



Консультант GLP-PLANET 2025

**мнение
фармацевтической отрасли**

Консультант GLP-PLANET 2025

Мнение фармацевтической отрасли

Монография

Санкт-Петербург, 2025

УДК 619:616-07

ББК 48.6

DOI: 10.57034/978-5-6048955-3-5

Научные редакторы:

Макаров Валерий Геннадьевич,
д-р мед. наук, профессор,
президент Организационного комитета GLP-PLANET

Шестаков Владислав Николаевич,
директор ФБУ «Государственный институт
лекарственных средств и надлежащих практик» Минпромторга России

Рецензенты:

Балабаньян В.Ю., доцент, вед. науч. сотрудник лаборатории химии лекарственных субстанций
НИИ Трансляционной медицины РНИМУ имени Н.И. Пирогова, д-р фарм. наук

Кашкин В.А., независимый эксперт, д-р мед. наук

Прусаков А.В., доцент, заведующий кафедрой внутренних болезней животных
им. А.В. Синева ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины», д-р вет. наук

Стукова М.А., заведующая лабораторией векторных вакцин ФГБУ «НИИ гриппа
им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, канд. мед. наук

Цаан А.А., директор по развитию ООО «РИК-Фарма», канд. мед. наук

Консультант GLP-PLANET 2025. Мнение фармацевтической отрасли : монография / Под ред.
В.Г. Макарова и В.Н. Шестакова. — Санкт-Петербург: НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», 2025. — 260 стр. с илл.

ISBN 978-5-6048955-3-5

Монография «Консультант GLP-PLANET 2025. Мнение фармацевтической отрасли» посвящена как общим, так и частным вопросам разработки лекарственных средств, доклиническим исследованиям и используемым методам, освещает вопросы экспертизы качества и обращение с лабораторными животными в питомниках и вивариях.

ISBN 978-5-6048955-3-5

© Коллектив авторов, 2025

Издание выпущено под редакцией
Организационного комитета GLP-PLANET.



МАКАРОВ
Валерий Геннадьевич,
профессор, д-р мед. наук

Президент Организационного комитета
GLP-PLANET

Главный редактор
«Консультант GLP-PLANET»



ШЕСТАКОВ
Владислав Николаевич

Директор ФБУ «Государственный
институт лекарственных средств
и надлежащих практик»
Минпромторга России

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|-----|
| ARRIVE как часть культуры доклинических исследований | 9 |
| Экспериментальные модели | 77 |
| Доклинические аспекты фармацевтической разработки препаратов генной и клеточной терапии | 97 |
| Доклинические исследования вакцин | 118 |
| Нейробиология <i>in vivo</i> | 147 |
| Репродуктивные технологии и репродуктивная токсичность | 154 |
| Лабораторное животноводство | 184 |
| Иммуноферментный анализ в доклинических исследованиях | 203 |
| Rus-LASA: история организации, вклад в развитие науки о лабораторных животных и участие в работе конференции GLP-PLANET | 232 |
| Тезисы конференции GLP-PLANET VI | |
| Исследование анальгетической и противовоспалительной активности производных 3-пирролин-2-онов | 244 |
| Фармакологическая активность новых 4-арил-3-R-2,4-диоксобутеноатов гетериламмония | 246 |
| Изучение фармако-токсикологических показателей оксованадиевого комплекса КАИ-19, проявляющего гипогликемическую активность | 248 |

От организационного комитета

Уважаемые читатели, представляем вашему вниманию монографию «Консультант GLP-PLANET. Мнение фармацевтической отрасли».

«Консультант GLP-PLANET» — это постоянно обновляемый источник знаний и экспертной информации, посвященный комплексному рассмотрению ключевых аспектов фармацевтической разработки и доклиническим исследованиям лекарственных средств, содержания и использования лабораторных животных для научных целей. Издание призвано систематизировать лучшие современные практики в этих областях и стать надежным ориентиром для всех, кто является активным участником процесса разработки лекарственных средств.

Традиционно структура монографии сформирована на основании тем, освещенных на конференции GLP-PLANET VI, включает 8 глав. Рассмотрены примеры внедрения рекомендаций ARRIVE в планирование и проведение доклинических исследований, которые помогают оптимизировать дизайн исследований и улучшить отчетность. Отмечается, что их применение должно начинаться с внедрения системы менеджмента качества в организации, а не ограничиваться только этапом публикации результатов. Охарактеризованы подходы к моделированию патологий на животных: от особенностей выбора релевантного вида до валидации моделей и интерпретации полученных результатов. Отдельное внимание уделяется ключевым этапам поведенческих и нейробиологических экспериментов, а также тонкостей в методике их проведения. Обсуждаются особенности доклинических исследований высокотехнологических лекарственных средств и вакцин, методологические подходы в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Затронута проблема репродуктивных технологий и качества лабораторных животных, необходимость их стандартизации по генетическим, микробиологическим и физиологическим параметрам. Особое внимание уделяется отсутствию нормативной базы для российских питомников и вивариев. Отдельная глава посвящена истории создания и деятельности Русской ассоциации специалистов по лабораторным животным (Rus-LASA), основной задачей которой является формирование культуры работы с лабораторными животными в российском научном сообществе.

«Консультант GLP-PLANET» содержит главы, подготовленные в виде литературных обзоров с практической информацией из докладов, представленных на конференции, на которые могут опираться исследователи, связанные с разработкой лекарственных препаратов, проводящие доклинические исследования, эксперты, оценивающие отношение ожидаемой пользы к возможному риску применения лекарственных препаратов. Монография может быть использована широким кругом специалистов, работающих в фармацевтической сфере.

Организационный комитет выражает глубокую благодарность всем авторам, рецензентам и экспертам, чей вклад обеспечил научную строгость и практическую ценность издания. Искренне надеемся на активное участие всех специалистов в работе предстоящей конференции GLP-PLANET VII.

