исследованиях. Однако оценка клинической значимости изменений по массовым коэффициентам органов может быть осложнена при отсутствии корректных референтных внутрилабораторных интервалов, отражающих нормальные значения для популяции животных, используемых в исследовательском центре.

Цель данной работы – обобщение результатов морфометрических показателей органов, полученных в проведенных ранее исследованиях на аутбредных крысах на базе НПО «Дом Фармации» в период с 2018 по 2020 г. для выведения референтных значений показателей массы органов аутбредных крыс. Проведен ретроспективный анализ данных 9 основных органов, используемых для подсчета массовых коэффициентов при токсикологических исследованиях. Проанализирована большая выборка, состоящая из 1000 аутбредных крыс (534 самца и 466 самок), диапазон массы тела самцов 200–400 г, самок – 180–300 г.

Установлены референтные интервалы с учетом рекомендаций Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) для массовых коэффициентов сердца, легких, тимуса, печени, селезенки, почек, надпочечников, головного мозга, семенников и яичников.

Выявлено, что у самцов и самок крыс наиболее часто наблюдаются статистические выбросы среди таких массовых коэффициентов внутренних органов, как селезенка (0,82–8,87%), надпочечники (0–6,45%), легкие (0–5,44%), семенники (0–4,69%) и яичники (0–3,12%), выбросы других показателей отмечались существенно реже. Этот факт необходимо учитывать при оценке клинической значимости изменений данных показателей.

Определять актуальные внутрилабораторные референтные интервалы для массовых коэффициентов органов необходимо для того, чтобы на основании исторических данных лаборатории корректно оценивать влияние препарата, отделив его от действия случайных факторов (т.е. избежать ложноположительных или отрицательных результатов).

Целесообразно иметь референтные интервалы по массовым коэффициентам относительно не только массы тела, но и головного мозга, а также по абсолютным массам органов, так как в токсикологических исследованиях при значительных изменениях массы тела эти показатели могут дать более объективную информацию.

Формирование референтных интервалов по массовым коэффициентам целесообразно проводить для каждого диапазона масс тела животных отдельно, используя не менее 120 особей обоего пола на каждый диапазон. Для соблюдения этих условий предпочтительно использовать непрямой метод получения данных при ретроспективном анализе с целью соблюдения биоэтических норм.

Ключевые слова: ретроспективный анализ, доклинические исследования, непараметрическое определение референтных интервалов, лабораторные животные, массы органов.

Для цитирования: Луговик И.А., Макарова М.Н. Токсикологические исследования. Референтные интервалы массовых коэффициентов внутренних органов на выборке, состоящей из 1000 аутбредных крыс. Лабораторные животные для научных исследований. 2021; 01: 3–11. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-01>

Toxicological studies. Reference intervals of mass coefficients of internal organs in a sample of 1000 rats

I.A. Lugovik, ORCID 0000-0003-3840-5049
M.N. Makarova, ORCID 0000-0003-3176-6386
Research and manufacturing company «Home of Pharmacy»,
188663, Russia, Leningrad oblast, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy t.s., Zavodskaya st. 3-245
E-mail: lugovik.ua@doclinika.ru

Abstract. Measuring the mass of internal organs and calculating their mass coefficients relative to body weight is a mandatory manipulation in the analysis of the toxic effects of drugs in preclinical studies. However, the assessment of the clinical significance of changes in the mass coefficients of organs can be complicated by the absence of correct intra-laboratory reference intervals that reflect normal values for the population of animals used in the research center.

The aim of this work was to generalize the results of morphometric indicators of organs obtained in previous studies on outbred rats conducted in the Research and manufacturing company «Home of Pharmacy», from 2018 to 2020 to derive reference values of organ mass indicators of outbred rats. A retrospective analysis of data on 9 main organs used for calculating mass coefficients in toxicological studies was carried out. Analysis on a large sample of 1000 outbred rats (534 males and 466 females), with body mass ranges for males of 200 – 400 g and females of 180 – 300 g.

Reference intervals were established taking into account the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) for the mass coefficients of the heart, lungs, thymus, liver, spleen, kidneys, adrenal glands, brain, testes and ovaries.

