



## Морфометрические показатели органов свободных от патогенной флоры крыс sd (sprague dawley) в норме

И.А. Дьяченко<sup>1,2</sup>, Е.А. Калабина<sup>1</sup>, С.Г. Семушина<sup>1</sup>, И.А. Пахомова<sup>1</sup>,  
Г.А. Осипова<sup>1</sup>, А.В. Лобанов<sup>1,2</sup>, Э.Р. Шайхутдинова<sup>1,2</sup>, Г.А. Слащева<sup>1,2</sup>,  
Д.А. Бондаренко<sup>1,2</sup>, В.В. Шерстнев<sup>3</sup>, Д.И. Ржевский<sup>1,2</sup>, А.Н. Мурашев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> – Лаборатория биологических испытаний, филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пуццоно

<sup>2</sup> – Пуццинский государственный естественно-научный институт, Пуццоно

<sup>3</sup> – Лаборатория функциональной нейрхимии, НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина

Контактная информация: Дьяченко Игорь Александрович, [dyachenko@fibkh.serpukhov.su](mailto:dyachenko@fibkh.serpukhov.su)

Морфометрические показатели органов лабораторных животных, измеренные в разных лабораториях разными исследователями, существенно отличаются. По-видимому, эта разница обусловлена различными влияниями внешней среды и зависит от способа, момента и места взятия органов, пищевого режима, возраста животного и других факторов. Для получения достоверных и воспроизводимых результатов в исследованиях необходимы стандартные условия содержания животных, поэтому вопросам содержания экспериментальных животных в настоящее время уделяется очень большое внимание. Суммированы морфометрические показатели органов крыс SD (Sprague Dawley) категории СПФ (свободных от патогенной флоры), которые содержались в стандартных условиях, рекомендуемых для содержания лабораторных грызунов.

**Ключевые слова:** масса органов, крысы.

### Введение

Крысы (*Rattus norvegicus*) достаточно часто используются в биомедицинских исследованиях (до 21% от общего числа используемых видов) [2, 4]. Они являются основным объектом доклинических испытаний для установления безопасности потенциальных лекарственных препаратов. Для оценки токсичности новых фармакологических препаратов необходимо комплексное исследование морфометрических показателей органов эксперимен-

тальных животных. Однако в справочной литературе имеется мало данных по морфометрии органов крыс, и разные авторы приводят различные величины [1, 2, 3, 5]. Кроме того, публикуемые в отечественной литературе данные, в основном, относятся к животным с неконтролируемым статусом (генетическим, микробиологическим), содержащимся в вивариях с большой вариацией условий содержания и параметров микроклимата. Однако в соответствии с международными и российскими правилами

ми проведения доклинических испытаний, экспериментальные животные должны быть обеспечены стандартными условиями содержания, быть здоровыми и обладать определенным генетическим и микробиологическим статусом [7, 8]. Использование лабораторных грызунов категории СПФ снижает варибельность изучаемых показателей и обеспечивает воспроизводимость и достоверность результатов.

**Целью** данной работы было обобщение результатов морфометрического исследования органов, выполненного в лаборатории биологических испытаний ФИБХ РАН во время проведения доклинических испытаний на крысах SD (Sprague Dawley) с 2009 по 2011 гг. для выведения референсных значений показателей массы органов здоровых животных.

### Материалы и методы

Лаборатория имеет международную аккредитацию AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International), подтверждающую высокое качество работы с лабораторными животными. Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены Институтской комиссией по контролю над содержанием и ис-

пользованием лабораторных животных. Данные, включенные в эту публикацию, были получены на контрольных группах крыс SD (n = 80), участвовавших в исследованиях по выявлению субхронической токсичности или специфической активности различных препаратов. В статье представлены различные возрастные группы после введения в эксперимент (табл. 1).

В мировой практике аутбредные крысы SD (Sprague Dawley) наиболее часто используются в испытаниях общей токсичности веществ. Животные были получены из НПП «Питомник лабораторных животных» филиала Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН и имели статус СПФ, подтверждаемый сертификатом производителя. В «Питомник лабораторных животных» ядра животных поступали из Charles River Laboratories (USA) в 2001 и 2006 гг. Все исследования проводились согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» [6] и стандартным операционным процедурам лаборатории. Контрольные животные получали растворитель согласно способу и режиму введения исследуемых веществ опытным животным: внутривенные инъекции физиологического раствора в хвостовую вену,

Таблица 1  
Возрастные группы экспериментальных животных, подвергнутых морфометрическому анализу