ARRIVE как часть культуры доклинических исследований

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-s1>

М.А. Ковалева¹, М.Н. Макарова¹, Н.С. Багаева², Е.Д. Бондарева¹, Е.В. Вербицкая³, И.С. Гиба⁴, Л.С. Гузевых⁵, Я.А. Гушин¹, К.С. Милутинович⁶, В.А. Полозкова⁷, В.С. Попов⁶, А.Г. Солодовников⁸, И.М. Суханов⁹, И.И. Тернинко¹⁰, Я.Г. Торопова¹¹, С.В. Ходько¹, И.Е. Шохин²

¹ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

² ООО «Центр Фармацевтической Аналитики»,

³ ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России,

⁴ Научно-технологический университет «Сириус»,

⁵ ООО «Р-Фарм»,

⁶ МГУ им. М.В. Ломоносова,

⁷ ФГБНУ «НИИНА»,

⁸ ООО «Статэндокс»,

⁹ Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России,

¹⁰ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,

¹¹ ФГБУ «НМИЦ им В.А. Алмазова» Минздрава России

Введение

В 2005 г. опубликована статья одного из наиболее цитируемых ученых начала XXI века Джона П. Иоаннидиса под названием «Почему большинство опубликованных результатов исследований являются ложными» (Ioannidis J.P., 2022), которая произвела огромное впечатление на научное сообщество. Статья по состоянию на 8 ноября 2025 г. процитирована 14 782 раза. На основе систематических обзоров и математического моделирования автор пришел к заключению, что выводы большинства опубликованных исследований скорее всего являются ложными, а не истинными. Несмотря на некоторые споры об обоснованности оригинального анализа Иоаннидиса, за последние годы накопились доказательства того, что ложные результаты присутствуют в публикациях, что подтверждает его точку зрения, хотя их частота может быть не столь высока (Bailoo J.D., Reichlin T.S., 2014; Lydersen S., Langaas M. и соавт., 2021; Neves K., Tan P.B. и соавт., 2022; Schneck A., 2023).

Такая ситуация наблюдается во многих направлениях, от клинических и эпидемиологических до самых современных фундаментальных исследований. В своей работе Джон Иоаннидис подробно рассматривал возможные факторы, приводящие к получению ложных результатов. В частности, он отмечает, что чем менее масштабнее исследования, проводимые в той или иной научной области, тем меньше вероятность получения верных результатов. Малый размер выборки означает меньшую мощность. При прочих равных условиях рандомизированные контролируемые клинические испытания, когда рандомизируется несколько тысяч субъектов, выводы оказываются более достоверными, чем в научных областях с менее масштабными выборками, используемыми в большинстве доклинических, в том числе фундаментальных, исследованиях (размеры выборки в 100 раз меньше) (Ioannidis J.P., 2022). Аналогичным образом, чем меньше выраженность выявленного эффекта, тем менее вероятен верный результат, и наоборот. Наконец, чем менее стандартизованы протоколы, методы или аналитические методики в той или иной научной области, уверенность, что результаты исследования будут истинными, значительно меньше.

Кроме объективных причин, существует еще и ряд обстоятельств, которые оказывают не менее серьезное влияние на качество результатов. В первую очередь — это личная заинтересованность исследователя в результатах выполнения, в том числе фундаментальных экспериментов. Например, исследование может являться частью диссертационной работы, или у экспериментатора имеются финансовые или другие интересы. Еще один фактор, который может оказывать серьезное воздействие на результаты исследовательской работы, — наличие предубеждений. Чем сильнее установившиеся постулаты, тем меньше вероятность того, что результаты исследования окажутся истинными. Наконец, чем более популярна и интересна научная область (больше научных групп в ней задействовано), тем также меньше вероятность установления достоверных выводов (Ioannidis J.P., 2022). Наиболее ярко это стало заметно в период пандемии коронавирусной инфекции на фоне большого числа публикаций по этой теме. Также существенно возросло количество ретракций таких статей, при этом сроки ретракции сократились¹. Еще одно обстоятельство, которое вносит свой негативный вклад в воспроизводимость, это крайне малое число публикаций о сравнении разных экспериментальных моделей (или одной модели на разных видах животных), кроме того, надо отметить и отсутствие публикаций с отрицательными или неожиданными результатами исследований. Опрос 96 исследователей в области РНК-терапии, в том числе из числа кандидатов и докторов наук, проведенный в рамках COST Action «DARTER», показал, что больше половины участников не готовы публиковать отрицательные результаты. Среди причин указаны: трудоемкость процесса опубликования и опасения за то, что такие работы не будут цитироваться научным сообществом. При этом 82% участников считают, что обмен информацией о получении отрицательных результатов в исследовании крайне важен и будет способствовать научному прогрессу. Надо сказать, что 14% опрошенных все же смогли опубликовать отрицательные результаты экспериментов (Echevarría L., Malerba A. и соавт., 2021).

¹ Retracted coronavirus (COVID-19) papers. URL: <https://retractionwatch.com/retracted-coronavirus-covid-19-papers/> (дата обращения: 06.2025).

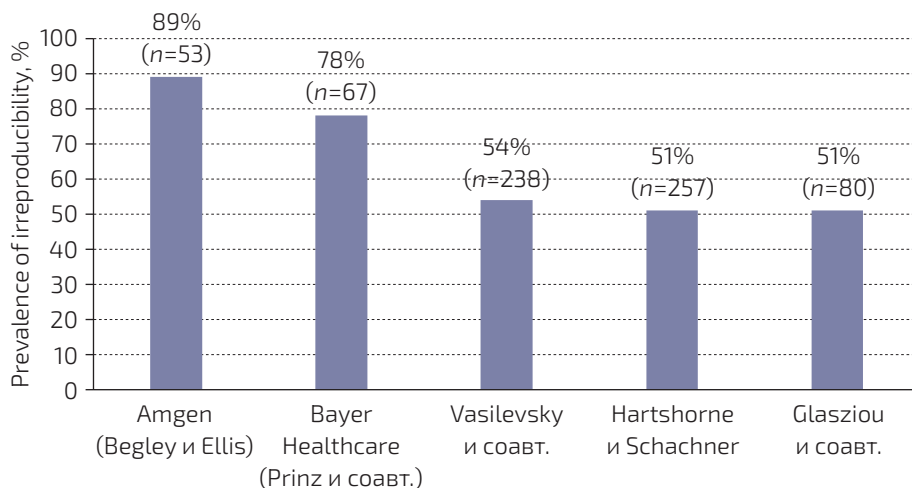


Рис. 1. Процент невоспроизводимых результатов по различным данным (Freedman L.P., Cockburn I.M. и соавт., 2018); prevalence of irreproducibility — распространенность невоспроизводимости

