

## ПОКАЗАТЕЛИ ОСАДКА МОЧИ ЗДОРОВЫХ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР

А.Ю. Кирсанова, к.б.н., младший научный сотрудник экспериментальной лаборатории,  
ORCID: 0000-0002-6282-1272

Н.В. Кубрак, младший научный сотрудник экспериментальной лаборатории, ORCID: 0000-0002-7494-8342  
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии  
им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, 640014, Россия, г. Курган, ул. М. Ульяновой, 6.  
E-mail: vet.kirsanova@mail.ru

**Резюме.** Ни один биологический эксперимент не проводится без участия лабораторных животных, при этом чаще всего используются крысы, являющиеся устойчивой моделью, позволяющей воспроизвести различные патологические процессы. Для получения точных данных и их правильной интерпретации важно, чтобы состояние подопытных животных в начальной точке эксперимента было максимально схожим. При этом исследование осадка мочи является наиболее простым способом получения информации о состоянии организма. Для диагностирования патологического процесса необходимо сравнивать показатели с данными, характеризующими состояние здоровья в пределах одного биологического вида. Однако на сегодняшний день научной информации о показателях осадка мочи здоровых крыс недостаточно, поэтому во многих исследованиях наблюдается тенденция к сравнению данных, полученных в эксперименте с участием лабораторных животных, с таковыми, характерными для организма здорового человека. В представленной работе приведены результаты исследования осадка мочи, полученного от 100 клинически здоровых крыс линии Вистар (52 самки и 48 самцов) в возрасте 6–12 мес, с массой тела 250–350 г. Мочевой осадок утренней порции мочи животных после центрифугирования и соответствующей подготовки исследовали с помощью светового микроскопа. Все действия по подготовке нативных образцов были выполнены в соответствии с определенным алгоритмом в равных условиях. Элементы осадка оценивали согласно единым критериям для их идентификации, определяли количественное значение различных элементов осадка мочи с последующим проведением статистической обработки полученных данных и расчетом референтных интервалов для каждого показателя.

**Ключевые слова:** посадок мочи, крыса, норма, референтный диапазон.

**Для цитирования:** Кирсанова А.Ю., Кубрак Н.В. Показатели осадка мочи здоровых крыс линии Вистар. Лабораторные животные для научных исследований. 2022; 1: 3–7. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-01-01>

## QUANTITATIVE ESTIMATION OF URINE SEDIMENT IN HEALTHY WISTAR RATS

Kirsanova A.Yu., Kubrak N.V.

Federal State Budgetary Institution «National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Orthopaedics»  
Ministry Healthcare, Russian Federation, 640014, Russia, Kurgan, st. M. Ulyanova, 6.  
E-mail: vet.kirsanova@mail.ru

**Abstract.** No biological experiment is carried out without the participation of laboratory animals, while rats are most often used, which are a stable model that allows you to reproduce various pathological processes. For obtaining accurate data and their correct interpretation, it is important that the state of the experimental animals at the starting point of the experiment is as similar as possible. At the same time, the study of urine sediment is the easiest way to obtain information about the state of the organism. To diagnose a pathological process, it is necessary to compare results of examination with data characterizing the state of health within the same biological species. However, there is not enough scientific information about urine sediment in healthy rats, so, in many studies there is a tendency to compare the data obtained in an experiment with the participation of laboratory animals with data determined for a healthy human. The work presents the results of a study of urine sediment obtained from 100 clinically healthy Wistar rats (52 females and 48 males), aged 6–12 months, weighing 250–350 g. The urine sediment of the morning portion of the urine of animals, after centrifugation and preparation, was examined using a light microscope. All actions for the preparation of native samples were performed in accordance with a specific algorithm, under equal conditions. The elements of the sediment were assessed according to common criteria for their identification, the quantitative value of various elements of the urine sediment was determined, followed by the calculation of the reference intervals for each element.

**Key words:** urine sediment, rat, norm, reference range.

For citation: Kirsanova A.Yu., Kubrak N.V. Quantitative estimation of urine sediment in healthy wistar rats. Laboratory Animals for Science. 2022; 1: 3–7. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-01-01>

## Введение

Лабораторные животные являются важнейшей составляющей в структуре биологического эксперимента. Для исключения ошибок при оценке результатов исследований *in vivo* необходимо иметь четкое представление об особенностях анатомического строения и физиологических функций животных, используемых в эксперименте [1, 2].

Анализ мочи на сегодняшний день является наиболее простым и малозатратным способом, позволяющим получить информацию о состоянии некоторых внутренних органов и систем организма [3, 4]. Несмотря на многообразие различных методов, используемых для исследования мочи и мочевыделительной системы в целом, самым простым и доступным остается микроскопия осадка мочи.