Самцы CD			Самки CD		
Возраст (неделя)	Масса животных (г)	Количество животных (n)	Возраст (неделя)	Масса животных (гр)	Количество животных (n)
6	210,2±8,2	5	6	159,0±2,9	5
8	307,4±8,6	5	8	176,2±5,9	5
10-13	363,5±9,6	20	9-11	210,5±4,9	20
14-16	396,0±10,6	20	12-15	235,5±3,6	20
17-19	527,6±27,7	15	16-19	258,0±14,1	15
20-22	550,8±17,5	15	20-22	275±12,0	15

Таблица 2

Показатели массы органов самцов крыс SD относительно массы тела (%)

Органы	6 недель	8 недель	10-13 недель	14-16 недель	17-19 недель	20-22 недель
Масса животных (г)	210,2±8,2	307,4±8,6*#	363,5±9,6*#	396,0±10,6*#	527,6±27,7*	550,8±17,5*
Семенники, %	1,15±0,04	0,98±0,06*#	0,89±0,02*	0,81±0,01*#	0,69±0,03*#	0,65±0,04*
Селезенка, %	0,30±0,02	0,21±0,02*#	0,20±0,01*	0,19±0,01*	0,18±0,01*	0,16±0,01*
Почки, %	1,4±0,01	1,00±0,03*#	0,85±0,02*#	0,76±0,01*#	0,78±0,05*	0,76±0,04*
Надпочечники, %	0,026±0,001	0,018±0,001*#	0,019±0,001*	0,015±0,001*#	0,013±0,001*#	0,011±0,001*
Печень, %	3,97±0,08	3,73±0,11	3,58±0,06*	3,38±0,07*#	3,08±0,10*#	3,09±0,09*
Тимус, %	0,38±0,02	0,18±0,01*#	0,22±0,03*	0,09±0,01*#	0,06±0,01*#	0,05±0,01*
Сердце, %	0,43±0,01	0,37±0,01*#	0,37±0,01*	0,32±0,01*#	0,31±0,01*	0,28±0,02*
Головной мозг, %	0,91±0,34	0,65±0,02*#	0,57±0,01*#	0,49±0,03*#	0,42±0,02*	0,40±0,02*

\* – P<0,05 относительно группы «6 недель»; # – P<0,05 относительно предыдущей возрастной группы.

или питьевую воду зондом в желудок. Животных содержали в комнатах барьерного типа с контролируемыми условиями окружающей среды: температура 18-26°C, относительная влажность воздуха 30-70%, автоматическая смена 12-часового светового периода, 100% вентиляция. Условия содержания соответствуют стандартам, указанным в руководстве The Guide for Care and Use of Laboratory Animals [7]. Животные содержались в поликарбонатных клетках, в качестве подстилки использовался беспылевой подстил для грызунов (LIGNOCEL, Germany), представляющий собой древесную крошку. Животные получали автоклавированный стандартный экструдированный корм Агро-1 («Ассортиментагро», Россия) и профильтрованную водопроводную воду. Во время исследований животных содержали по 5 особей в клетке площадью 1815 см<sup>2</sup>. Животных лишали корма на ночь перед некропсией, оставляя свободный доступ к воде. Массу тела определяли непосредственно перед некропсией. Взвешивание органов проводили на платформенных весах с диапазоном измерения 0-210 г и точностью 0,0001

г. Парные органы взвешивали вместе, перед взвешиванием органы очищали от адипозной и соединительной ткани. Рассчитывали процентное отношение массы органа к массе тела, определенной непосредственно перед некропсией, а также к массе мозга.

Для всех данных была применена описательная статистика: подсчитаны среднее значение (Mean) и стандартная ошибка среднего (SEM), которые вместе со значением n представлены в итоговых таблицах. Данные по экспериментальным животным суммировали согласно возрастным категориям. Для определения достоверности отличий между возрастными группами применялся тест Mann-Whitney. Статистический анализ проводился программой Statistica – 7.0.

### Результаты и их обсуждение

Полученные данные о массе органов крыс в возрасте от 6 до 22 недель демонстрируют динамику показателей относительно массы тела и массы головного мозга с возрастом животных. Относительно массы тела у самцов наблюдалось

Таблица 3

Показатели массы органов самок крыс SD относительно массы тела (%)