Также негативно сказывается на воспроизводимости исследований невозможность защиты методических диссертационных работ по специальности «Фармакология. Клиническая фармакология» без изучения конкретного лекарственного средства, хотя методические аспекты для «Фармакологии» и «Токсикологии» как самостоятельных дисциплин представляются более важными для повышения надежности результатов. Отсутствие воспроизводимости той или иной экспериментальной модели, результатов публикаций, нежелание журналов принимать к публикации такие работы приводят к нерациональной трате ресурсов и просто неэтично.

Доклинические исследования, направленные на поиск и разработку новых лекарственных препаратов, также не являются исключением. Существует множество различных точек зрения на масштаб этой проблемы, в частности, в работе L.P. Freedman и соавт. (2018) приводятся данные оценки невоспроизводимости (рис. 1). За 10 лет, к ноябрю 2025 г., статья процитирована 1242 раза. По мнению авторов, невоспроизводимость экспериментов варьирует от 51 до 89%.

При анализе первоисточников, представленных на рис. 1, оказалось, что были сделаны некоторые допущения и обобщения (табл. 1). Надо отметить, что 2 из 5 работ относятся к области психологии (Hartshorne J.K., Schachner A., 2012) и клинической практике (Glasziou P., Meats E., и соавт., 2008), а не к доклиническим или фундаментальным исследованиям, 2 работы (Begley C.G., Ellis L.M., 2012; Vasilevsky N.A., Brush M.H. и соавт., 2013) указывают, что причины невоспроизводимости лежат в плохом качестве реагентов, использованных в исследовании. Работа C.G. Begley, L.M. Ellis (2012) отсутствует в свободном доступе, и оценить сделанные в ней выводы объективно невозможно, при том что она имеет самый высокий процент невоспроизводимости — 89, который в дальнейшем был широко растиражирован и принят

Таблица 1

Анализ научных статей, приведенных на рис. 1

| Научная область | Детали работы | Соответствие источнику | Источник |
|--|---|--|--|
| Онкология | Проблема в качестве реагентов (антител) спорный анализ, показывающий, что результаты 47 из 53 исследовательских работ по онкологии не могут быть воспроизведены | Исходной работы нет в открытом доступе | Begley C.G., Ellis L.M., 2012 |
| Преимущественно онкология | Опрос 23 ученых (руководителей лабораторий), данные 67 проектов, большинство которых (47) из области онкологии | На рис. 1 указано 78%, в первоисточнике приводятся иные данные — приблизительно в 20–25% проектов опубликованные данные полностью соответствовали внутренним выводам | Prinz F., Schlange T. и соавт., 2011 |
| Нейронаука, биология развития, иммунология, клеточная и молекулярная биология и общая биология | 238 журнальных статей, заявленных как число n | Анализ идентифицируемости ресурсов (антитела, клеточные линии, конструкции, реагенты для нокдауна, организмы). Процент невозпроизводимости рассчитан не из числа статей (238), а из количества оцененных ресурсов, которые были однозначно идентифицированы как 54% (922 из 1703). Самые низкие проценты идентифицированности были для антител и клеточных линий | Vasilevsky N.A., Brush M.H. и соавт., 2013 |
| Психология | 49 респондентов, 257 попыток воспроизведения исследований, из них 127 попыток успешны | На рис. 1 указан 51%, а в первоисточнике — 49% | Hartshorne J.K., Schachner A., 2012 |
| Клиническая практика | Проспективная оценка 80 последовательных исследований, отобранных для анализа в журнале «Доказательная медицина» с октября 2005 г. по октябрь 2006 г. | Недостаточность описания материалов и методов в 41 (51%) работе | Glasziou P., Meats E. и соавт., 2008 |

как существенный аргумент в пользу плохой воспроизводимости и трансляционности данных доклинических и фундаментальных исследований.

Анализ публикаций, цитируемых в статье (Freedman L.P., Cockburn I.M., и соавт., 2018), показал, что мнение о невоспроизводимости результатов доклинических и фундаментальных исследований в пределах 50–90% является преувеличенным. При этом ряд опубликованных рукописей не содержит качественного и полного представления о методологической и контекстной части исследования.

Многие группы специалистов разрабатывают и апробируют ряд решений, способствующих преодолению этой проблемы. Одно из таких решений — Руководство по исследованию животных: отчетность об экспериментах на животных (Animal Research: Reporting of In vivo Experiments, ARRIVE). Научной общественности доступно 2-е издание «ARRIVE 2.0» (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020), в котором сформулированные в первой редакции принципы дополнены и уточнены, а информация реструктурирована для облегчения ее практического использования. В этом контексте применение руководства ARRIVE исследователями необходимо уже на этапе планирования, чтобы способствовать оптимизации дизайна исследования и улучшить отчетность (Kousholt B.S., Præstegaard K.F., 2022).

Несмотря на очевидную целесообразность использования принципов ARRIVE с целью повышения качества и трансляционной ценности исследований, прогресс по их внедрению не очевиден. Например, хорошо известно, что наибольший вклад в повышение надежности исследования вносят рандомизация и ослепление/маскировка. На практике, однако, необходимость процедуры ослепления/маскировки, вероятно, пока не рассматривается как обязательная для всех исследователей (Karp N.A., Pearl E.J. и соавт., 2022).

