

УДК 616.151.5:612.12]-074-092.9+615.074:54+611.133

Алгоритм получения референсных значений коагулограммы общего и биохимического анализа крови крыс-самцов Wistar при заборе ее из сонной артерии

А.А. КИНЗЕРСКИЙ, М.С. КОРЖУК, В.Т. ДОЛГИХ

Омский государственный медицинский университет, ул. Ленина, д. 12, г. Омск, 644099, Российская Федерация.

Актуальность. На сегодняшний день мало работ, освещающих детально решение проблемы в экспериментальной медицине по принципу «how to do it», после изучения которых читателю становится предельно ясно, как воспроизвести предложенную методику самому. Это имеет отношение и к забору крови с целью оценки определенных показателей у мелких лабораторных животных.

Цель. Разработать методику катетеризации сонной артерии для определения референсных значений коагулограммы, общего и биохимического анализа крови у крыс-самцов линии Wistar. Уточнить полученные значения бутстреп-методом и сравнить с ранее опубликованными данными.

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах-самцах ($n=42$) линии Wistar массой 270-380 г. Доступ к левой сонной артерии осуществлен с учетом анатомических особенностей животного, в условиях наркоза тилетамин/золазепам (20-40 мг/кг внутримышечно) + ксилазин (5-10 мг/кг внутримышечно). Статистическая обработка выполнена на языке программирования R с использованием статистических пакетов "boot", "car", "sm", "coin", "VIM" и "mice". Референсные значения уточнены бутстреп-методом. Сравнение с литературными данными выполнено пермутационным тестом с коррекцией уровня α на множественные сравнения методом Беньямини-Йекутили. Уровень α принят, равный 0,05

Результаты и их обсуждение. Разработан рациональный доступ к сонной артерии и способ ее катетеризации. Определены и уточнены бутстреп-методом референсные значения коагулограммы, общего и биохимического анализа крови крыс-самцов линии Wistar. При сравнении показателей, полученных ранее у крыс-самцов линии Wistar другими авторами, статистически значимые различия были получены по всем показателям, кроме количества лейкоцитов, тромбоцитов, показателя гематокрита и общего билирубина. Полученные отличия, возможно, связаны с разными климатическими условиями, характером анестезиологического пособия, доступом при заборе крови и большим разбросом возраста у сравниваемых крыс. Клинически различия незначимы.

Заключение. Разработанный алгоритм получения референсных значений образцов анализов крови у крыс можно считать рациональным и воспроизводимым, полученные значения показателей следует считать референсными.

Ключевые слова: крысы самцы Wistar; референсные значения, сонная артерия, общий анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма, бутстреп, тест пермутации

The Algorithm for Obtaining Referential Meanings of Biochemical and Complete Blood Tests Coagulogram in Wistar Male Rats at Blood Sampling from Carotid Artery

A.A. KINZERSKIY, M.S. KORZHUK, V.T. DOLGICH

Omsk State Medical University, 12, Lenin str., Omsk, 644099, Russian Federation

Background. At present time there are few works throwing some light on the details of solving a problem in a field of experimental medicine by the "how to do it" principle which after having studied them give readers a good grasp of reproducing the offered technique on their own. It also concerns blood sampling with the aim of assessing certain indicators at small laboratory animals.

Objectives. To work out the technique of carotid artery catheterization for detecting the referential meanings of biochemical and complete blood tests coagulogram on Wistar male rats. To define more precisely the obtained values by the bootstrap method and to compare them with the data to have published before.

Materials and methods. The research was conducted on Wistar male rats ($n=42$) weighing 270-380 g. The access to the left carotid artery was implemented with taking into account some anatomic features of an animal being anesthetized with tiletamin/zolazepam (20-40 mg/kg intramuscularly) + xylazine (5-10 mg / kg. intramuscularly). Statistical treatment has been conducted in the programming language R with using the statistical packages "boot", "car", "sm", "coin", "VIM" and "mice". The referential meanings have been defined by the bootstrap method.

Comparing with literature data was executed by the permutational test with p -level correction for multiple comparisons by using the Benjamini-Yekutieli method, the level α was accepted as equal 0,05.

Results and Discussion. The rational access to a carotid artery and its catheterization way have been developed. The referential meanings of biochemical and complete blood tests coagulogram were developed and defined by using the bootstrap method on Wistar male rats. While comparing the indicators to have received earlier from Wistar male rats by other researchers, the statistically

significant differences were received in all indicators, except the quantity of leucocytes, thrombocytes, and indicators of hematocrit and total bilirubin. The received differences are likely to be connected with different climatic conditions, the character of anesthesia care, accessing to blood sampling, and wide range of the compared rats' age. Clinically differences are insignificant.

Conclusion. The developed algorithm for obtaining referential meanings of blood tests samplings from rats can be considered to be rational and reproduced and the received indicators' values should be considered to be referential.

Key words: Wistar male rats, referential meanings, carotid artery, complete blood tests, biochemical blood tests, coagulogram, bootstrap method, permutation test

В современной литературе, особенно отечественной, не так много публикаций, детально освещающих работу с экспериментальными животными по принципу «how to do it», после прочтения которых у исследователя не возникнет существенных вопросов при попытке воспроизвести предложенную методику самому. Это имеет отношение и к забору крови с целью оценки определенных показателей у мелких лабораторных животных, в частности, лабораторных крыс линии Wistar. На сегодняшний день предложено несколько возможных доступов для забора крови и определения показателей коагулограммы, общего и биохимического анализа крови у лабораторной крысы: вентральная хвостовая вена, дорсальная артерия хво-

ста, задняя вена стопы, подкожная вена голени, мандибулярная вена и артерия, яремная вена, ретроорбитальный синус, полая вена, бедренная артерия и вена, аорта, сердце и сонная артерия [8, 9].

Естественно, что при использовании того или иного доступа результаты полученных анализов могут отличаться в силу различных метаболических, анатомических и физических факторов [10], кроме того у каждого доступа есть свои ограничения по возможному реальному объему, времени забора крови и технические особенности при выполнении [9]. При работе с экспериментальным животным небольшой массы тела актуальным остается возможность забрать образец крови быстро, в необходимом объеме и из одного про-