It was found that in male and female rats, statistical outliers were most often observed among mass coefficients of such internal organs as the spleen (0.82 – 8.87%), adrenal glands (0 – 6.45%), lungs (0 – 5.44%), testes (0 – 4.69%) and ovaries (0 – 3.12%), outliers of other indicators were significantly less frequent. This fact should be taken into account when assessing the clinical significance of changes in these indicators.

It is advisable to have reference intervals not only for mass coefficients relative to body weight, but also to the brain, as well as to the absolute masses of organs, since in toxicological studies with significant changes in body weight, these indicators can provide more objective information.

It is expedient to form reference intervals based on mass coefficients for each span of animal body weights separately, using at least 120 animals for each span and gender. To meet these conditions, it is preferable to use an indirect method of obtaining data in a retrospective analysis in order to comply with bioethical rules.

Key words: retrospective analysis, nonclinical research, preclinical research, laboratory animals, organs weight.

For citation: Lugovik I.A., Makarova M.N. Toxicological Studies. Reference Intervals of Mass Coefficients of Internal Organs in a Sample of 1000 Rats. Laboratory Animals for Science. 2021; 01: 3–11. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-01>

Введение

Крысы являются одним из самых часто используемых модельных организмов в биомедицинских исследованиях.

Так, согласно последнему отчету Европейского союза об использовании животных в научных целях, крысы находились на 2-м месте по общему количеству задействованных животных – 1 146 299 особей за 2017 г. [1]. Небольшая масса белых крыс, относительно простое содержание и успешное разведение их в лабораторных условиях позволяют успешно проводить доклинические исследования [2].

Измерение массы внутренних органов и подсчет их массовых коэффициентов относительно массы тела являются обязательной манипуляцией при исследовании токсических эффектов препаратов в доклинических исследованиях [2]. Массовый коэффициент органов (МКО) – процентное отношение массы органа к массе тела, интегральный показатель, используемый в токсикологии для оценки состояния внутренних органов. Изменения МКО отражают объективное состояние внутренних органов и их поражение ксенобиотиками, а также позволяют обнаружить эндокринно-связанные эффекты [3]. Для изучения воздействия препарата на внутренние органы чаще всего используются сравнение с контрольной группой и обработка этих изменений с помощью статистических методов для определения их значимости. Однако не всякое статистически значимое изменение имеет прогностическое значение и в ряде случаев для оценки клинической значимости отклонений могут потребоваться дополнительные ориентиры. Одним

из таких ориентиров могут служить референтные интервалы (РИ).

РИ – статистический показатель, двумя пределами ограничивающий центральный 95% диапазон референтных значений [4]. Этот показатель определяют на выборке условно здоровых людей или животных, для того чтобы установить статистические нормы по какому-либо показателю, который характеризует данную популяцию [5].

Согласно рекомендациям Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), в каждой лаборатории должны создаваться свои РИ [5]. Крысы как биологический вид также не являются однородными, существует более 1 тыс. линий крыс, которые могут значительно отличаться по многим признакам, в том числе морфометрическим [6]. В связи с этим остро встала необходимость составления актуальных РИ для популяции животных, используемых для проведения исследований в НПО «Дом Фармации»

Существует два основных метода для расчета пределов РИ: параметрический и непараметрический.

При использовании непараметрического метода расчета РИ требуется минимум 120 показателей [5], а параметрического – уже ≥ 200 , так как при анализе около 150 значений и ниже параметрический метод нестабилен [7]. Также непараметрический метод не требователен к распределению данных, что делает его предпочтительным при создании РИ биологических показателей, которые зачастую имеют ненормальное распределение [4].

В зависимости от того, как были получены данные для расчета РИ, выделяют прямой и непрямой методы их определения. При прямом методе оценки предполагается целенаправленный набор здоровых субъектов. При непрямом методе используется информация, накопленная в базах данных исследовательского учреждения [5].