Очевидно, что публикация отражает результат проведенной работы, и на этом этапе уже нельзя устранить возможные недостатки дизайна эксперимента, поэтому важно осознавать, что применение принципов ARRIVE должно начинаться с внедрения системы менеджмента качества в организации и продолжаться на этапе разработки дизайна и планирования эксперимента, в этом случае дополнительных усилий на этапе подготовки отчета или научной статьи уже не потребуется.

В рекомендациях для авторов некоторые отечественные журналы акцентируют внимание на принципах ARRIVE 2.0, предлагая при подготовке статьи оценить полноту изложения при выполнении и описании исследований, проведенных на животных. Такие рекомендации включены в правила для авторов журналов «Лабораторные животные для научных исследований»² и «Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова»³.

Для успешного внедрения рекомендаций ARRIVE 2.0 в работу исследовательских центров целесообразно разработать стандартные операционные процедуры (СОП) организации на основании пунктов ARRIVE 2.0 или провести оценку, в каком объеме они уже включены в СОП. Это позволило бы до начала написания научной рабо-

² Журнал «Лабораторные животные для научных исследований». URL: <https://cdn.labanimalsjournal.ru/journal/for-authors/arrive-checklist.pdf> (дата обращения: 06.10.25).

³ Журнал «Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова» URL: https://rusjphysiol.org/index.php/rusjphysiol/ARRIVE_guidelines (дата обращения: 06.10.25).

ты (статьи или отчета) быть уверенным, что все процедуры в организации описаны, и созданы условия для их выполнения. Фактически руководство ARRIVE 2.0 может рассматриваться как перечень СОП, необходимых для выполнения научно-исследовательских работ с использованием лабораторных животных. Такого рода внедрения в исследовательских организациях также будут гармонизированы с принципами GLP (good laboratory practice)^{4,5}, и QPBR (Quality Practices in basic Biomedical Research) (Handbook on quality practices in basic biomedical research, 2010).

Сотрудниками испытательного центра АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», в котором система менеджмента качества внедрена с 2016 г. (сертификат «Русский регистр» на соответствие системы менеджмента качества ГОСТу 33044), проведен анализ внутренних документов для оценки объема внедрения принципов ARRIVE 2.0 во внутренние документы, на основании которых проводятся доклинические исследования (табл. 2).

Внедрение ARRIVE 2.0 во внутренние документы организации на примере раздела «Размер выборки» представлен на рис. 2.

В главе в качестве дополнительных примеров реализации пунктов рекомендаций ARRIVE 2.0 приведены выдержки из научных статей, опубликованных в нескольких отечественных журналах: «Лабораторные животные для научных исследований», «Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова», «Журнал эволюционной биохимии и физиологии», «Гены и клетки», «Безопасность и риск фармакотерапии» за 2022–2024 гг. и докладов сессии «Культура доклинических исследований» GLP-PLANET 2025.

Аннотация (реферат, резюме)

Важно понимать, что реферат используется читателями как инструмент отбора для принятия решения, стоит ли читать статью полностью при выборе для включения, например, в обзор. Исчерпывающий реферат, точно и лаконично описывающий результаты исследования, увеличивает полезность рукописи, позволяя оценить надежность полученных результатов (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020). Также информация из реферата отчета о научно-исследовательской работе может переноситься без пересмотра и дополнений в соответствующие разделы регистрационного досье.

Как правило, в реферате приводится информация, представляющая наибольшую ценность и позволяющая понять контекст исследования. Описывается цель исследования, приводятся сведения об использованных видах, линиях/стоках, поле лабораторных животных и т.д. Представляются ключевые методы, основные результаты, имеющие научную значимость и выводы. Частой проблемой является наличие так называемого спина в рефератах, то есть неправильного представления и искажения результатов экспериментов, что по сути означает интерпретацию, которая не точно отражает выводы и может повлиять на впечатление, производимое на читателей (Boutron I., Altman D.G. и соавт., 2014; Boutron I, Ravaud P., 2018).

⁴ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.16 № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств».

⁵ ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Межгосударственный стандарт принципы надлежащей лабораторной практики».

Таблица 2

Объем внедрения принципов ARRIVE

| Раздел ARRIVE 2.0 | Рекомендация ARRIVE 2.0 | Внутренний документ организации (СОП/инструкции/ другие документы) |
|---------------------|---|---|
| Реферат | Предоставьте точное резюме целей исследования, видов животных, породы и пола, ключевых методов, основных результатов и выводов исследования | Документы по: <ul style="list-style-type: none"> • управлению научно-исследовательской работой (НИР); • подготовке отчета о НИР |
| Предпосылки | <ol style="list-style-type: none"> 1. Включите достаточный научный фон, чтобы понять обоснование и контекст исследования, а также объяснить экспериментальный подход (актуальность). 2. Объясните, как используемые виды животных и модели решают научные задачи и, при необходимости, актуальность для биологии человека | Документы: <ul style="list-style-type: none"> • по координации проектов и/или управлению НИР; • по подготовке плана исследования; • стандартные методики; • по работе биоэтической комиссии. Дополнительно база внутрилабораторных норм и референсных интервалов, планируемых к изучению показателей, у выбранного (релевантного) вида животных |
| Цели | Четко опишите вопрос исследования, цели исследования и конкретные проверяемые гипотезы | Документы по подготовке: <ul style="list-style-type: none"> • плана исследования; • отчета о НИР. Дополнительно стандартные методики для исследований по изучению фармакодинамики, протоколы OECD для регуляторных исследований по оценке безопасности |
| Этическое заявление | Укажите название комитета по этической экспертизе или его эквивалента, который одобрил использование животных в этом исследовании, а также номера соответствующих лицензий или протоколов (если применимо). Если этическое одобрение не запрашивалось или не предоставлялось, предоставьте обоснование | Документ по работе биоэтической комиссии |