Как правило, для анализа полученных результатов при исследованиях на животных в качестве биологической нормы применяют либо показатели нормы для человека, либо результаты собственных исследований с очень малой выборкой [3, 5]. Однако такой подход к интерпретации данных экспериментальных исследований может привести к искажению полученных результатов и, следовательно, к затруднению их экстраполяции на человека.

Учитывая, что в научной литературе отсутствуют стандартизированные данные, касающиеся показателей осадка мочи здоровых крыс, нет сомнения в целесообразности и необходимости проведения этих исследований [6, 7].

Цель исследования – определить референтный диапазон показателей осадка мочи здоровых крыс линии Вистар.

## Материал и методы

Для исследования были отобраны 100 интактных крыс линии Вистар без внешних признаков патологии, 52 самки (нерожавшие и небеременные) и 48 самцов в возрасте 6–12 мес, с массой  $300 \pm 50$  г. Животные находились в одинаковых условиях вивария: температура воздуха  $21\text{--}25^\circ\text{C}$ , относительная влажность 50–75%. Все крысы содержались группами в клетках, предназначенных для птиц и грызунов размером  $60 \times 33 \times 58$  см, в одной клетке находились преимущественно однопометники, при этом самки и самцы размещались отдельно друг от друга. В качестве подстилки использовали стружку лиственных пород деревьев. В комнатах, где находились клетки с экспериментальными животными, поддерживался 12-часовой цикл

освещения. Кормление крыс осуществляли согласно «Правилам содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33216-2014. Животным обеспечивали свободный доступ к воде.

Для исследования брали утреннюю порцию мочи животных, полученную при произвольном мочеиспускании во время фиксации животных руками [8], собранную в стерильную чашку Петри либо в одноразовый стерильный контейнер. Время от получения образца до выполнения микроскопического исследования осадка не превышало 30 мин. Средний объем полученной мочи у самок составлял  $0,6 \pm 0,2$  мл, у самцов –  $0,8 \pm 0,1$  мл. Перемешивание каждого образца перед центрифугированием проводили, осторожно переворачивая емкость. Собранный биоматериал помещали в центрифугу лабораторную медицинскую ОПн-8 (Бишкек, Киргизия) и центрифугировали со скоростью 2000 об/мин в течение 10 мин. После этого аккуратно сливали надосадочную жидкость, а каплю перемешанного осадка помещали на предметное стекло и накрывали покровным стеклом. Приготовленный таким образом нативный препарат подвергали обзорному исследованию при увеличении в 180 раз с помощью светового микроскопа «Микмед-5» (ЛОМО, Санкт-Петербург). Элементы осадка мочи оценивали согласно единым критериям для их идентификации [9]. Количество клеток в поле зрения определяли по среднему значению при подсчитывании, проведенном в 7–8 полях зрения. Оценивали клеточный состав, кристаллические и другие включения.

Статистическую обработку количественных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2010 (США). Оценку статистических выбросов осуществляли по методу Тьюки. Расчет выполняли отдельно для каждого показателя у самцов и самок. В дальнейшую работу не вошли данные, находившиеся за пределами границ 1-го (Q1) и 3-го (Q3) квартилей, межквартильный интервал IQR определяли как  $Q3 - Q1$ . Верхний и нижний пределы рассчитывали по формуле

$$Q1 - 1,5 \cdot IQR \text{ и } Q3 + 1,5 \cdot IQR.$$

Для установления вида распределения применяли критерий Шапиро–Уилка, сравнение между животными разного пола осуществляли с применением U-критерия Манна–Уитни (для ненормального распределения) и t-критерия Стьюдента (для случаев нормального распределения).

Таблица 1. Доля статистических выбросов

Показатели	Доля статистических выбросов, %	
	самки	самцы
Лейкоциты	0,0	4,1
Эритроциты	0,0	2,0
Плоский эпителий	1,9	0,0
Цилиндры гиалиновые	0,0	2,0
Кристаллы трипельфосфата	9,6	10,4
Кристаллы мочевой кислоты	0,0	0,0
Кристаллы фосфорнокислой извести	1,9	0,0
Кристаллы оксалата кальция	0,0	0,0
Кристаллы аммония	0,0	0,0
Сперматозоиды	–	8,3

Референтные интервалы показателей в случае нормального распределения рассчитывали, используя параметрический метод, по формуле

$$X_{cp} \pm 1,96S,$$

где  $X_{cp}$  – среднееарифметическое значение;  $S$  – среднеквадратическое отклонение.