Применительно к расчету РИ, используемых в клинической практике, приоритет имеет прямой метод. Однако в случае расчета РИ на биологических моделях по показателям масс внутренних органов, при фиксации которых требуется эвтаназия, гуманное обращение с животными требует непрямого ретроспективного метода.

Цель данной работы – обобщение результатов морфометрических показателей органов, полученных в проведенных ранее доклинических испытаниях на аутбредных крысах на базе НПО «Дом Фармации» в период с 2018 по 2020 г. для выведения референсных значений показателей массы органов аутбредных крыс.

Материал и методы

Поскольку количество животных на каждый диапазон массы тела было <200, предпочли непараметрический метод расчета РИ.

Для формирования РИ использовали данные животных, находившихся в контрольных группах эксперимента в период с начала 2018 г. до середины 2020 г. (все проведенные эксперименты были одобрены биоэтической комиссией).

В сформированном массиве представлены данные, полученные от 1000 аутбредных крыс (534 самца и 466 самок), масса тела самцов – 200–400 г, самок – 180–300 г. При оценке показателей данные животных были разделены на группы по массе (4 группы – для самцов и 3 группы – для самок) так, чтобы в каждой группе, в которой оценивали МКО, оказались крысы сопоставимого возраста и морфометрических характеристик. Данные, касающиеся самцов, были разделены на 4 группы в массовых диапазонах 200–250, 251–300, 301–350 и 351–400 г; самок – на 3 группы по массам: 180–220, 221–260 и 261–300 г. Были использованы небеременные и нерожавшие самки. Животных содержали в одинаковых стандартных условиях вивария: температура воздуха 18–26°C, относительная влажность 46–65%, 12-часовой световой день. Крысы находились в стандартных пластиковых клетках, не более 5 животных в каждой. Площадь пола на одно животное соответствовала регламентирующим стандартам, доступ к воде не ограничивали на

протяжении всего срока эксперимента. Кормление животных проводили в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Все исследования были выполнены с соблюдением принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986), в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики. Всех животных, данные которых были отобраны для исследования, подвергали эвтаназии с применением CO₂ с последующим удалением жизненно важных органов (легкие, сердце, головной мозг) или обескровливанием полостей сердца.

Животных лишали корма на ночь перед некропсией, оставляя свободный доступ к воде. Массу тела определяли непосредственно перед некропсией. Рассчитывали процентное отношение массы органа к массе тела, определенной непосредственно перед некропсией, а также к массе мозга.

Статистическую обработку результатов осуществляли в программе Statistica 10.

Результаты и обсуждение

Опираясь на процедуру, описанную в руководстве CLSI, из массива данных были устранены аномальные значения – статистические выбросы. Их определяли отдельно по каждому показателю для каждого пола и группы, согласно диапазону масс по методу Тьюки [5]. Из дальнейшей работы были исключены данные, лежащие за пределами интервала (Q1–1,5.IQR)–(Q3+1,5.IQR), где Q1 и Q3 – границы 1-го и 3-го квартилей, а IQR – межквартильный интервал. В этот интервал попадали как «extremes», или «жесткие» выбросы, так и «outliers», или «мягкие» выбросы (табл. 1, 2).

Обращает на себя внимание, что наиболее часто у самцов и самок крыс встречаются выбросы по таким показателям, как «легкие», «селезенка», «надпочечники», «семенники» и «яичники», что необходимо учитывать при анализе данных доклинических исследований (см. табл. 1, 2). После устранения статистических выбросов были получены результаты для составления РИ.

Согласно руководству CLSI для данных по массовым коэффициентам органов, проводился расчет промежутка 2,5–97,5 процентиля, диапазон между которыми и служил РИ [4] (табл. 3, 4).