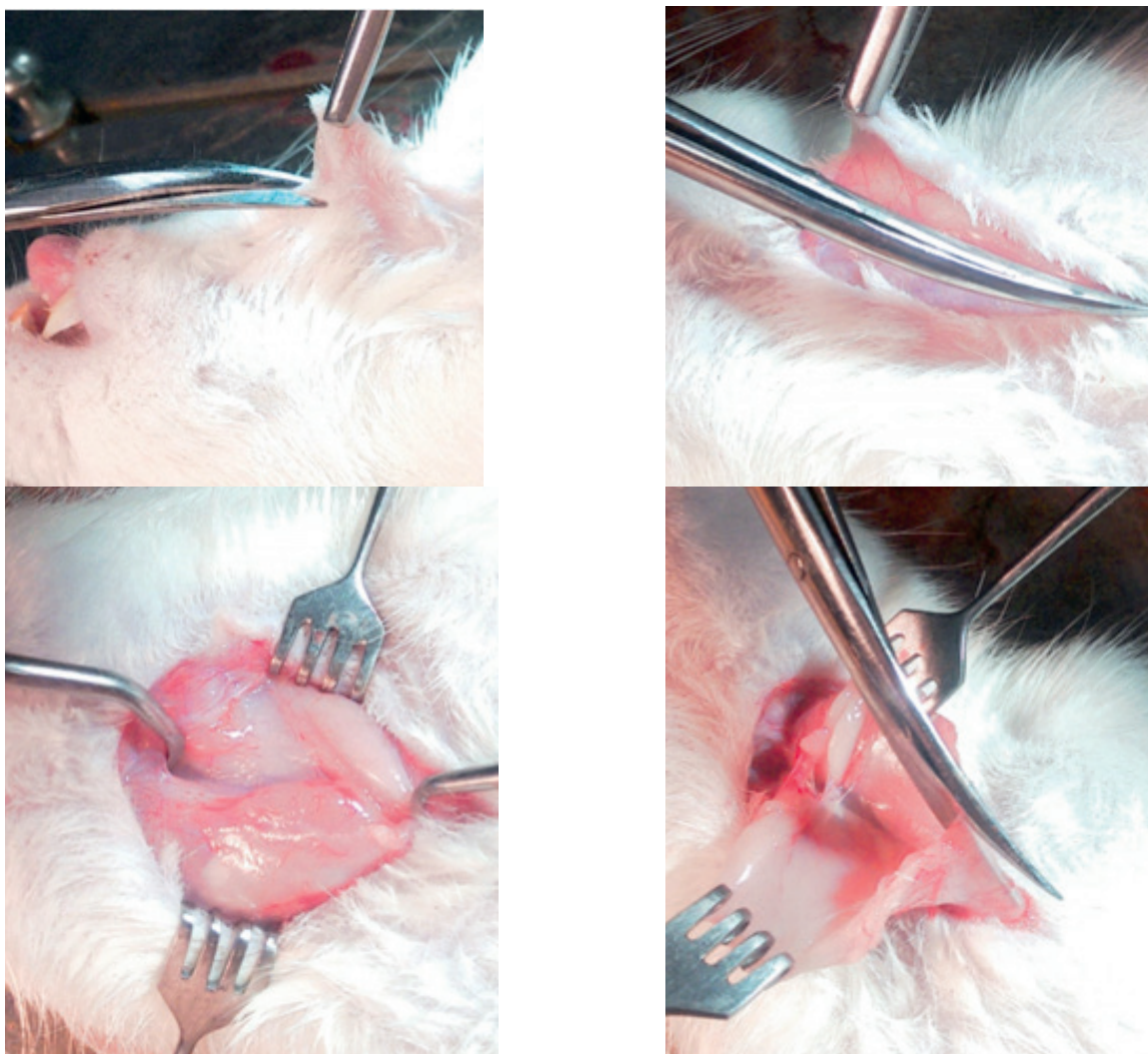


Рис. 1-4. Рассечение кожи подкожной жировой клетчатки. / Fig. 1-4. Dissecting skin of subcutaneous fat.

Таблица 1 / Table 1

Статистики и референсные значения показателей коагулограммы, общего и биохимического анализа крови у эмпирической выборки крыс-самцов линии Wistar / Statistics and referential values of the coagulogram indicators, biochemical and complete blood tests from Wistar malerats of empirical sample

Показатель/ Test	M _e	Q ₁	Q ₃	M	SD	p	2,5%	97,5%	M±1,96 SD
Эритроциты, *10 ¹² /л / Erythrocytes, *10 ¹² /L	8,14	7,43	8,68	7,99	0,88	0,25	-	-	6,27-9,72
Лейкоциты,*10 ⁹ /л / Leukocytes, *10 ⁹ /L	5,0	3,43	6,53	4,98	1,99	0,75	-	-	1,08-8,88
Тромбоциты,*10 ⁹ /л/ Platelets, *10 ⁹ /L	831	769	926	860	146	0,22	-	-	574-1146
Гемоглобин, г/л / Hemoglobin,g/L	152	139,2	158,8	150	12,64	0,55	-	-	125,2-174,8
Гематокрит/ Hematocrit, %	45,1	40,17	48,1	44,47	5,15	0,49	-	-	34,38-54,56
Глюкоза,ммоль/л* / Glucose,mmol/L*	7,53	6,1	10,39	8,39	3,2	0,044	4,17	15,5	2,12-14,66
Общий билирубин, мкмоль/л / Total bilirubin,μmol/L	1,45	1,1	1,98	1,55	0,65	0,31	-	-	0,28-2,82
АлАТ, Ед/л* / ALT, U/L*	30	24,45	37,03	31,83	8,88	0,002	21,0	50,3	14,43-49,24
АсАТ, Ед/л* / AST, U/L*	73,85	64	98,28	81,74	22,74	0,007	53,0	124	37,17-126,3
Креатинин, мкмоль/л / Creatinine,μmol/L	35,05	30,55	42	36,69	8,97	0,61	-	-	19,11-54,27
Мочевина, ммоль/л* / Urea,mmol/L*	4,75	4,32	5,93	5,05	1,12	0,015	3,23	7,53	2,85-7,25
Общий белок, г/л / Totalprotein,g/L	53,7	52	56,75	53,83	3,68	0,36	-	-	46,62-61,04
Лактат, ммоль/л/ Lactate, mmol/L	1,06	0,84	1,22	1,05	0,3	0,32	-	-	0,46-1,64
АЧТВ, с / АРРТ, sec	32,9	29,75	37,43	33,57	5,1	0,47	-	-	23,57-43,57
ПВ, с* / PT, sec*	12,85	10,3	14,85	12,8	2,76	0,049	8,9	17,2	7,39-18,21
ТВ, с / TT, sec	53,5	49,7	55,77	52,93	4,17	0,86	-	-	44,76-61,1
Фибриноген, г/л* / Fibrinogen,g/L*	1,99	1,76	2,29	2,03	0,47	0,038	1,37	3,1	1,11-2,95
Плазминоген/ Plasminogen, %	90,5	86,25	97,75	91,69	8,08	0,38	-	-	75,85-107,5
АТ III, %	98,7	92,55	106,4	98,8	10,66	0,93	-	-	77,91-119,7

Примечание / Note: * значение Шапиро-Уилка $p < 0,05$. / Note: * the Shapiro-Wilk test value $p < 0,05$.

стого доступа с возможностью выполнения повторных измерений. В полной мере этим требованиям отвечает канюлирование сонной артерии под анестезией золазепамом/тилетамином + ксилазином, которое делает возможным получить образцы крови объемом до 10-12 мл у крыс массой 270-380 г в течение 1-2 мин для оценки коагулограммы, биохимического и общего анализа. Это позволяет изучать различные патологи-

ческие состояния и объективно сравнивать контрольную и экспериментальную группы.

