

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Краткое сообщение

УДК 602

doi: 10.17072/1994-9952-2023-2-205-207

Метод взятия крови у мышей из периферической вены хвоста для исследования специфической активности эритропоэтина

Татьяна Евгеньевна Петухова

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Россия,
tanja-petuhova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3093-8281>

Аннотация. Одним из главных показателей качества, подтверждающим эффективность и безопасность лекарственных препаратов рекомбинантного эритропоэтина человека, служит специфическая активность. Определение специфической активности рекомендуется проводить биологическим методом *in vivo* на полицитемических и нормоцитемических мышах. Основным способом забора крови являлся метод взятия крови из ретроорбитального синуса глаза. Недостатками данного способа являются высокий риск осложнений и невозможность взятия крови повторно через короткий промежуток времени. Следующий забор крови возможен только через 10 дней после процедуры. В данной статье описывается простой метод взятия крови, позволяющий отобрать достаточный её объем для исследования специфической активности эритропоэтина, максимально уменьшить травматичность тканей хвоста мыши, снизить контаминацию загрязнения полученной крови чужеродными частицами, свести к минимуму количество осложнений, возможность повторного забора крови через короткий промежуток времени.

Ключевые слова: специфическая активность, эритропоэтин, периферическая вена, кровь, мышь

Для цитирования: Петухова Т. Е. Метод взятия крови у мышей из периферической вены хвоста для исследования специфической активности эритропоэтина // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 2. С. 205–207. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-2-205-207>.

CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

Short message

Method of taking blood from peripheral tail veins in mice to study the specific activity of erythropoietin

Tatiana E. Petukhova

Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, tanja-petuhova@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-3093-8281>

Abstract. One of the main quality indicators showing the effectiveness and safety of recombinant human erythropoietin drugs is their specific activity. The determination of this specific activity is recommended to carry out by the biological method *in vivo* on polycythemic and normocythemic mice. The main method of blood collection was the method of taking blood from the retroorbital sinus of the eye. The disadvantages of this method are the high risk of complications and the inability to take blood again after a short period of time. The next blood sampling is possible only 10 days after the procedure. This article describes a simple method of taking blood that allows us to select a sufficient amount of blood to study the specific activity of erythropoietin, minimize the traumatism of mouse tail tissues, reduce contamination of the obtained blood with foreign particles, minimize the number of complications, the possibility of repeated blood sampling after a short period of time.

Keywords: specific activity, erythropoietin, peripheral vein, blood, mouse

For citation: Petukhova T. E. [Method of taking blood from mice from the peripheral vein of the tail to study the specific activity of erythropoietin]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2023): pp. 205-207. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-2-205-207>.

Главным из показателей качества, подтверждающим эффективность и безопасность лекарственных препаратов рекомбинантного эритропоэтина человека, служит специфическая активность. Специфическую активность лекарственных препаратов рекомбинантного эритропоэтина человека, согласно ведущим Фармакопеям мира [Erythropoietin Concentrated..., 2019; Erythropoietin bioassays..., 2021], определя-

ют биологическим методом по влиянию на стимуляцию гемопоэза у полицитемических и нормоцитемических мышей в сравнении со стандартным образцом (СО) и выражают в международных единицах (МЕ).

В настоящее время известны различные способы взятия крови у мышей: ампутация хвоста, прокол ретроорбитального синуса глаза, из сосудов большого пальца задней конечности, [Взятие крови..., 2019], прокол малой подкожной вены голени [Степанова, 2006], пункция сердца, при помощи декапитации головы [Пат. RU2317543С1..., 2008]. Все эти методы имеют ряд недостатков: это сложность процесса взятия крови, применение анестезии, что приводит к искажению результатов, отсутствие специального вакуумного прибора, невозможность многократного взятия крови в течение короткого промежутка времени.

Для многократных взятий крови существует метод забора крови у крыс из периферических вен хвоста [Пат. RU2719912..., 2019]. Данный способ позволяет получить достаточный объем крови для биохимических и других исследований. Этот метод был адаптирован нами для забора крови у мышей.

Для проведения испытания использовали следующее оборудование:

- штатив;
- удерживатель для лабораторных мышей;
- шприц на 1 мл (80 шт);
- теплоид (автономный тканевый источник тепла);
- жгут;
- дозатор механический с объемом дозирования 200 мкл.

Экспериментальные исследования выполнены на линейных мышах ICR (n=80). Животных получали из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Эксперименты проводили в соответствии с биоэтическими стандартами работы с лабораторными животными, отраженными в "Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях" [European Convention..., 1986] и в соответствии с требованиями [ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014].

Сущность данного способа заключается в том, что используется автономный тканевый источник тепла, самонагревающийся до температуры (45–50°C). При этом происходит равномерное прогревание хвоста мыши путем обертывания ткани вокруг хвоста, вследствие чего расширяются его сосуды. Проводят 3 цикла прогревания по 15 сек. Это способствует увеличению скорости забора крови и лучшей видимости сосудов для последующего их прокола. Далее используют жгут, накладывая его на основание хвоста, прокалывают вену иглой, производят забор крови с помощью капилляра.