Таблица 1. Доля статистических выбросов при расчете МКО относительно массы тела, самцы

Орган	Диапазон массы тела, г			
	200–250 (n = 128)	251–300 (n = 147)	301–350 (n = 137)	351–400 (n = 122)
	Общее количество выбросов («жестких»), %			
Сердце	0 (0)	3,40 (0)	1,46 (0)	0 (0)
Легкие	2,34 (0)	2,72 (1,36)	5,11 (0,73)	0 (0)
Тимус	3,13 (0)	4,08 (0)	0 (0)	0,82 (0)
Печень	0,78 (0)	0,68 (0)	2,19 (0)	0 (0)
Селезенка	3,13 (1,56)	2,04 (0)	2,92 (0)	0,82 (0)
Почки	2,34 (0)	0,68 (0)	1,46 (0)	1,64 (0)
Надпочечники	3,13 (0)	2,04 (0,68)	0 (0)	1,64 (0)
Головной мозг	1,56 (0)	1,36 (0)	0 (0)	0,82 (0)
Семенники	1,56 (0)	0,68 (0)	4,38 (0)	0 (0)

Таблица 2. Доля статистических выбросов при расчете МКО относительно массы тела, самки

Орган	Диапазон массы тела, г		
	180–220 (n = 147)	221–260 (n = 193)	261–300 (n = 126)
	Общее количество выбросов («жестких»), %		
Сердце	2,72 (0)	2,07 (1,04)	0 (0)
Легкие	4,08 (0)	3,11 (0,52)	4,76 (1,59)
Тимус	0,68 (0,68)	0,52 (0)	0,79 (0)
Печень	1,36 (0)	0,52 (0)	3,97 (1,59)
Селезенка	4,76 (3,40)	2,59 (0)	3,17 (1,59)
Почки	0,68 (0)	2,07 (0,52)	1,59 (0)
Надпочечники	3,40 (0)	3,63 (0)	1,59 (0)
Головной мозг	3,40 (0)	0,52 (0)	1,59 (0,79)
Яичники	0,68 (0)	1,55 (0)	3,17 (0)

Таблица 3. Референтные интервалы по МКО самцов крыс, рассчитанные как отношение массы органа к массе тела

Орган	Диапазон массы тела, г			
	200–250	251–300	301–350	351–400
Сердце	0,387–0,585 (n = 128)	0,346–0,538 (n = 142)	0,340–0,500 (n = 135)	0,337–0,527 (n = 122)
Легкие	0,567–1,146 (n = 125)	0,499–1,058 (n = 143)	0,473–0,952 (n = 130)	0,455–0,989 (n = 122)
Тимус	0,094–0,317 (n = 124)	0,078–0,249 (n = 141)	0,074–0,239 (n = 137)	0,062–0,223 (n = 121)
Печень	2,99–5,25 (n = 127)	3,03–5,10 (n = 146)	2,81–4,61 (n = 134)	2,61–4,09 (n = 122)
Селезенка	0,178–0,490 (n = 124)	0,198–0,438 (n = 144)	0,175–0,455 (n = 133)	0,159–0,405 (n = 121)
Почки	0,688–1,001 (n = 125)	0,660–0,966 (n = 146)	0,634–0,912 (n = 135)	0,587–0,859 (n = 120)
Надпочечники	0,016–0,035 (n = 124)	0,014–0,032 (n = 144)	0,013–0,0300 (n = 137)	0,011–0,027 (n = 120)
Головной мозг	0,706–0,968 (n = 126)	0,627–0,820 (n = 145)	0,567–0,717 (n = 137)	0,497–0,631 (n = 121)
Семенники	1,087–1,620 (n = 126)	0,968–1,465 (n = 146)	0,926–1,282 (n = 137)	0,767–1,207 (n = 120)

Для самок в свою очередь определяли МКО в диапазонах массы тела – 180–220, 221–260 и 261–300 г.

Полученные данные демонстрируют, что относительно массы тела у самцов и самок наблю-

далось постепенное снижение массовых коэффициентов всех исследованных органов. Это было связано с физиологическим приростом массы тела животных за счет мышечной и жировой тканей.