Цель исследования. Разработать доступ и методику катетеризации сонной артерии для получения образцов крови и определения референсных значений коагулограммы, общего и биохимического анализа крови у крыс-самцов линии Wistar, уточнив получен-

Статистики и референсные значения показателей коагулограммы, общего и биохимического анализа крови у бутстреп-выборки крыс-самцов линии Wistar / Statistics and referential values of the coagulogram indicators, biochemical and complete blood tests from Wistar male rats of the bootstrap method sample

Показатель / Test	M _e	95 CI %	M	95 CI %	SD	95 CI%	M±1,96SD
Эритроциты, *10 ¹² /л / Erythrocytes, *10 ¹² /L	8,11	7,62-8,35	7,99	7,73-8,25	0,87	0,761,04	6,28-9,7
Лейкоциты, *10 ⁹ /л / Leukocytes, *10 ⁹ /L	4,96	3,9-5,65	4,98	4,4-5,57	1,99	1,71-2,39	1,08-8,88
Тромбоциты, *10 ⁹ /л / Platelets, *10 ⁹ /L	843	798-896	860	817-907	143	119-178	579-1140
Гемоглобин, г/л / Hemoglobin, g/L	150,91	143- 153	150,04	146,2-153,6	12,42	10,67-15,67	125,7-174,38
Гематокрит / Hematocrit, %	45,25	41,7-47,1	44,49	42,93- 45,93	5,05	4,4- 6,42	34,59-54,39
Глюкоза, ммоль/л / Glucose, mmol/L	7,65	6,68-8,46	8,39	7,5- 9,46	3,14	2,65- 3,96	2,24-14,54
Общий билирубин, мкмоль/л / Totalbilirubin, μmol/L	1,5	1,1- 1,75	1,55	1,37- 1,76	0,64	0,55- 0,78	0,3-2,8
АлАТ, Ед/л /ALT, U/L	30,77	25-33,1	31,83	29,47-34,89	8,66	6,81- 12,88	14,86-48,8
АсАТ, Ед/л / AST, U/L	75,46	72,0-87,0	81,77	75,56- 89,27	22,25	18,9- 29,54	38,16-125,38
Креатинин, мкмоль/л / Creatinine, μmol/L	36,0	32,9-39,2	36,7	34,2-39,5	8,84	7,49-10,79	19,37-54,03
Мочевина, ммоль/л / Urea, mmol/L	4,74	4,49-4,98	5,05	4,73- 5,4	1,11	0,93- 1,37	2,87-7,23
Общий белок, г/л / Totalprotein, g/L	53,68	52,3-54,85	53,84	52,73-54,88	3,62	3,08- 4,46	46,75-60,94
Лактат, ммоль/л / Lactate, mmol/L	1,05	0,9-1,16	1,05	0,97- 1,14	0,29	0,25- 0,36	0,48-1,62
АЧТВ, с / АРРТ, sec	33,07	30,6- 35,75	33,6	32,08-35,11	5,02	4,39- 6,21	23,76-43,44
ПВ, с / PT, sec	12,91	10,85- 14,3	12,8	11,97- 13,67	2,72	2,41- 3,42	7,47-18,13
ТВ, с / TT, sec	52,89	50,65- 54,25	52,94	51,66- 54,15	4,1	3,5- 5,05	44,9-60,98
Фибриноген, г/л / Fibrinogen, g/L	1,96	1,79- 2,05	2,03	1,9-2,19	0,46	0,38- 0,58	1,13-2,93
Плазминоген / Plasminogen, %	91,12	88,5-95	91,69	89,21- 94,12	7,95	6,87- 9,65	76,11-107,27
АТ III, %	98,56	94,15-102,15	98,77	95,64- 102,04	10,49	8,86- 13,19	78,21-119,33

ные значения бутстреп-методом и сравнив их с ранее опубликованными данными.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на крысах-самцах (n=42) линии Wistar массой 270-380 г, наркотизированных тилетамин/золазепамом (40 мг/кг внутримышечно) + ксилазином (10 мг/кг внутримышечно). Глубину наркоза оценивали по отсутствию глотательного

и ресничного рефлекса, а также отсутствию реакции на боль при сжимании запястья или пальца на лапке. Кровь для анализа забирали из левой сонной артерии, доступ к которой осуществлен с учетом анатомических особенностей животного. Забор крови для анализа осуществляли за 1 мин в следующем порядке и объеме: 200 мкл в микроветту с ЭДТА шприцем 1 мл для общего анализа крови, 500 мкл шприцем 1 мл с 18

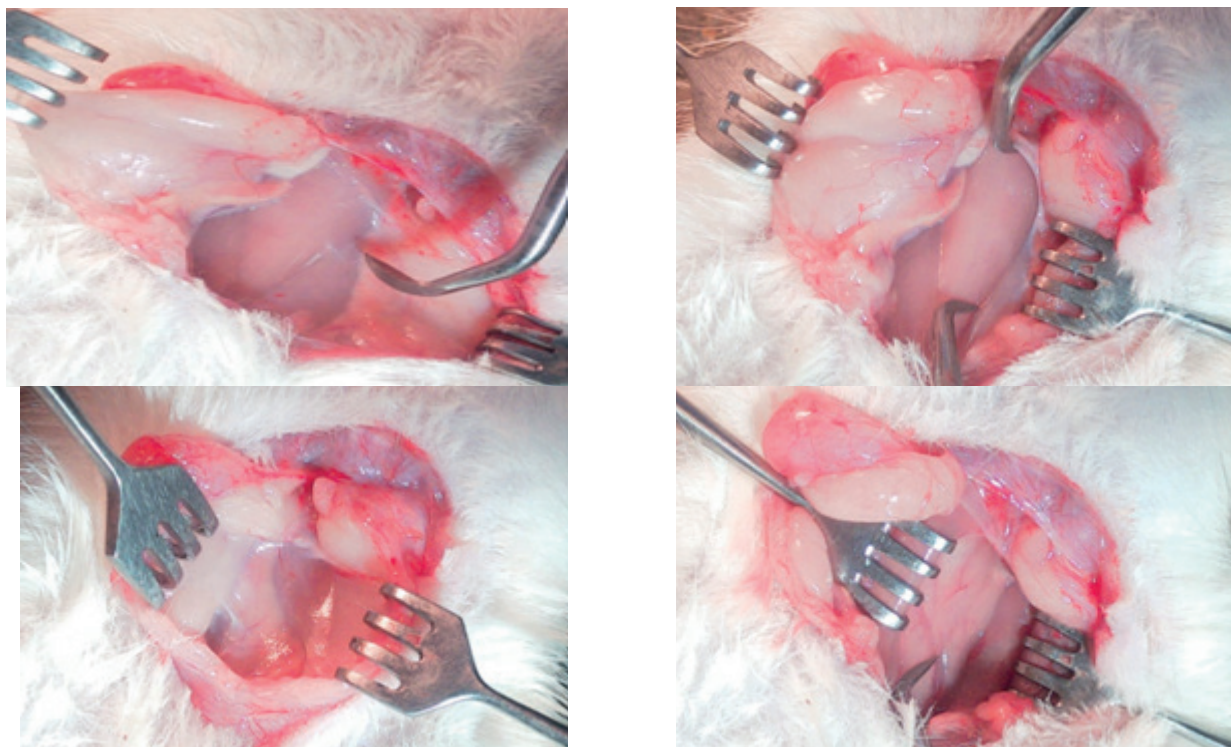


Рис. 5-8. Отведение в стороны поднижнечелюстных слюнных желез, выделение и отведение кивательной мышцы кнаружи. / Fig. 5-8. Drawing the submandibular salivary glands to the sides, allocation and allotment of the sternocleidomastoid muscles laterally.