Органы	6 недель	8 недель	9-11 недель	12-15 недель	16-19 недель	20-22 недель
Масса животных (г)	159,0±0,9	176,2±2,9*#	210,2±4,9*#	235,5±3,6*#	258,0±14,1*	275,0±12,0*
Яичники, %	0,071±0,004	0,071±0,004	0,056±0,001*#	0,051±0,002*#	0,046±0,003*	0,047±0,003*
Селезенка, %	0,26±0,03	0,21±0,01	0,24±0,01	0,23±0,01	0,21±0,02	0,20±0,01*
Почки, %	1,12±0,02	1,05±0,04	0,86±0,20*#	0,80±0,02*#	0,75±0,04*	0,76±0,01*
Надпочечники, %	0,035±0,002	0,038±0,001	0,033±0,001#	0,031±0,001	0,028±0,002*	0,029±0,001*
Печень, %	3,95±0,10	3,58±0,08*#	3,40±0,07*	3,28±0,06*	2,94±0,09*#	3,10±0,07*
Тимус, %	0,36±0,03	0,23±0,01*#	0,22±0,02*	0,25±0,04*	0,09±0,01*#	0,08±0,01*
Сердце, %	0,44±0,02	0,44±0,01	0,40±0,01#	0,42±0,20	0,37±0,02*	0,35±0,01*
Головной мозг, %	1,13±0,03	1,07±0,04	0,92±0,03*#	0,82±0,02*#	0,75±0,04*	0,71±0,03*

\* – P<0,05 относительно группы «6 недель»; # – P<0,05 относительно предыдущей возрастной группы.

постепенное снижение массы всех исследованных органов, что было связано с постоянным увеличением массы тела животных (табл. 2). Аналогичная тенденция наблюдалась и у самок, за исключением селезенки и надпочечников, относительная масса которых оставалась практически неизменной на протяжении всего срока наблюдения (табл. 3). Интересно, что к 19-недельному возрасту относительная масса таких органов как почки, сердце и головной мозг (а также яичники у самок) перестает снижаться по сравнению с предыдущей возрастной группой, а к 22-неделе стабилизируется масса всех органов.

При расчете значений массы органов относительно массы головного мозга (табл. 3, 4) было установлено, что часть параметров обладают отрицательной динамикой по аналогии с расчетом значений относительно массы тела, тогда как другие параметры обладают положительной динамикой или остаются стабильными на протяжении всей жизни. Это связано с тем, что масса головного мозга является более стабильным показателем, чем масса тела, и мало изменяется с возрастом. Так,

наблюдалось постепенное увеличение с возрастом животных относительной массы семенников у самцов, причем наиболее интенсивный прирост наблюдался в период с 6-ой по 8-ую неделю, что связано с периодом полового созревания. Интересно, что у самок относительная масса яичников не продемонстрировала явного прироста и была стабильна на протяжении всего периода наблюдения, что может быть связано с более ранним половым созреванием у самок (до 6-недельного возраста). Помимо половых желез, прирост относительной массы наблюдался в печени и сердце. Почки продемонстрировали различный характер динамики в зависимости от пола. У самок относительная масса почек практически не изменялась с возрастом, тогда как у самцов был явно выражен прирост их массы, особенно с 17-ой по 22-ую неделю жизни. Явная отрицательная динамика, по аналогии с расчетом относительной массы тела, наблюдалась у тимуса, что связано с его инволюцией с возрастом.

В итоге, к 22-ой неделе жизни животных процентное отношение массы практически всех органов к массе мозга у самцов

Таблица 4

Показатели массы органов самцов крыс SD относительно массы мозга (%)

Органы	6 недель	8 недель	10-13 недель	14-16 недель	17-19 недель	20-22 недель
Масса мозга (г)	1,96±0,03	1,99±0,03	2,06±0,03*	2,04±0,04*	2,20±0,02*#	2,19±0,04*
Семенники, %	127,1±4,8	150,6±8,5*#	151,4±3,3*	157,0±5,0*	165,2±6,7*	164,0±7,5*
Селезенка, %	33,62±2,37	31,84±1,87	34,67±1,27	35,96±1,56	43,22±3,75*	39,50±1,15*
Почки, %	125,7±5,6	154,3±8,4*#	146,2±4,5*	147,8±6,5*	186,2±14,0*#	191,0±6,0*
Надпочечники, %	2,86±0,13	2,79±0,07	3,30±0,11*#	2,93±0,16	3,08±0,10	2,76±0,22
Печень, %	436,9±20,2	576,1±2,5*#	613,2±15,6*	659,7±33,1*	738,9±39,9*	778,9±31,2*
Тимус, %	42,05±3,46	27,82±1,81*#	39,18±5,36	18,44±2,17*#	14,06±2,07*	13,06±1,18*
Сердце, %	47,69±2,81	56,46±1,13*#	63,04±2,28*#	62,89±2,53*	74,05±2,16*#	70,35±3,52*

\* – P<0,05 относительно группы «6 недель»; # – P<0,05 относительно предыдущей возрастной группы.

было выше, чем у самок, что коррелирует с большей массой тела у самцов. Исключение составили надпочечники, относительная масса которых была выше у самок.