Таблица 4. Референтные интервалы по МКО самок крыс, рассчитанные как отношение массы органа к массе тела

Орган	Диапазон массы тела, г		
	180–220	221–260	261–300
Сердце	0,379–0,570 (n = 143)	0,350–0,553 (n = 189)	0,346–0,510 (n = 126)
Легкие	0,601–1,136 (n = 141)	0,563–1,124 (n = 187)	0,537–1,078 (n = 120)
Тимус	0,127–0,321 (n = 146)	0,096–0,286 (n = 192)	0,068–0,240 (n = 125)
Печень	3,06–4,95 (n = 145)	2,79–4,62 (n = 192)	2,74–4,34 (n = 121)
Селезенка	0,220–0,475 (n = 140)	0,207–0,463 (n = 188)	0,197–0,457 (n = 122)
Почки	0,674–0,921 (n = 146)	0,652–0,882 (n = 189)	0,607–0,836 (n = 124)
Надпочечники	0,024–0,048 (n = 142)	0,022–0,045 (n = 184)	0,022–0,043 (n = 124)
Головной мозг	0,830–1,080 (n = 142)	0,696–0,966 (n = 192)	0,649–0,843 (n = 124)
Яичники	0,0447–0,0924 (n = 146)	0,0404–0,0887 (n = 190)	0,0397–0,0851 (n = 122)

Таблица 5. Референтные интервалы по МКО самцов крыс, рассчитанные как отношение массы органа к массе головного мозга

Орган	Диапазон массы тела, г			
	200–250	251–300	301–350	351–400
Сердце	45–70 (n = 126)	47–81 (n = 144)	52–83 (n = 137)	57–91 (n = 120)
Легкие	69–156 (n = 127)	72–139 (n = 140)	79–149 (n = 133)	84–182 (n = 121)
Тимус	11,2–41,3 (n = 124)	10,9–36,0 (n = 143)	11,6–37,9 (n = 137)	11,1–38,0 (n = 120)
Печень	349–647 (n = 125)	401–745 (n = 145)	424–795 (n = 137)	480–764 (n = 122)
Селезенка	23–57 (n = 117)*	27–59 (n = 144)	27–71 (n = 133)	31–77 (n = 120)
Почки	81–128 (n = 127)	89–138 (n = 146)	101–152 (n = 137)	104–159 (n = 121)
Надпочечники	1,9–4,2 (n = 120)	1,9–4,6 (n = 144)	2,0–4,7 (n = 136)	2,0–5,1 (n = 121)
Семенники	126–200 (n = 124)	135–200 (n = 145)	142–198 (n = 131)	143–215 (n = 122)

Примечание. * – Количество значений, использованных при расчете РИ, <120.

Таблица 6. Референтные интервалы по МКО самок крыс, рассчитанные как отношение массы органа к массе головного мозга

Орган	Диапазон массы тела, г		
	180–220	221–260	261–300
Сердце	37–62 (n = 144)	41–68 (n = 190)	46–71 (n = 126)
Легкие	61–119 (n = 139)	67–129 (n = 183)	75–143 (n = 120)
Тимус	12,4–31,9 (n = 143)	12,0–34,2 (n = 191)	9,8–31,9 (n = 124)
Печень	297–554 (n = 144)	336–617 (n = 191)	367–616 (n = 126)
Селезенка	23–47 (n = 141)	25–58 (n = 190)	26–58 (n = 120)
Почки	70–100 (n = 145)	74–110 (n = 188)	81–112 (n = 123)
Надпочечники	2,4–5,1 (n = 144)	2,7–5,9 (n = 191)	2,8–6,0 (n = 125)
Яичники	4,7–10,9 (n = 147)	4,5–10,9 (n = 191)	4,9–11,9 (n = 125)

Поскольку в токсикологических исследованиях часто наблюдается изменение нормальной динамики массы тела (например, существенное снижение на фоне действия ксенобиотика), иногда целесообразно оценивать как абсолютную массу органов, так и ее отношение к массе головного мозга – органа, наименее подверженного индуцированным колебаниям массы тела. Исходя из этого, были составлены РИ по МКО относительно

головного мозга (табл. 5, 6) и абсолютных значений органов (табл. 7, 8).