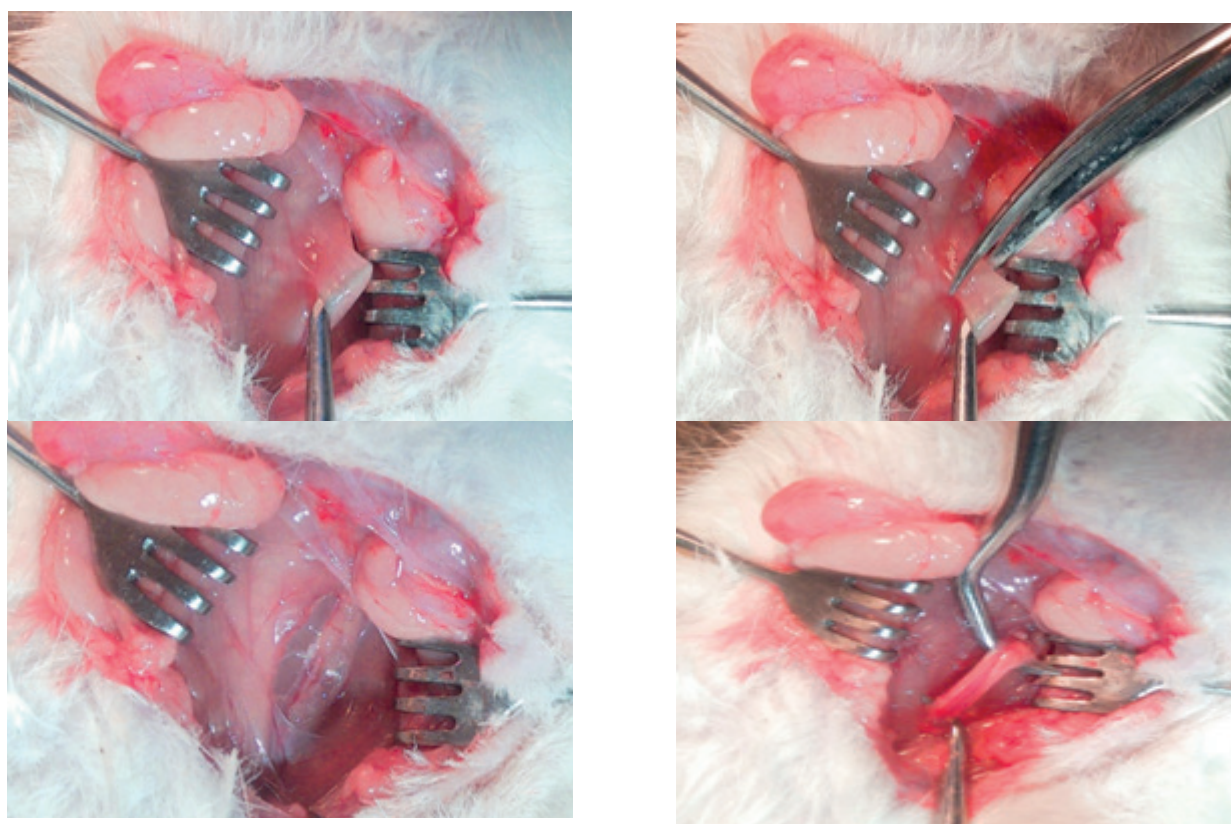


Рис. 9-12. Рассечение лопаточно-подъязычной мышцы и выведение в рану сосудисто-нервного пучка шеи. / Fig. 9-12. Dissecting the scapular-hyoid muscles, and excreting the neurovascular bundle of the neck in the wound.

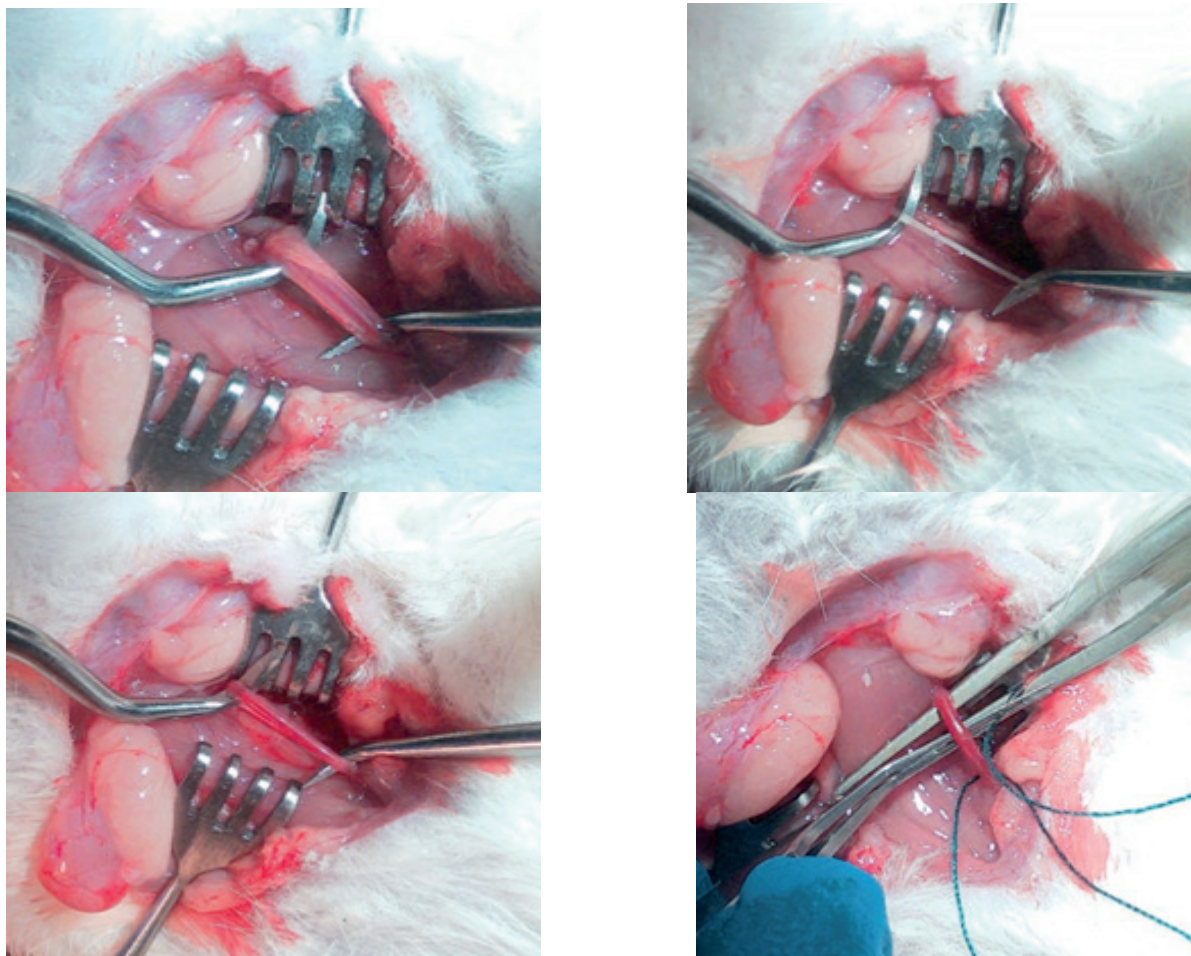


Рис. 13-16. Отсепаровка блуждающего нерва. / Fig. 13-16. The separation of the vagus nerve.

МЕ/мл гепарина-натрия для оценки глюкозы и лактата, 4,5 мл шприцем 6 мл с 0,5 мл 3,8% цитратом для оценки параметров коагулограммы, 5 мл шприцем 6 мл без цитрата для оценки биохимического анализа крови. Анализ выполняли в течение 1 часа.