Для ненормального распределения определяли значения в диапазоне 2,5–97,5 %.

Все экспериментальные исследования и манипуляции выполняли в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных.

## Результаты и обсуждение

Для исключения влияния значений, отличающихся от большинства данных, на конечный результат были выведены из дальнейшей работы статистические выбросы, рассчитанные по методу Тьюки для каждого показателя и пола экспериментальных животных. Данные о величине статистических выбросов представлены в табл. 1.

Следует отметить, что наибольший процент таких выбросов определяли среди данных по кристаллическим фосфатным включениям (9,6% среди самок и 10,4% среди самцов).

После исключения статистических выбросов и установления вида распределения были рассчитаны референтные интервалы по рекомендованным методикам [10]. Полученные результаты представлены в табл. 2. Статистически значимые различия (при  $p < 0,05$ ) между самцами и самками не выявлены.

В биологии и медицине зачастую необходимо дифференцировать состояние здоровья от патологии. Для определения данного разграничения используют понятие «референтные интервалы», отображающие верхние и нижние границы исследуемых параметров, определяемые среди здоровых особей со схожими качественными признаками популяции [1].

Известно, что даже если значения показателей выходят за пределы пороговых границ нормы, это не всегда становится признаком патологии. Тем не менее для чистоты проведения биологических экспериментов важно, чтобы исходное состояние подопытных животных было максимально идентичным. Также необходимым условием является сравнение исходных и полученных в результате эксперимента показателей в пределах одного биологического вида.

Принято считать, что у здоровых особей в моче отсутствуют кристаллические включения [1, 6]. Однако в данном эксперименте выявлено, что у здоровых крыс в осадке мочи присутствуют фосфаты в ограниченном количестве, в основном представленные кристаллами трипельфосфата и нейтральной фосфорнокислой извести. Вероятно, это связано с тем, что pH мочи крыс имеет более щелочную реакцию (7,3–8,5), что может создавать условия для формирования фосфатных соединений [7]. При этом в моче самок наблюдались достаточно крупные кристаллы, в то время как у самцов чаще встречались мелкие кристаллические образования, вплоть до аморфных фосфатов.

Известно также, что при щелочной реакции мочи гиалиновые цилиндры быстро растворяются или не формируются вообще [9]. Возможно, с этим связано то, что в данном исследовании гиалиновые цилиндры были достаточно редкой находкой и выявля-

Таблица 2. Референтные значения показателей осадка мочи крыс

Показатели	Самки		Самцы	
	формула для расчета	референтный интервал	формула для расчета	референтный интервал
Лейкоциты	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–5 (2)	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–5 (2)
Эритроциты	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–1 (0)	2,5–97,5‰ (50‰)	0–2 (1)
Плоский эпителий	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–3 (2)	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–3 (1)
Переходный эпителий	*	Отсутствует	*	Отсутствует
Почечный эпителий	*	– « –	*	– « –
Цилиндры гиалиновые	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–1 (0)	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–1 (0)
Кристаллы трипельфосфата	2,5–97,5‰ (50‰)	0–5 (2)	2,5–97,5‰ (50‰)	0–4 (1)
Кристаллы мочевой кислоты	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–6 (3)	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–5 (2)
Кристаллы фосфорнокислой извести	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–1 (0)	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–1 (0)
Аморфные фосфаты	*	Отсутствует	Отсутствует числовое выражение**	Незначительное количество
Кристаллы оксалата кальция	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–1 (0)	$X_{cp} \pm 1,96 \cdot S (X_{cp})$	0–1 (0)
Кристаллы аммония	2,5–97,5‰ (50‰)	0–1 (0)	*	Отсутствует
Кристаллы билирубина	*	Отсутствует	*	– « –
Слизь	*	– « –	*	– « –
Микробное обсеменение	*	– « –	*	– « –
Сперматозоиды	*	– « –	2,5–97,5‰ (50‰)	0–6 (2)

Примечание. Для данных с нормальным распределением в скобках указано среднее значение, для не подчиняющихся нормальному распределению – медиана; \* – невозможно выполнить расчет, поскольку элементы не обнаружены; \*\* – при невозможности подсчета числа элементов использовали выражение «незначительное количество» или «значительное количество».

лись лишь у 13% животных в очень небольшом количестве (не более 1 в поле зрения). Цилиндры, образующиеся при патологических состояниях (зернистые, эритроцитарные, лейкоцитарные и др.), не обнаружены.

## Заключение

Определены референтные диапазоны показателей осадка мочи здоровых крыс линии Вистар. Установлены особенности, касающиеся наличия кристаллических включений в осадке мочи, которые необходимо учитывать при проведении экспериментов и экстраполяции данных на человека.