С помощью метода Тьюки были устранены статистические выбросы согласно процедуре, описанной выше, и рассчитана их доля (табл. 9–12)

Следует отметить, что доля статистических выбросов при расчете МКО относительно массы тела (0–5,11%) была соотносима с данными, полученными при расчете статистических выбросов

Таблица 7. Референтные интервалы по абсолютным массам органов самцов крыс

Орган	Диапазон массы тела, г			
	200–250	251–300	301–350	351–400
Средняя масса ($M \pm SEM$)	235 \pm 1 ($n = 128$)	273 \pm 1 ($n = 147$)	321 \pm 1 ($n = 137$)	373 \pm 1 ($n = 122$)
Сердце	0,89–1,36 ($n = 128$)	0,94–1,48 ($n = 144$)	0,94–1,58 ($n = 135$)	1,22–1,91 ($n = 122$)
Легкие	1,29–2,79 ($n = 125$)	1,42–2,67 ($n = 138$)	1,42–2,85 ($n = 130$)	1,78–3,56 ($n = 122$)
Тимус	0,231–0,760 ($n = 124$)	0,205–0,695 ($n = 141$)	0,205–0,790 ($n = 137$)	0,227–0,784 ($n = 120$)
Печень	7,10–12,28 ($n = 128$)	8,06–14,12 ($n = 145$)	8,06–14,98 ($n = 135$)	9,71–15,69 ($n = 120$)
Селезенка	0,44–1,13 ($n = 121$)	0,55–1,16 ($n = 144$)	0,55–1,42 ($n = 134$)	0,60–1,62 ($n = 117$)*
Почки	1,64–2,45 ($n = 125$)	1,73–2,73 ($n = 146$)	1,73–2,99 ($n = 137$)	2,16–3,24 ($n = 122$)
Надпочечники	0,038–0,082 ($n = 124$)	0,036–0,095 ($n = 146$)	0,036–0,093 ($n = 136$)	0,043–0,105 ($n = 121$)
Головной мозг	1,65–2,18 ($n = 125$)	1,80–2,24 ($n = 143$)	1,80–2,26 ($n = 135$)	1,85–2,28 ($n = 121$)
Семенники	2,46–3,74 ($n = 122$)	2,69–3,99 ($n = 146$)	2,69–4,05 ($n = 132$)	2,86–4,36 ($n = 121$)

Примечание: * – Количество значений, использованных при расчете РИ, <120.

Таблица 8. Референтные интервалы по абсолютным массам органов самок крыс

Орган	Диапазон массы тела, г		
	180–220	221–260	261–300
Средняя масса ($M \pm SEM$)	206 \pm 1 ($n = 147$)	238 \pm 1 ($n = 193$)	275 \pm 1 ($n = 126$)
Сердце	0,75–1,16 ($n = 143$)	0,85–1,31 ($n = 190$)	0,94–1,48 ($n = 125$)
Легкие	1,19–2,37 ($n = 142$)	1,36–2,65 ($n = 186$)	1,44–3,02 ($n = 119$)*
Тимус	0,228–0,647 ($n = 145$)	0,217–0,687 ($n = 192$)	0,178–0,672 ($n = 125$)
Печень	6,05–10,39 ($n = 146$)	6,80–11,59 ($n = 192$)	7,84–12,35 ($n = 124$)
Селезенка	0,461–0,916 ($n = 139$)	0,52–1,07 ($n = 187$)	0,57–1,19 ($n = 121$)
Почки	1,35–1,94 ($n = 146$)	1,54–2,08 ($n = 189$)	1,66–2,34 ($n = 122$)
Надпочечники	0,052–0,096 ($n = 143$)	0,051–0,116 ($n = 191$)	0,060–0,121 ($n = 126$)
Головной мозг	1,69–2,23 ($n = 144$)	1,71–2,23 ($n = 188$)	1,86–2,29 ($n = 121$)
Яичники	0,089–0,190 ($n = 144$)	0,099–0,204 ($n = 189$)	0,106–0,235 ($n = 121$)

Примечание: * – Количество значений, использованных при расчете РИ, <120.