Продолжение таблицы 2

| Раздел ARRIVE 2.0 | Рекомендация ARRIVE 2.0 | Внутренний документ организации (СОП/инструкции/ другие документы) |
|----------------------------|--|--|
| Дизайн исследования | <ol style="list-style-type: none"> Сравнимые группы, в том числе контрольные. Если контрольной группы нет, должно быть изложено обоснование. Экспериментальная единица (например, отдельное животное, помет или клетка с животными) | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> координации проектов и/или управлению НИР; подготовке плана исследования; подготовке отчета о НИР; выбору и обоснование выбора доз исследуемых объектов для проведения доклинических исследований. <p>Дополнительно стандартные методики для исследований по изучению фармакодинамики, протоколы OECD для регуляторных исследований по оценке безопасности</p> |
| Размер выборки | <ol style="list-style-type: none"> Укажите точное количество экспериментальных животных (непосредственно участвовавших в эксперименте), выделенных для каждой группы, и общее количество в каждом эксперименте (например, если моделирование проводилось на большем количестве животных). Также укажите общее количество использованных животных. Объясните, как был определен размер выборки. Предоставьте подробную информацию о любых предварительных расчетах размера выборки, если таковые были | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> управлению НИР; определению объема выборки; учету и движению лабораторных животных; работе биоэтической комиссии; подготовке плана исследования; получению и обработке данных эксперимента; подготовке отчета о НИР |
| Экспериментальные животные | Предоставьте данные об использованных животных, включая виды, линию, пол, возраст или стадию развития и, если необходимо, массу тела | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> работе биоэтической комиссии; подготовке плана исследования; учету и движению лабораторных животных; мониторингу окружающей среды и мониторингу здоровья животных; подготовке отчета о НИР. <p>Дополнительно ветеринарная сопроводительная документация при поступлении из сторонних источников, стандартные методики</p> |

Продолжение таблицы 2

| Раздел ARRIVE 2.0 | Рекомендация ARRIVE 2.0 | Внутренний документ организации (СОП/инструкции/ другие документы) |
|--|--|--|
| Условия размещения и содержания животных | Предоставьте подробную информацию о размещении и условиях содержания животных, включая любое улучшение окружающей среды | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> • подготовке плана исследования; • подготовке отчета о НИР; • правилам содержания различных видов лабораторных животных, включая дрессировку; • правилам кормления и поения различных видов лабораторных животных; • регистрации параметров температуры и влажности; • проведению общеклинического наблюдения, определению боли, дистресса у животных и установление конечных гуманных точек эксперимента; • ведению первичной документации; • формированию поправок и отклонений; • подготовке плана исследования; • проведению эвтаназии лабораторных животных |
| Экспериментальные процедуры | <ol style="list-style-type: none"> 1. Что было сделано, как это было сделано и что использовалось. 2. Когда и как часто. 3. Где (включая подробную информацию о периодах акклиматизации). 4. Зачем (объясните процедуры) | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> • подготовке плана исследования; • подготовке отчета о НИР; • работе биоэтической комиссии. <p>Дополнительно стандартные методики для исследований по изучению фармакодинамики</p> |

| Раздел ARRIVE 2.0 | Рекомендация ARRIVE 2.0 | Внутренний документ организации (СОП/инструкции/ другие документы) |
|---------------------------------|---|--|
| Критерии включения и исключения | <ol style="list-style-type: none"> 1. Опишите все критерии, используемые для включения и исключения животных (или экспериментальных единиц) во время эксперимента, а также временные точки для применения критериев во время анализа. Уточните, были ли эти критерии установлены априори (например, границы массы животных, вероятность осложнения после операций и т.п.). Если критерии не были установлены, укажите это. 2. Для каждой экспериментальной группы укажите всех животных, экспериментальные единицы или данные, не включенные в анализ, и объясните почему. Если не было исключений, укажите это. 3. Для каждого анализа укажите точное значение n в каждой экспериментальной группе | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> • проведению общеклинического наблюдения, определению боли, дистресса у животных и установление конечных гуманных точек эксперимента; • подготовке биологических проб для различных видов исследований; • получению и обработке данных эксперимента; • подготовке отчета о НИР. <p>Дополнительно стандартные методики для исследований по изучению фармакодинамики</p> |
| Рандомизация | <ol style="list-style-type: none"> 1. Укажите, использовалась ли рандомизация для распределения экспериментальных единиц в контрольные и лечебные группы. Если это сделано, укажите метод, используемый для создания последовательности рандомизации. 2. Опишите стратегию, используемую для минимизации потенциальных искажающих факторов, таких как порядок лечения и обследования (например, очередность проведения манипуляций может повлиять на результат). Или расположение животного/клетки (например, положение клетки в разных частях бокса может приводить к разным условиям освещенности). Если вмешивающиеся факторы не контролировались, укажите это | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> • методам формирования; экспериментальных групп; • общеклиническому наблюдению, определению боли, дистресса у животных и установление конечных гуманных точек эксперимента; • получению и обработке данных эксперимента; • подготовке отчета о НИР |