### Благодарности

Авторы заявляют об отсутствии спонсорского финансирования исследования.

### Сведения о конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Вклад авторов

**Кирсанова А.Ю.** – идея, анализ и интерпретация результатов, статистическая обработка данных, написание и редактирование текста.

**Кубрак Н.В.** – сбор и систематизация материала, редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи.

### Acknowledgments

The authors declare no sponsorship funding for the research.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

### Contribution of authors

**Kirsanova A.Yu.** – idea, analysis and interpretation of results, statistical data processing, writing and editing of text.

**Kubrak N.V.** – collection and systematization of material, text editing, approval of the final version of the article.

## Литература

1. Проблеманормы в токсикологии / под ред. И.М. Трахтенберга. – М : Медицина, 1991. - 204 с. [Problema normy v toksikologii / pod red. I.M. Trakhtenberga. – М : Meditsina, 1991. - 204 p. (In Russ)].
2. Краснов В.В., Кубрак Н.В., Кирсанова А.Ю. Развитие экспериментальной вертебрологии и нейрохирургии в Российском научном центре «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова // Гений ортопедии. - 2017. - №23(2). - С. 134-139. [Krasnov V.V., Kubrak N.V., Kirsanova A.Yu. Razvitie eksperimental'noi vertebrologii i neirokhirurgii v Rossiiskom nauchnom tsentre «Vosstanovitel'naya travmatologiya i ortopediya» im. akademika G.A. Ilizarova // Genii ortopedii. - 2017. - №23(2). - P. 134-139. (In Russ)]. DOI:10.18019/1028-4427-2017-23-2-134-139
3. Соболев В.Е., Клинический и биохимический анализ мочи крыс при экспериментальном геморрагическом цистите // Ученые записки орловского государственного университета. - №7(63). - 2014. - С. 257-258. [Sobolev V.E., Klinicheskii i biokhimicheskii analiz mochi krysv pri eksperimental'nom gemorragicheskome tsistite // Uchenye zapiski orlovskogo gosudarstvennogo universiteta. - №7(63). - 2014. - P. 257-258 (In Russ)].
4. Стогов М.В., Овчинников Е.Н. Лабораторные тесты в доклинической диагностике остеоартроза. Аналитический обзор // Гений Ортопедии. - 2016. -1. - С. 96-103. [Stogov M.V., Ovchinnikov E.N. Laboratornye testy v doklinicheskoi diagnostike osteoartroza. Analiticheskii obzor // Genii Ortopedii. - 2016. - 1. - P. 96-103 (In Russ)]. DOI:10.18019/1028-4427-2016-1-96-103
5. Кирсанова А.Ю., Кубрак Н.В. Сравнительное исследование вариантов медикаментозной терапии в профилактике осложнений контузионной травмы спинного мозга на основании анализа состояния мочевого выделительной системы // Современные проблемы науки и образования. - 2021. - 3. [Kirsanova A.Yu., Kubrak N.V. Sravnitel'noe issledovanie variantov medikamentoznoi terapii v profilaktike oslozhnenii kontuzionnoi travmy spinnogo mozga na osnovanii analiza sostoyaniya mochevydelitel'noi sistemy // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. - 2021. - 3 (In Russ)]. DOI:10.17513/spno.30932
6. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / под ред. Макарова В.Г. - СПб: Лема. - 2013. - 118 с. [Spravochnik. Fiziologicheskie, biokhimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimental'nykh zivotnykh / pod red. Makarova V.G. - SPb: Lema. - 2013. - 118 p (In Russ)].
7. Sharp P., Villano J. S. The laboratory rat / CRC press. - 2012.
8. Трофимец Е.И., Кательникова А.Е., Крышень К.Л. Обзор по получению образцов мочи у лабораторных животных // Лабораторные животные для научных исследований. - 2021. - 1. С. 30-47. [Trofimets E.I., Katel'nikova A.E., Kryshen' K.L. Obzor po polucheniyu obraztsov mochi u laboratornykh zivotnykh // Laboratornye zivotnye dlya nauchnykh issledovaniy. - 2021. - 1. P. 30-47 (In Russ)]. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-04>
9. Миронова И.И., Романова Л.А. Атлас осадков мочи / Тверь: Триада. – 2003. - 139 с. [Mironova I.I., Romanova L.A. Atlas osadkov mochi / Tver': Triada. - 2003. 139 p (In Russ)].
10. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / СПб : ВМедА - 2005. - 266 с. [YUnkerov V.I., Grigor'ev S.G. Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannyh medicinskih isledovaniy / Spb : VMedA - 2005. - 266 p (In Russ)].