Таблица 9. Доля статистических выбросов при расчете МКО относительно головного мозга, самцы

Орган	Диапазон массы тела, г			
	200–250 ($n = 128$)	251–300 ($n = 147$)	301–350 ($n = 137$)	351–400 ($n = 122$)
Общее количество выбросов («жестких»), %				
Сердце	1,56 (0)	2,04 (0)	0 (0)	1,64 (0)
Легкие	0,78 (0)	4,76 (1,36)	2,92 (1,46)	0,82 (0)
Тимус	3,23 (0)	2,72 (0)	0 (0)	1,64 (0)
Печень	2,42 (0)	1,36 (0)	0 (0)	0 (0)
Селезенка	8,87 (2,42)	2,04 (0)	2,92 (0,73)	1,64 (1,64)
Почки	0,81 (0)	0,68 (0)	0 (0)	0,82 (0)
Надпочечники	6,45 (0,78)	2,04 (0,68)	0,73 (0)	0,82 (0)
Семенники	2,42 (0)	1,36 (0,68)	4,38 (0)	0 (0)

Таблица 10. Доля статистических выбросов при расчете МКО относительно головного мозга (самки)

Орган	Диапазон массы тела, г		
	180–220 (n = 147)	221–260 (n = 193)	261–300 (n = 126)
	Общее количество выбросов («жестких»), %		
Сердце	2,04 (0)	1,55 (0)	0 (0)
Легкие	5,44 (2,04)	5,18 (0)	4,76 (0,79)
Тимус	2,72 (0,68)	1,04 (0)	1,59 (0)
Печень	2,72 (0)	1,04 (0)	0 (0)
Селезенка	5,44 (2,72)	1,55 (0)	4,76 (1,59)
Почки	1,36 (0)	2,59 (0,52)	2,38 (0)
Надпочечники	2,04 (0)	1,04 (0)	0,79 (0)
Яичники	0 (0)	1,04 (0)	0,79 (0)

Таблица 11. Доля статистических выбросов при анализе абсолютных масс органов (самцы)

Орган	Диапазон массы тела, г			
	200–250 (n = 128)	251–300 (n = 147)	301–350 (n = 137)	351–400 (n = 122)
	Общее количество выбросов («жестких»), %			
Сердце	0 (0)	2,04 (0)	1,46 (0)	0 (0)
Легкие	2,34 (0)	6,12 (2,04)	5,11 (1,46)	0 (0)
Тимус	3,13 (0)	4,08 (0)	0 (0)	1,64 (0)
Печень	0 (0)	1,36 (0)	1,46 (0)	1,64 (0)
Селезенка	7,03 (3,91)	2,04 (0)	2,19 (0)	4,10 (1,64)
Почки	2,34 (0)	0,68 (0)	0 (0)	0 (0)
Надпочечники	3,13 (0,78)	0,68 (0,68)	0,73 (0)	0,82 (0)
Головной мозг	2,34 (1,56)	2,72 (0)	1,46 (0)	0,82 (0)
Семенники	4,69 (0,78)	0,68 (0)	3,65 (0)	0,82 (0)

Таблица 12. Доля статистических выбросов при анализе абсолютных масс органов (самки)

Орган	Диапазон массы тела, г			
	200–250 (n = 128)	251–300 (n = 147)	301–350 (n = 137)	351–400 (n = 122)
	Общее количество выбросов («жестких»), %			
Сердце	1,56 (0)	2,04 (0)	0 (0)	1,64 (0)
Легкие	0,78 (0)	4,76 (1,36)	2,92 (1,46)	0,82 (0)
Тимус	3,23 (0)	2,72 (0)	0 (0)	1,64 (0)
Печень	2,42 (0)	1,36 (0)	0 (0)	0 (0)
Селезенка	8,87 (2,42)	2,04 (0)	2,92 (0,73)	1,64 (1,64)
Почки	0,81 (0)	0,68 (0)	0 (0)	0,82 (0)
Надпочечники	6,45 (0,78)	2,04 (0,68)	0,73 (0)	0,82 (0)
Семенники	2,42 (0)	1,36 (0,68)	4,38 (0)	0 (0)

МКО относительно головного мозга (0–8,87%) и абсолютных масс органов (0–7,03%). Наибольшее количество выбросов наблюдалось по таким показателям, как «селезенка», «легкие», «надпочечники», «семенники» и «яичники».