Продолжение таблицы 2

| Раздел ARRIVE 2.0 | Рекомендация ARRIVE 2.0 | Внутренний документ организации (СОП/инструкции/ другие документы) |
|----------------------|--|---|
| Ослепление | Опишите, кто был осведомлен о характеристике групп на разных этапах эксперимента (во время распределения, проведения эксперимента, оценки результатов и анализа данных) | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> • методам формирования экспериментальных групп; • ведению документации и учету исследуемых лекарственных средств/активных фармацевтических субстанций; • маркировке образцов и биоматериалов; • обработке материала для гистологического исследования (фиксация, вырезка, проводка, изготовление и окрашивание срезов); • работе биоэтической комиссии; • подготовке отчета о НИР |
| Критерии оценки | <ol style="list-style-type: none"> 1. Четко определите все оцениваемые показатели результатов (например, гибель клеток, молекулярные маркеры или поведенческие изменения). 2. Для исследований по проверке гипотез укажите основную меру результата, то есть меру результата, которая использовалась для определения размера выборки | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> • координации проектов и/или управлению НИР; • проведению доклинических исследований; • проведению общеклинического наблюдения, определению боли, дистресса у животных и установление конечных гуманных точек эксперимента; • получению и обработке данных эксперимента; • определению объема выборки; • работе биоэтической комиссии; • подготовке отчета о НИР. <p>Дополнительно стандартные методики для исследований по изучению фармакодинамики</p> |

| Раздел ARRIVE 2.0 | Рекомендация ARRIVE 2.0 | Внутренний документ организации (СОП/инструкции/ другие документы) |
|------------------------------------|---|---|
| Статистические методы | <ol style="list-style-type: none"> 1. Предоставьте подробную информацию об используемых статистических методах для каждого анализа, включая программное обеспечение. 2. Опишите любые методы, использованные для оценки соответствия данных предложенным статистическим подходам, и укажите, что было сделано, если предложенные статистические подходы не подошли | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> • подготовке плана исследования; • определению объема выборки; • получению и обработке данных эксперимента; • подготовке отчета о НИР |
| Результаты | <ol style="list-style-type: none"> 1. Сводная/описательная статистика для каждой экспериментальной группы с мерой вариабельности, где это применимо (например, среднее и стандартное отклонение или медиана и размах). 2. Если применимо, размер эффекта с доверительным интервалом | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> • получению и обработке данных эксперимента; • подготовке отчета о НИР |
| Интерпретация/ научное значение | <ol style="list-style-type: none"> 1. Интерпретируйте результаты, принимая во внимание цели и гипотезы исследования, текущую теорию и другие соответствующие исследования в литературе. 2. Прокомментируйте ограничения исследования, включая потенциальные источники систематической ошибки, ограничения модели на животных и неточности, связанные с результатами | <p>Документы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> • подготовке отчета о НИР; • получению и обработке данных эксперимента. <p>Дополнительно стандартные методики для исследований по изучению фармакодинамики, протоколы OECD для регуляторных исследований по оценке безопасности</p> |

Окончание таблицы 2

| Раздел ARRIVE 2.0 | Рекомендация ARRIVE 2.0 | Внутренний документ организации (СОП/инструкции/ другие документы) |
|--|---|--|
| Возможность обобщения полученных результатов/ трансляционность | Прокомментируйте, могут ли и каким образом результаты этого исследования распространяться на другие виды или экспериментальные условия, включая какое-либо отношение к биологии человека (при необходимости) | Документ по подготовке отчета о НИР. Дополнительно база внутрिलाбораторных норм и референсных интервалов, планируемых к изучению показателей, у выбранного (релевантного) вида животных |
| Регистрация протокола | Укажите, был ли протокол/план исследования (включая гипотезу, ключевые особенности дизайна и план анализа) подготовлен до исследования, а также был ли этот протокол зарегистрирован и где | Документы по подготовке: <ul style="list-style-type: none"> • отчета о НИР; • плана исследования. Дополнительно принципы работы внутренних инспекций (служба качества) |
| Доступ к данным | Опишите, доступны ли данные и где именно | Документы по подготовке: <ul style="list-style-type: none"> • отчета о НИР; • плана исследования. Дополнительно принципы архивирования документов и гистологического материала в организации |
| Конфликт интересов | <ol style="list-style-type: none"> 1. Заявите о любых потенциальных конфликтах интересов, в том числе финансовых и нефинансовых. Если таковых не существует, об этом следует указать. 2. Перечислите все источники финансирования (включая идентификатор гранта) и роль спонсоров в разработке, анализе и отчетности исследования | Документ по подготовке отчета о научно-исследовательской работе. Дополнительно декларация о соответствии исследования правилам GLP и раскрытие конфликта интересов от руководителя исследования |