Забор крови у мышей из периферических вен хвоста осуществляли в следующей последовательности. Мышь извлекали из клетки, держа ее за основание хвоста, помещали на ровную поверхность и фиксировали. Фиксацию производили с помощью различных устройств или ручным способом. Заранее вскрывали упаковку с теплоидом. Теплоид помещали на ровную поверхность и визуально делили пополам. На первой части размещали хвост, второй частью хвост закрывали. Длительность прогрева хвоста – 15 сек. Процедуру повторяли 3 раза. После проведенных манипуляций начинали этап взятия крови из хвостовой вены: у основания хвоста фиксировали отрезок эластичной резиновой материи шириной 1–2 мм, которая пережимала сосуды и являлась аналогом жгута. Производили обработку хвоста дезинфицирующим раствором. При осмотре хвоста необходимо обнаружить сосуд, в который будет осуществляться прокол иглой шприца. После идентификации вены выполняли ее прокол под углом 15° шприцом с иглой 27G. Далее ослабляли жгут и собирали кровь в количестве 0.02–0.03 мкл. Достаточный объем взятой крови для анализа специфической активности около 0.02 мкл. После забора крови обрабатывали область прокола дезинфицирующим раствором.

Через некоторое время мышь готова к повторному забору крови.

Предложенный метод весьма прост, исключает применение анестезии и обездвиживания, позволяет многократно и в разных объемах (до 50 мкл) собирать кровь для исследований специфической активности эритропоэтина, сохраняет жизнь животного. Этот метод подходит и для более крупных пород лабораторных грызунов.

Список источников

1. Взятие крови у животных: учеб.-метод. пособие для студентов. Витебск: ВГАВМ, 2019. С. 32.
2. Степанова О.И. Метод взятия крови из малой подкожной вены у мышей / Науч. центр биомедицинских технологий РАМН. М., 2006. № 2. С. 137–139.
3. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33215-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. М.: Стандартиформ, 2016. С. 12.

4. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. М.: Стандартинформ, 2016. С. 9.
5. Пат. RU2719912 Российская Федерация, МПК G09B 23/28 (2006.01). Способ забора крови у крыс из периферических вен хвоста: / Тимкин П.Д., Кропотова М.Е., Петренко Н.И.; патентообладатель ФГБОУ ВО Амурская ГМА. заявл. 03.07.2019; опублик. 23.04.20.
6. Пат. RU2317543 Российская Федерация, МПК G01N 33/48 (2006.01), G01N 1/100 (2006/1). Способ взятия крови у лабораторных мышей: / Зарицкая В.В., Зарицкий А.А., Мандро Н.М.; патентообладатель ФГОУ ВПО ДГАУ. заявл. 08.06.2006; опублик. 20.02.2008.
7. Erythropoietin bioassays <124> / USP 42-NF 39. 2021.
8. Erythropoietin Concentrated Solution 01/2017:2758 European Pharmacopoeia 10.0. 2019. Vol. 2. P. 2540–2544.
9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes Strasbourg, 18. III. 1986. P. 11.

References

1. *Vzjatie krvi u životnych* [Taking blood from animals. Educational and methodical handbook for students]. Vitebsk, VGAVM Publ., 2019. P. 32.
2. Stepanova O.I. [Method of taking blood from the small subcutaneous vein in mice]. *Naučnyj centr biomedicinskich tehnologij RAMN* [Scientific Center of Biomedical Technologies of the Russian Academy of Medical Sciences]. Moscow, 2006, No 2, pp. 137-139.
3. *Mežgosudarstvennyj standart GOST 33215-2014* [Interstate standard GOST 33215-2014. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules of equipment of premises and organization of procedures]. Moscow, Standartinform Publ., 2016. 12 p.
4. *Mežgosudarstvennyj standart GOST 33216-2014* [Interstate standard GOST 33216-2014 Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits]. Moscow, Standartinform Publ., 2016. 9 p.
5. Пат. RU2719912 Russian Federation, IPC G09B 23/28 (2006.01). Method of blood collection in rats from peripheral veins of the tail: / Timkin P.D., Kropotova M.E., Petrenko N.I.; patent holder of the Amur State Medical University – application 03.07.2019; publ. 23.04.20.
6. Пат. RU2317543 Russian Federation, IPC G01N 33/48 (2006.01), G01N 1/100 (2006/1), Method of taking blood from laboratory mice: / Zaritskaya V.V., Zaritsky A.A., Mandro N.M.; patent holder of FGOU VPO DGAU. – application 08.06.2006; publ. 20.02.2008.
7. Erythropoietin bioassays <124> / USP 42-NF 39. – 2021.
8. Erythropoietin Concentrated Solution 01/2017:2758 European Pharmacopoeia 10.0. 2019, V. 2, pp. 2540-2544.
9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes Strasbourg, 18. III. 1986. P. 11

Статья поступила в редакцию 30.01.2023; одобрена после рецензирования 22.02.2023; принята к публикации 02.06.2023.

The article was submitted 30.01.2023; approved after reviewing 22.02.2023; accepted for publication 02.06.2023.

Информация об авторе

Т. Е. Петухова – технолог отдела клеточных технологий, аспирант.

Information about the author

T. E. Petukhova – technologist of the Department of Cellular Technologies, post-graduate student.