#### Выводы

Получены ориентировочные величины показателей морфометрии органов здоровых животных аутобредных крыс SD категории СПФ, содержащихся в стандартных условиях. Выявлены отличия показателей массы органов у животных разных возрастных групп и разного пола, что важно учитывать при оценке результатов каждого конкретного исследования. Сопоставление данных по массе органов в относительных значениях от массы тела и от массы головного мозга позволило сделать предположение о том, что в исследованиях, в которых используются разные возрастные группы животных, или анализ массы органов производится на разных этапах жизни животных, целесообразно использовать расчет процентного отношения массы органов к массе головного мозга. Если же исследованию подвергаются животные одной возрастной группы, а также в случае проведения сравнения между животными

разного пола, более рационально использовать расчет процентного отношения массы органов к массе тела животного. Морфометрические данные, приведенные в настоящей статье, помогут исследователям разных лабораторий правильно интерпретировать результаты своих работ.

**Работа выполнена в рамках проекта «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг. по государственному контракту № 02.740.11.0773 и ДОГОВОР № 103 от «02» мая 2012 г.**

#### Список литературы

1. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. – М. 2003.
2. Дьяченко И.А. Сравнительный анализ нейротоксического действия изоформ зернамицина из гриба *Emergeliopsis salmosinematata*, Токсикологический вестник. 2010. № 2 (101). С. 48-52.
3. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования. М.: Изд-во ВПК, 2004.
4. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 267 от

Таблица 5

Показатели массы органов самок крыс SD относительно массы мозга (%)

Органы	6 недель	8 недель	9-11 недель	12-15 недель	16-19 недель	20-22 недель
Масса мозга (г)	1,79±0,03	1,88±0,03	1,93±0,02*	1,93±0,02*	1,92±0,02*	1,93±0,02*
Яичники, %	6,33±0,39	6,60±0,20	6,15±0,19	6,18±0,21	6,07±0,12	6,73±0,37
Селезенка, %	23,02±2,34	20,00±0,73	25,85±0,87#	28,13±0,89	27,68±2,14	28,92±1,70
Почки, %	99,49±1,58	98,33±2,32	94,05±2,38*	97,75±2,77	100,72±5,35	108,57±4,74
Надпочечники, %	3,10±0,14	3,53±0,11*#	3,62±0,13*	3,81±0,10*	3,75±0,17*	4,12±0,25*
Печень, %	351,3±14,5	335,8±10,4	371,6±11,6#	401,2±8,3*#	393,1±16,5	439,9±14,1*
Тимус, %	32,22±2,59	22,06±1,18*#	23,43±1,99*	30,42±4,46	11,99±0,83*#	10,77±0,68*
Сердце, %	39,04±2,54	41,25±0,80	43,39±0,92	51,61±2,00*#	48,97±1,96*	49,62±2,45*

\* – P<0,05 относительно группы «6 недель»; # – P<0,05 относительно предыдущей возрастной группы.

19.06.2003 «Правила лабораторной практики в Российской Федерации».

5. Мурашев А.Н., Хохлова О.Н., Ржевский Д.И., Жармухамедова Т.Ю. Принципы организации и проведения доклинических (фармакологических) исследований в соответствии с международными стандартами. М.: ИРДПО. 2008. ISBN 978-5-903465-05-7. 90 с.
6. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М. 2005.
7. Жармухамедова Т.Ю., Хохлова

*О.Н., Гуськова Т.А., Ржевский Д.И., Мурашев А.Н.* Обязанности руководителя исследования при проведении испытаний безопасности химических веществ, биотехнологических и нанотехнологических продуктов в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики // Токсикологический вестник. 2009. № 5. С. 2-4.

8. Бондаренко Д.А., Дьяченко И.А., Скобцов Д.И., Мурашев А.Н. IN VIVO модели для изучения анальгетической активности // Биомедицина. № 2. 2011. С. 84-95.

## Morphometric characters of normal specific pathogen-free sd (sprague dawley) rats

I.A. Dyachenko, E.A. Kalabina, S.G. Semushina, I.A. Pakhomova, G.A. Osipova, A.V. Lobanov, D.I. Rzhnevsky, V.V. Sherstnev, A.N. Murashev

Morphometric characters of laboratory animals measured in different laboratories by different investigators are varied essentially. Apparently, this difference is caused by various influences of environment, depends on the way, moment and a place of blood sampling, dietary, animal age and some other factors. Standard conditions of animal's maintenance are necessary for valid and reproducible research data therefore much attention now is given to the experimental animals care and use. This paper summarizes morphometric characters of SD (Sprague Dawley) rats mice which had SPF status (specific pathogen free) and were housed in standard conditions recommended for laboratory rodents maintenance.

**Key words:** organ weight, rats.