Показатели общего анализа крови, такие как количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, уровень гемоглобина и показатель гематокрита, оценивали на автоматическом гематологическом анализаторе ABX Micros ES 60, показатели биохимического анализа крови, такие как сывороточный уровень общего билирубина, активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ), уровень креатинина, мочевины и общего белка, – на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus, содержание глюкозы и лактата – на автоматическом анализаторе глюкозы и лактата Super GL Ambulance, уровень фибриногена – на полуавтоматическом коагулометре Thrombotimer 4 Behnk Elektronik, показатели активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового времени (ПВ), тромбинового времени (ТВ) и антитромбина III (хромогенный метод) – на автоматическом анализаторе коагуляции крови Sysmex CA-600, плазминогена (хромогенный метод) на полуавтоматическом

фотометре Riele 5010 v5+ с использованием длины волны, равной 405 нм. Для определения показателей коагулограммы использовали реактивы ООО фирмы «Технология-Стандарт». Из эксперимента животного выводилось за счет забора максимально возможного объема циркулирующей крови через катетер в левой сонной артерии и как следствие остановки дыхания и сердечной деятельности при поддержании глубины общей анестезии.

Статистическая обработка полученных результатов была проведена при помощи языка программирования R с использованием статистических пакетов “boot”, “car”, “sm”, “coin”, “VIM” и “mice” [3, 4, 7]. Выбросы исключены методом Тьюки на основе интервала «нормальных» значений: $[Q1-1,5 \cdot IQR, Q3+1,5 \cdot IQR]$, где $Q1, Q3$ — границы первого и третьего квартилей, $IQR=Q3-Q1$ — межквартильный размах. Пробелы показателей были заполнены с помощью многомерного восстановления данных связанными уравнениями (multivariate imputation by chained equations) пакетами “VIM” и “mice”. Нормальность распределения оценивалась по критерию Шапиро-Уилка, а также перепроверялась графически с использованием квантильных графиков методом огибающих Б. Рипли (simulation envelopes) и кривых ядерной плотности, реализован-

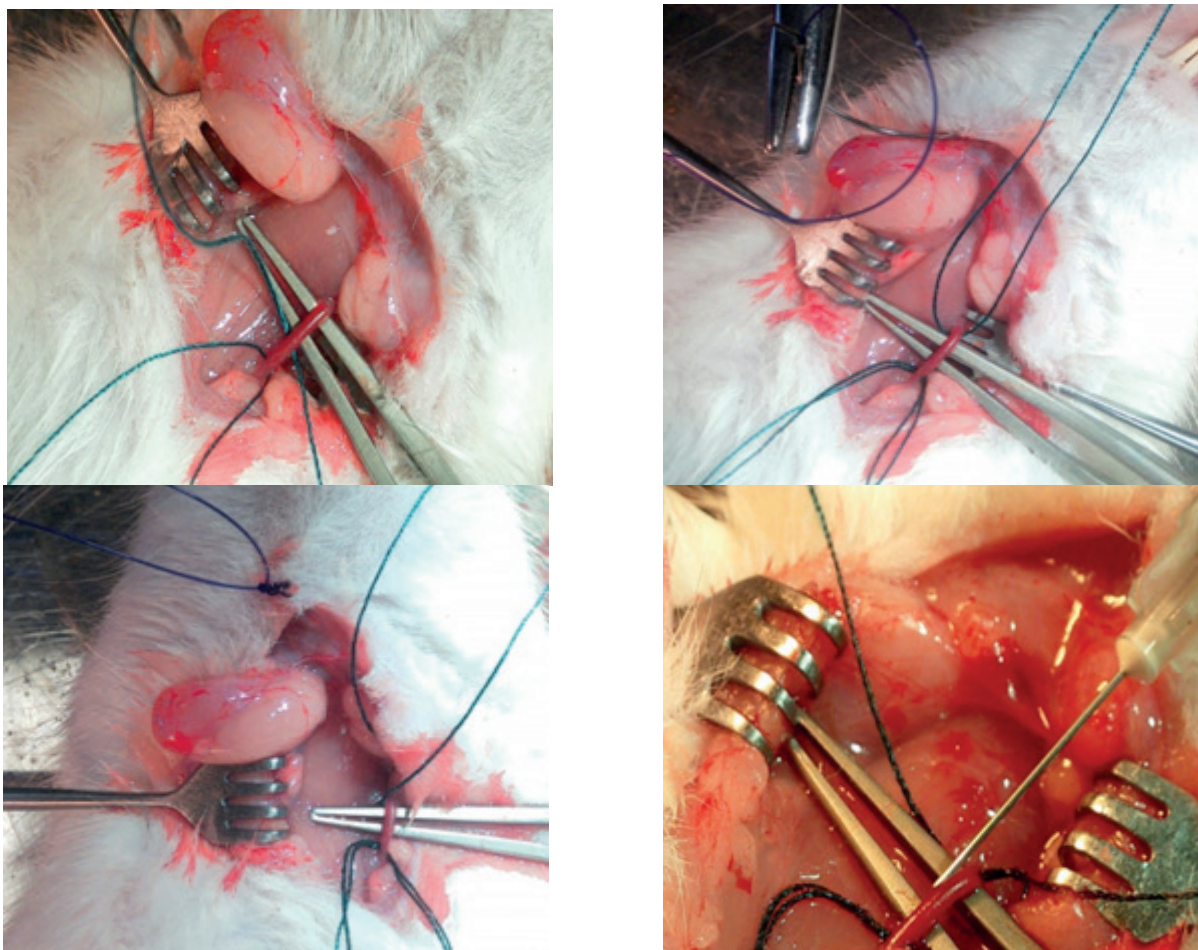


Рис. 17-20. Подведение лигатур под сонную артерию, наложение шва на кожу для фиксации катетера и пункция сосуда иглой. / Fig. 17-20. Bringing up the ligatures under the carotid artery, suturing to the skin for fixing the catheter, and puncturing vessel with a needle.

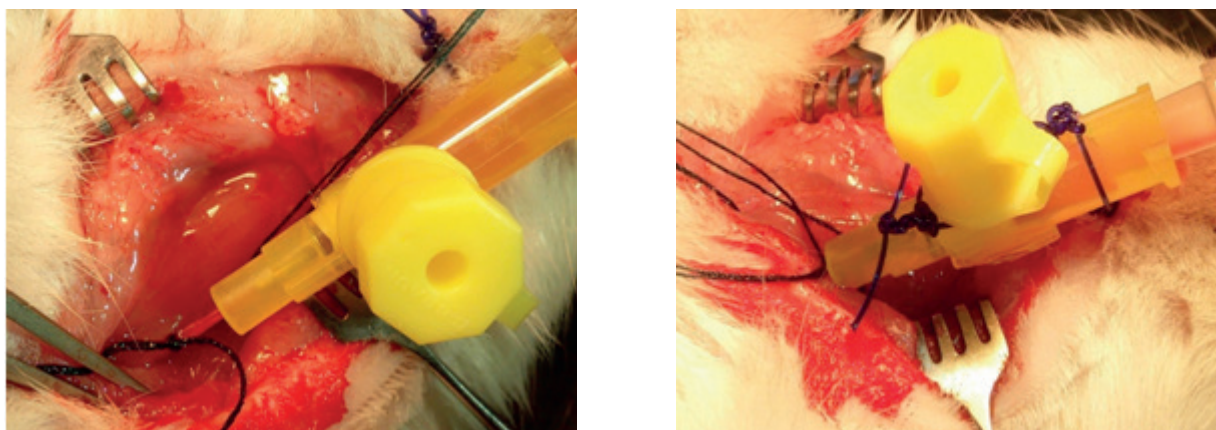


Рис. 21-22. Установка катетера в сонную артерию и его фиксация к коже. / Fig. 21-22. Installation of catheter in the carotid artery and its fixation on skin.