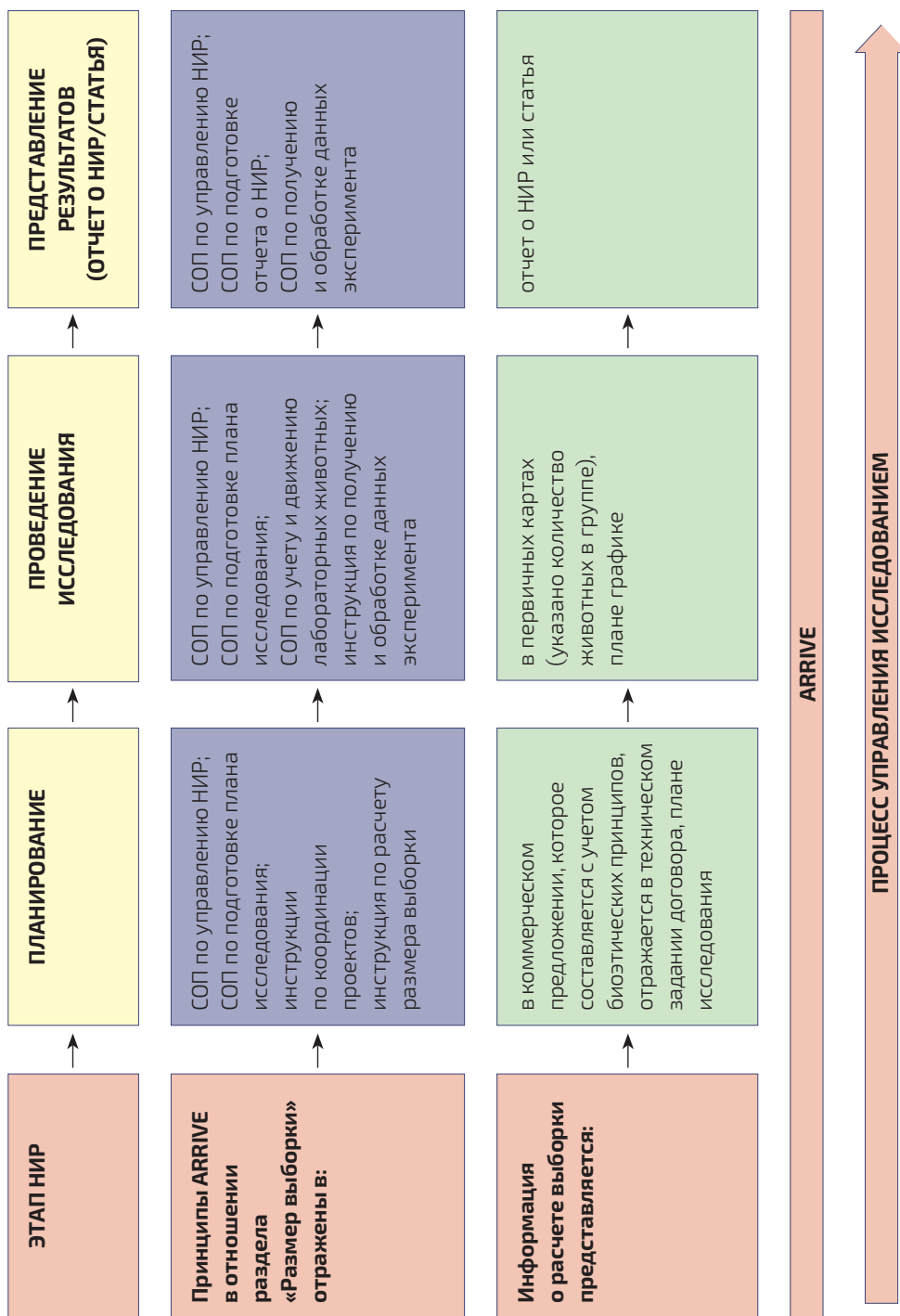


Рис. 2. Внедрение ARRIVE 2.0 в процесс управления исследованием

Проанализировано наличие «спина» в рефератах статей о рандомизированных контролируемых исследованиях в области экстренной медицины, опубликованных в журналах с высоким импакт-фактором в течение 5 лет. Анализировались исследования, в которых основным результатом не был статистически значимым. Получены доказательства выборочного сообщения о результатах в 10% рефератов и «спина» в 44% рефератов (Reynolds-Vaughn V., Riddle J. и соавт., 2019). Систематический обзор работ, изучающих природу и распространенность «спина» в биомедицинской научной литературе, также показал, что он занимает значительное место с медианой 67% (диапазон от 10 до 84%). Выяснилось, что в результатах исследований, финансируемых коммерческими компаниями, большая вероятность наличия «спина» (Chiu K., Grundy Q. и соавт., 2017).

Для анализа оценки частоты публикационных ошибок в исследованиях на животных было выбрано случайным образом 100 тезисов, представленных на конференции «Общества интенсивной терапии» в 2008 г. Далее был проведен поиск последующих полнотекстовых публикаций в базах PubMed и EMBASE до июня 2015 г., а также в DOAJ и Google Scholar до мая 2017 г. Оказалось, только 62% исследований, представленных на конференции в виде тезисов, впоследствии были опубликованы как статьи. Фактически это означает, что большая часть проведенных на животных экспериментов не внесла существенного научно-методического вклада в науку. При этом описание исследований как в тезисах, так и в полнотекстовых статьях была разного качества. Так, например, по совокупности в рефератах полнотекстовых статей и тезисах о рандомизации сообщалось в 27%, при этом ни в одной из публикационных форм не был описан метод рандомизации, основной результат определен в 26%, количество использованных животных указано в 47%, об использовании ослепления и расчете размера выборки сведений не представлено (Conradi U., Joffe A.R., 2017).

Справочная информация (предпосылки)

ARRIVE 2.0 рекомендует достаточно подробно описать научные предпосылки, чтобы читателю было понятно обоснование и контекст исследования. Предложено объяснять экспериментальный подход. При этом научная справочная информация для исследования на животных должна продемонстрировать явный пробел в доказательствах и разъяснять, почему подход *in vivo* был оправдан. Важно пояснять, как используемые виды животных и модели решают научные задачи, и при необходимости указать актуальность для биологии человека. Предоставляется достаточно подробное описание исследования, чтобы можно было оценить применимость модели на животных для решения вопроса, поставленного в эксперименте (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Удивительно, ни один пункт ARRIVE 2.0 не содержит прямых рекомендаций, требующих от авторов обоснования выбора вида лабораторного животного, используемого в исследовании. Тем не менее данный вопрос является основополагающим при планировании исследования особенно в связи с тем, что реализация принципа 3Rs в последние годы идет путем замещения использования млекопитающих животных на другие виды или альтернативные методы и далеко не всегда сопровождается научным толкованием допустимости такой замены. Для обоснования выбора

лабораторного животного впервые предложен комплексный подход, основанный на оценке пяти типов релевантности (табл. 3). Важно отметить, что метаболическая релевантность должна рассматриваться с позиций системы ферментов как мишень и ферментов I и II фазы биотрансформации. Об этом в своем докладе «Оценка релевантности животных для исследования "Point-by-point"» рассказала директор АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Марина Николаевна Макарова.

Применение данного подхода может позволить снизить количество нерезультативных экспериментов, повысить трансляционность данных доклинических исследований на человека и улучшить биоэтические аспекты исследований. К моменту подготовки главы была опубликована рукопись (Макарова М.Н., Крышень К.Л. и др., 2025), в которой не только описан сам подход, но и приведены примеры.