При исключении выбросов в группе самцов массой 200–250 г количество оставшихся значений для расчета РИ по показателю «селезенка» было меньше 120, и соответственно расчет не в полной мере отвечает рекомендациям CLSI и является ориентировочным.

При исключении выбросов в группе самцов массой 351–400 г и самок массой 261–300 г количество оставшихся значений для расчета РИ было меньше 120, и соответственно расчет не в полной мере отвечает рекомендациям CLSI и является ориентировочным.

Заключение

Наличие актуальных внутрилабораторных референтных интервалов необходимо, так как позволяет на основании исторических данных лаборатории корректно оценить влияние препарата, отделив его от случайных факторов (т.е. избежать ложноположительных или отрицательных результатов).

Необходимо отметить, что целесообразно иметь референтные интервалы по массовым коэффициентам органов не только относительно массы тела, но и головного мозга, а также по абсолютным массам органов, так как в токсикологических исследованиях при значительных изменениях массы тела эти показатели могут дать более объективную информацию.

Также важно отметить, что лучше рассматривать референтные интервалы по массовым коэффициентам для каждого массового диапазона (по массе тела) отдельно, используя при составлении не менее 120 животных обоего пола на каждый диапазон. Для соблюдения этих условий предпочтительно использовать непрямой метод получения данных при ретроспективном анализе с целью соблюдения биоэтических норм.

Благодарности

Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Вклад авторов

Луговик И.А. – сбор и анализ данных, сбор данных из литературных источников, написание текста статьи.

Макарова М.Н. – идея исследования, редактирование текста статьи.

Autors' contributions

Iliia A. Lugovik – collection and analysis of material, interpretation of results, analysis of literature data, writing the text.

Marina N. Makarova – idea, revising the text.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Report from the Commission to the European Parliament and the council 2019 «Report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union in 2015–2017» URL: <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/?qid=1581689520921&uri=CELEX:52020DC0016> (дата обращения: 12.2020).

2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / Миронов А.Н. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya. / Mironov A.N. – М.: Grif i K, 2012. – 944 p. (In Russ.)].

3. Макаров В.Г., Макарова М.Н. Абрашова Т.В., Гушчин 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. [Makarov V.G., Makarova M.N. Abrashova T.V., Gushchin Ya.A., Kovaleva M.A., Rybakova A.V., Selezneva A.I., Sokolova A.P., Khod'ko S.V. SPRAVOChNIK. Fiziologicheskie, biokhimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimental'nykh zhivotnykh. SPB.: «LEMA», 2013. – 116 p. (In Russ.)].

4. Евгина С.А., Савельев Л.И. Современные теория и практика референтных интервалов // Лабораторная служба. – 2019. – Т. 8. – №. 2. – С. 36-44. DOI 10.17116/labs2019802136 [Evgina S.A., Savel'ev L.I. Sovremennye teoriya i praktika referentnykh intervalov // Laboratornaya sluzhba. – 2019. – Vol. 8. – 2. – P. 36-44. (In Russ.)].

5. CLSI Document C28-A3c. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline – third edition. Wayne, Pa., USA: CLSI; 2010.

6. Гайдай Е.А., Гайдай Д.С. Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля // Лабораторные животные для научных исследований. – 2019. – 4 <https://doi.org/10/2>

9926/2618723X-2019-04-09. [Gaidai E.A., Gaidai D.S. Geneticheskoe raznoobrazie eksperimental'nykh myshei i krys: istoriya vznikoveniya, sposoby polucheniya i kontrolya // Laboratory Animals for Science. (In Russ.)].

7. Ichihara K., Ozarda Y., Barth J.H., Klee G., Qiu L., Erasmus R., Erasmus R., Borai A., Evgina S., Ashavaid

T., Khan D., Schreier L., Rolle R., Shimizu Y., Kimura S., Kawano R., Armbruster D., Mori K., Yadav B.K. A global multicenter study on reference values: 1. Assessment of methods for derivation and comparison of reference intervals // Clinica Chimica Acta. – 2017. – Vol. 467. – P. 70-82. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.09.016>