ных соответственно в пакетах “car”, “sm”. Для всех показателей определены были медиана (Me), среднее (M), первый и третий квартиль (Q1, Q3) и среднее квадратичное отклонение (SD). Референсные значения представлены в виде $M \pm 1,96SD$, дополнительно для показателей с ненормальным распределением по критерию Шапиро-Уилка границы нормы определены в рамках 2,5 и 97,5%. Референсные значения всех пока-

зателей были уточнены методом бутстрэпа с коррекцией смещения и ускорением (BCa) на основании 5000 псевдовыборок. Рассчитаны среднее, медиана, стандартное среднее квадратичное отклонение бутстреп-выборки и их 95% доверительные интервалы (95 CI %). Для расчета референсных границ использовали среднее и стандартное квадратичное отклонение бутстреп-выборки. Сравнение

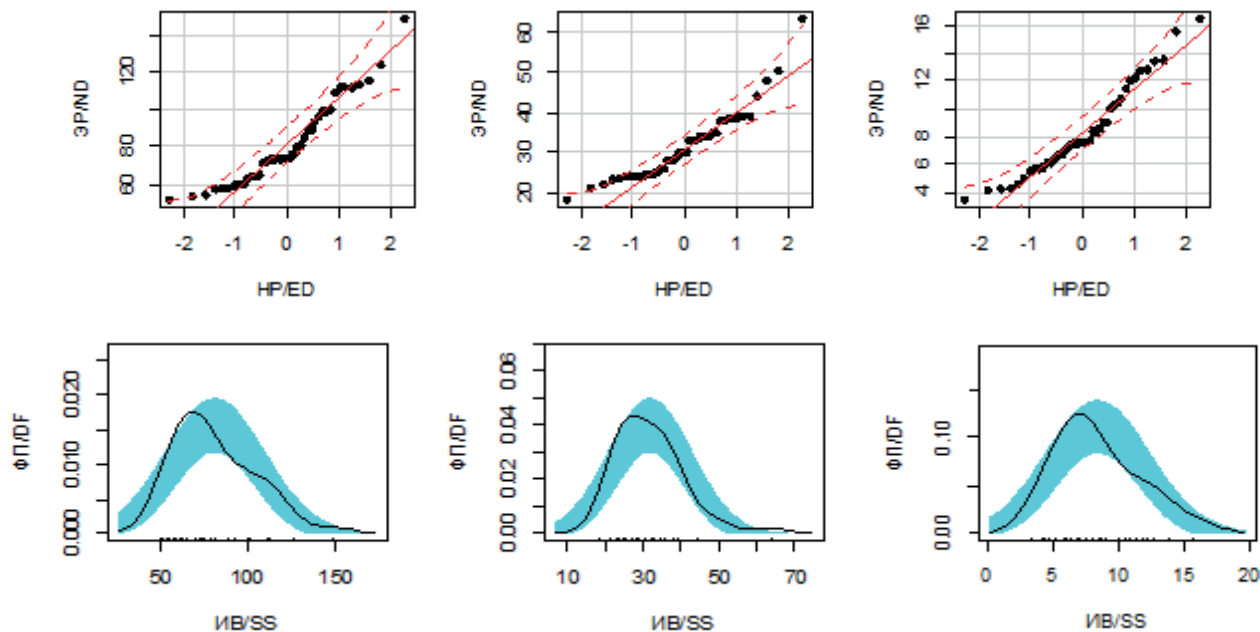


Рис. 23. График квантилей с огибающими (вверху) и график ядерной плотности (внизу) для 1- АсАТ, Ед/л; 2 - АлАТ, Ед/л; 3- глюкозы, ммоль/л. ЭР - эмпирическое распределение, НР - нормальное распределение (z-шкала), ФП - функция плотности, ИВ - имитированная бутстрепом выборка. / Fig. 23 The quantiles graph with envelopes (top) and nuclear density graph (bottom) for the 1 - AST, U/L; 2 - ALT, U/L; 3 - glucose, mmol/L. ED - empirical distribution, ND - normal distribution (z-scale), DF - density function, SS - simulated (by the boot strap method) sample.

между группами выполнено пермутационным тестом с 10000 итераций из пакета “coi” для двух выборок с коррекцией уровня p на множественные сравнения методом Беньямини-Йекутили. Уровень α принят, равный 0,05.

Результаты и их обсуждение

Доступ к сонной артерии осуществляли с учетом анатомии животного в следующем порядке. Ножницами рассекалась кожа и подкожная жировая клетчатка по средней линии от уровня углов нижней челюсти до грудины рис. 1-4. Поднижнечелюстные слюнные железы тупым способом отводились в разные стороны, а кивательная мышца - кнаружи рис. 5-8. После рассечения лопаточно-подъязычной мышцы с левой стороны обнажался главный сосудисто-нервный пучок шеи, который выводился из глубины раны на офтальмологическом пинцете рис. 9-12. Далее тупым способом производилась отсепаровка блуждающего нерва от сонной артерии во избежание его повреждения при перевязке сосуда. После выделения в ране визуализировался отрезок левой сонной артерии около 1,5 см рис. 13-16. Под центральный конец выделенного участка сонной артерии подводили две, а под периферический - одну, капроновые или викриловые лигатуры 3-0, которыми в дальнейшем выполнялась перевязка сосуда. В верхнем углу раны на кожу накладывали один узловый шов 3-0 полипропиленовой или викриловой лигатурой, свободные концы нити в последующем использовали для фиксации катетера рис. 17-19. Периферический конец выделенного участка сонной арте-

рии перевязывали ранее подведенной нитью, а нити под приводящим концом натягивали, одновременно приподнимая подведенный под сосуд пинцет, за счет чего происходило ограничение кровотока по артерии [2]. Шприц объемом 1 мл с иглой 27-29 G, обращенной срезом книзу, располагали параллельно сонной артерии у головного конца выделенного отрезка сосуда рис. 20. Прижимая иглу к передней стенке артерии и продвигая ее каудально, осуществляли бескровный доступ в сосуд, после чего игла извлекалась из просвета. Через выполненное отверстие по проводнику осуществляли введение катетера 24G из фторэтиленпропилена, пинцет опускали, натяжение лигатур под приводящим концом ослабляли и, натягивая за нить на отводящем конце сосуда, выполняли установку катетера в сонную артерию. Лигатуры на приводящем конце сосуда перевязывали, катетер фиксировался к коже рис. 21-22. Через 20 минут после установки катетера, когда нивелировалось влияние выделения блуждающего нерва и сонной артерии на системную гемодинамику, осуществляли забор крови. Гепарин или другой антикоагулянт для промывания катетера не использовался. Забор крови выполняли после механического очищения катетера введением 300 мкл 0,9% раствора натрия хлорида с последующим немедленным обратным удалением 600 мкл крови. Образцы крови подвергались соответствующему исследованию. В табл. 1 представлены результаты анализа крови 42 крыс [1]. Для показателей глюкозы, АлАТ, АсАТ, мочевины, протромбинового времени и фибриногена, у которых значение критерия Шапиро-Уилка $p < 0,05$, был

Таблица 3 /Table 3

Оценка различий референсных значений показателей опытной (1) и группы сравнения (2) / The assessment of referential values differences between the indicators of the experimental (1) and the comparison (2) groups

Показатель / Test	M ₁	M ₂	SD ₁	SD ₂	M ₁ ±1,96SD ₁	M ₂ ±1,96SD ₂	P
Эритроциты, *10 ¹² /л / Erythrocytes, *10 ¹² /L	7,99	8,39	0,88	0,67	6,27-9,72	7,08-9,7	0,013
Лейкоциты, *10 ⁹ /л / Leukocytes, *10 ⁹ /L	4,98	4,52	1,99	1,81	1,08-8,88	0,97-8,07	0,99
Тромбоциты, *10 ⁹ /л / Platelets, *10 ⁹ /L	860	904	146	137	574-1146	636-1173	0,34
Гемоглобин, г/л / Hemoglobin, g/L	150	157	12,64	10	125,23-174,77	137,4-176,6	7e-04
Гематокрит / Hematocrit, %	44,47	45	5,15	3,5	34,38-54,56	38,14-51,86	0,99
Глюкоза, ммоль/л / Glucose, mmol/L	8,39	6,83	3,2	2,11	2,12-14,66	2,69-10,97	0,003
Общий билирубин, мкмоль/л / Totalbilirubin, μmol/L	1,55	1,54	0,65	0,51	0,28-2,82	0,54-2,54	0,99
АлАТ, Ед/л / ALT, U/L	31,83	28	8,88	7	14,43-49,24	14,28-41,72	0,015
АсАТ, Ед/л / AST, U/L	81,74	105	22,74	20	37,17-126,31	65,8-144,2	1,8e-15
Креатинин, мкмоль/л / Creatinine, μmol/L	36,69	26,53	8,97	8,84	19,11-54,27	9,2-43,86	1,8e-15
Мочевина, ммоль/л / Urea, mmol/L	5,05	6,11	1,12	1,04	2,85-7,25	4,07-8,15	1,8e-15
Общий белок, г/л / Totalprotein, g/L	53,83	60	3,68	5	46,62-61,04	50,2-69,8	1,8e-15
Лактат, ммоль/л / Lactate, mmol/L	1,05	-	0,3	-	0,46-1,64	-	-
АЧТВ, с / АРРТ, sec	33,57	21,16	5,1	4,12	23,57-43,57	13,08-29,24	1,8e-15
ПВ, с / PT, sec	12,8	13,61	2,76	0,8	7,39-18,21	12,04-15,18	0,016
ТВ, с / TT, sec	52,93	-	4,17	-	44,76-61,1	-	-
Фибриноген, г/л / Fibrinogen, g/L	2,03	1,58	0,47	0,24	1,11-2,95	1,1-2,05	1,8e-15
Плазминоген / Plasminogen, %	91,69	-	8,08	-	75,85-107,53	-	-
АТ III, %	98,8	-	10,66	-	77,91-119,69	-	-

рассчитан 2,5 и 97,5 % интервал. При графической оценке квантильных графиков методом огибающих Б. Рипли (simulation envelopes) и кривых ядерной плотности перечисленных показателей, несмотря на значения критерий Шапиро-Уилка, указывающие на ненормальное распределение, выявлен нормальный характер распределения рис.23-24. Косвенно данное предположение было подтверждено после уточнения референсных границ и Me, M, SD методом бутстрепа с гене-

рацией 5000 псевдовыборок, небольшими различиями перечисленных выше статистик в эмпирической и бутстрепа-выборке. По этой причине приемлемо считать референсными границы для них в рамках M±1,96SD. Уточненные методом бутстрепа с коррекцией смещения и ускорением (BCa) статистики с 95% доверительными интервалами представлены в табл. 2. Средний вес крыс составил около 350 г, что соответствует возрасту около 8-9 недель [5, 11]. Для сравне-

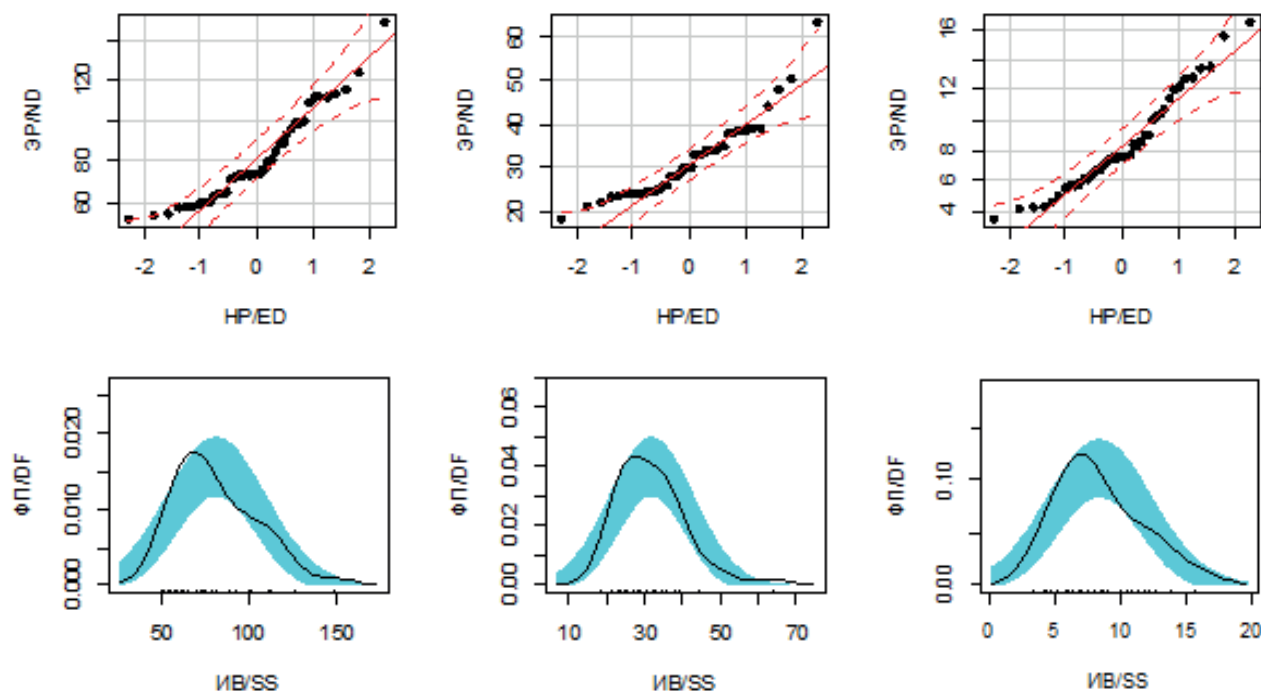


Рис. 24. График квантилей с огибающими (вверху) и график ядерной плотности (внизу) для 1- мочевины, ммоль/л; 2 - протромбинового времени (ПВ), с; 3- фибриногена, г/л. ЭР - эмпирическое распределение, НР - нормальное распределение (z-шкала), ФП - функция плотности, ИВ - имитированная бутстрепом выборка. /Fig. 24 The quantiles graph with envelopes (top) and graph of nuclear density (bottom) for 1- urea, mmol/L; 2 - prothrombin time (PT), sec; 3 - fibrinogen, g/L. ER - empirical distribution, NR - normal distribution (z-scale), FP - the density function, SS - simulated (by the bootstrap method) sample.

ния были взяты данные Clifford C.B. и Giknis M.L.A., 180 крыс-самцов линии Wistar 8-16 недель, у которых кровь для анализа забирали из брюшной аорты [6]. Показатели лактата, антитромбина III, плазминогена и тромбинового времени не сравнивались ввиду отсутствия данных. Как видно из табл. 3, статистически значимые различия были получены по всем показателям, кроме количества лейкоцитов, тромбоцитов, уровня гематокрита и общего билирубина. Полученные результаты можно объяснить разными климатическими условиями, анестезиологическим пособием, доступом для забора крови и большим разбросом возраста у сравниваемых крыс. Клинически различия незначимы.

Заключение

Таким образом, разработанный алгоритм получения образцов крови и референсных значений по-

казателей коагулограммы, общего и биохимического анализа крови у крыс-самцов линии Wistar при заборе из сонной артерии следует считать рациональным. Полученные референсные значения могут быть использованы для изучения различных патологических состояний в экспериментальной медицине.

Дополнительная информация

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователи несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и иных действиях

Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

Список литературы

1. Кинзерский А.А., Петрова Ю.А., Коржук М.С., Долгих В.Т. Нормальные значения общего, биохимического анализа крови и коагулограммы крыс-самцов линии Wistar. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2017620486. Бюл. 2017; 5:1-2.
2. Коржук М.С., Козлов К.К., Ткачев А.Г., Вяльцин А.С., Рубаник В.Ю. Усовершенствованный способ выделения сосудов и остановки кровотечения. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2015; 6:52 - 55.
3. Мاستицкий С.Э., Шитиков В.К. *Статистический анализ и визуализация данных с помощью R*. Хайдельберг-Лондон-Тольятти. 2014; 401.

Reference

1. Kinzerskii AA, Petrova IuA, Korzhuk MS, Dolgikh VT. Normal'nye znacheniya obshchego, biokhimicheskogo analiza krovi i koagulogrammy kryss-samtsov linii Wistar. Svidetel'stvo o gosudarstvennoy registratsii bazy dannykh № 2017620486. Byul. 2017; 5:1-2. (in Russ.)
2. Korzhuk MS, Kozlov KK, Tkachev AG, Vial'tsin AS, Rubanik VYu. The improved method of separating vessels and bleeding control. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova*. 2015;6:52 - 55. (in Russ.)
3. Mastitskii SE, Shitikov VK. *Statisticheskii analiz i vizualizatsiia dannykh s pomoshch'iu R*. Khaidel'berg-London-Tol'yatti. 2014; 401. (in Russ.)

4. Шитиков В.К., Розенберг Г.С. Рандомизация и бутстреп: статистический анализ в биологии и экологии с использованием R. Тольятти. 2013; 314.
5. Animal Resources Centre. *Male and female Wistar and Sprague-Dawley rats from 3 to 12 weeks held at the Animal Resources Centre*. Canning Vale, Australia. 2017.
6. Clifford CB, Giknis MA. *Clinical laboratory parameters for Crl:WI(Han) rats*. Wilmington. "Charles river" Publishers. 2008; 17.
7. Kabacoff RI. *Data analysis and graphics with R. Shelter Island*. "Manning" Publishers. 2011; 474.
8. Oruganti M., Gaidhani S. *Routine bleeding techniques in laboratory rodents*. IJPSR. 2011; 2(3):516-524.
9. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *J Pharmacol Pharmacother*. 2010; 1 (2): 87–93.
10. Seibel J, Bodie' K, Weber S, Bury D, Kron M, Blaich G. Comparison of haematology, coagulation and clinical chemistry parameters in blood samples from the sublingual vein and vena cava in Sprague–Dawley rats. *Lab Anim*. 2010; 44(4):344-51.
11. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med*. 2013; 4(6): 624-30.
12. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med*. 2013; 4(6): 624-30.

4. Shitikov VK, Rozenberg GS. *Randomizatsiya i butstrep: statisticheski analiz v biologii i ekologii s ispol'zovaniem R*. Tol'yatti. 2013; 314. (in Russ.)
5. Animal Resources Centre. *Male and female Wistar and Sprague-Dawley rats from 3 to 12 weeks held at the Animal Resources Centre*. Canning Vale, Australia. 2017.
6. Clifford CB, Giknis MA. *Clinical laboratory parameters for Crl:WI(Han) rats*. Wilmington. "Charles river" Publishers. 2008; 17.
7. Kabacoff RI. *Data analysis and graphics with R. Shelter Island*. "Manning" Publishers. 2011; 474.
8. Oruganti M., Gaidhani S. *Routine bleeding techniques in laboratory rodents*. IJPSR. 2011; 2(3):516-524.
9. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *J Pharmacol Pharmacother*. 2010; 1 (2): 87–93.
10. Seibel J, Bodie' K, Weber S, Bury D, Kron M, Blaich G. Comparison of haematology, coagulation and clinical chemistry parameters in blood samples from the sublingual vein and vena cava in Sprague–Dawley rats. *Lab Anim*. 2010; 44(4):344-51.
11. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med*. 2013; 4(6): 624-30.
12. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med*. 2013; 4(6): 624-30.

Информация об авторах

1. Кинзерский А.А. - заочный аспирант кафедры общей хирургии Омского государственного медицинского университета, e-mail: kinzerskij@mail.ru
2. Коржук М.С. – д.м.н., зав. кафедрой общей хирургии Омского государственного медицинского университета, e-mail: kinzerskij@mail.ru
3. Долгих В.Т. – д.м.наук, заслуженный деятель науки Российской Федерации, заведующий кафедрой патофизиологии Омского государственного медицинского университета, e-mail: kinzerskij@mail.ru

Information about the Authors

1. A.A. Kinzerskiy – postgraduate student of Department of the General surgery, e-mail: kinzerskij@mail.ru
2. M.S. Korzhuk – M.D., Head of Department of the General surgery, e-mail: kinzerskij@mail.ru
3. V.T. Dolgikh – M.D., Honoured Scientist of the Russian Federation, Head of Department of the Pathophysiology including Clinical Pathophysiology Course of Omsk State Medical University, e-mail: kinzerskij@mail.ru

Цитировать:

Кинзерский А.А., Коржук М.С., Долгих В.Т. Алгоритм получения референсных значений коагулограммы обшего и биохимического анализа крови крыс-самцов Wistar при заборе ее из сонной артерии. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии* 2017; 10: 4: 293-303. DOI: 10.18499/2070-478X-2017-10-4-293-303.

To cite this article:

Kinzerskiy A.A., Korzhuk M.S., Dolgikh V.T. *The Algorithm For Obtaining Referential Meanings Of Biochemical And Complete Blood Tests Coagulogram In Wistar Male Rats At Blood Sampling From Carotid Artery*. *Journal of experimental and clinical surgery of experimental and clinical surgery* 2017; 10: 4: 293-303. DOI: 10.18499/2070-478X-2017-10-4-293-303.