Другим важным вопросом, который напрямую не описан в ARRIVE 2.0, является характеристика качества лабораторных животных. Руководитель научно-методической группы АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Мария Александровна Ковалева в докладе «Создание системы идентификации качества лабораторных животных» рассказала о деятельности инициативной рабочей группы по созданию системы идентификации качества лабораторных животных [Laboratory Animal Quality Identification systems (LAQIS)],

Таблица 3

Типы релевантности

| № | Тип релевантности | Описание |
|----|--|---|
| 1 | Эпитопная релевантность | Применима для моноклональных антител и основана на гомологии аминокислотной последовательности антигена и/или эпитопа, аффинности связывания антител с эпитопом |
| 2 | Рецепторная релевантность | Основана на аффинности связывания с мишенью-рецептором, межвидовых особенностях распределения и экспрессии рецепторов |
| 3а | Метаболическая релевантность: <i>система ферментов как мишень</i> | Основана на межвидовых особенностях ингибирования активности ферментов как первичного механизма действия лекарственного средства |
| 3б | Метаболическая релевантность: <i>ферменты I и II фазы биотрансформации</i> | Основана на межвидовых особенностях метаболизма лекарственного средства |
| 4 | Морфофункциональная релевантность | Основана на межвидовых особенностях нормальной и/или патологической физиологии |
| 5 | Техническая релевантность | Определяется анатомическими, физиологическими ограничениями выполнения манипуляций с животными |

в которую вошли специалисты в области доклинических исследований, инжиниринга, контрольно-надзорных органов. Работа LAQIS разделена на этапы, и итогом станут разработка и внедрение шкалы количественной оценки качества лабораторных животных [Laboratory Animals Quality Scale (LAQS)]. Применение LAQS позволит сотрудникам испытательных центров и питомников самостоятельно и обоснованно определять, а при необходимости повышать, уровень качества лабораторных животных, стандартизировать использование лабораторных животных разного качества в исследованиях, имеющих различные цели (полевые, поисковые, регистрационные и др.), и для образовательного процесса. Опубликованные материалы позволяют пересмотреть процессы в испытательном центре или питомнике, повысить уровень контроля за условиями содержания животных и в целом будут способствовать повышению качества исследований *in vivo* [Бондарева Е.Д., Барчева А.В. и соавт., 2025; Бондарева Е.Д., Ковалева М.А. и соавт., 2025 (a); Бондарева Е.Д., Ковалева М.А. и соавт., 2025 (b)].

Цели

По научным, этическим и экономическим причинам эксперименты с участием лабораторных животных должны быть надлежащим образом разработаны, правильно проанализированы и грамотно опубликованы. Недостаток или исключение важной информации может привести к научным и этическим проблемам. Был выполнен систематический анализ отчетности, экспериментального дизайна и статистической обработки данных в опубликованных биомедицинских исследованиях с использованием лабораторных животных. В базах Medline и EMBASE осуществлен поиск исследований, проведенных на крысах, мышах и нечеловекообразных приматах в финансируемых государством исследовательских учреждениях Великобритании и США. Собрана подробная информация, объединившая 271 публикацию о цели или гипотезе исследования, количестве, поле, возрасте и/или массе тела животных, а также об экспериментальных и статистических методах. Как оказалось, только в 59% исследований указывались гипотеза или цель исследования, а также количество и характеристики используемых животных. В большинстве рассмотренных статей не использовали рандомизацию (87%) или ослепление (86%) для снижения предвзятости при выборе животных и оценке результатов. Только в 70% публикаций подробно описывались методы статистической обработки и представлялись результаты с указанием меры погрешности или изменчивости (Kilkenny C., Parsons N., Kadyszewski E. и соавт., 2009).

В соответствии с ARRIVE 2.0 необходимо четко формулировать вопрос исследования, цели исследования и при необходимости конкретные проверяемые гипотезы (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Этическое заявление

С тех пор как в 1959 г. W. Russell и R. Burch опубликовали книгу «Принципы гуманной экспериментальной техники», правила 3Rs (Replacement, Reduction and Refinement; замещение, сокращение, улучшение) стали руководящими принципами использова-

ния животных в науке. В 1959 г. авторы выразили сожаление по поводу недостаточно быстрого внедрения существующих знаний для улучшения экспериментальных методов. В статьях значимые детали обычно опускаются, потому что они считаются общеизвестными либо просто из-за ограничений в допустимых объемах публикаций.

В анализе, посвященном оценке представления информации о соблюдении правил 3Rs в научных статьях, показано, что методы сокращения являются наиболее часто упоминаемыми авторами систематических обзоров, но в целом информация о том, как результаты соотносятся с принципами 3Rs, в лучшем случае ограничена (Avey M.T., Fenwick N., 2015).

ARRIVE 2.0 рекомендуют указывать название комитета по этической экспертизе или его эквивалента, который одобрил использование животных в исследовании, и номера протокола или иного документа (если применимо). Если этическое одобрение не запрашивалось или не предоставлялось, необходимо указать обоснование. Согласно ARRIVE 2.0, авторы несут ответственность за соблюдение правил, касающихся использования животных в научных целях. Это включает обеспечение получения соответствующего одобрения на исследование от этического комитета (или иного регулирующего органа) до начала эксперимента (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Российские журналы стали уделять особое внимание этическим заявлениям в исследованиях *in vivo*. Раздел «Соответствие принципам этики» (Небогатиков В.О., Салихова Д.И. и соавт., 2024) становится неотъемлемой частью рукописи, в которой приводятся сведения об этическом комитете, касающиеся его названия и учреждения, при котором он действует, представляется номер протокола или иного документа, оформляемого по результатам работы, а также указывается дата его подписания.

Дизайн исследования

Академический мир быстро отреагировал на пандемию COVID-19 колоссальным количеством научных публикаций. Очевидно, что требовались масштабные исследования для поиска возможных методов профилактики и лечения заболеваний. К сожалению, на практике, далеко не все результаты доклинических и клинических исследований оказались надежными. Например, предложено более 230 моделей по поиску методов диагностики и прогноза течения инфекции COVID-19. Систематический обзор и критическая оценка этих моделей показали, что почти все они недостаточно надежны из-за наличия существенных недостатков в дизайне эксперимента, анализе данных, представлении методов и результатов. Поэтому трудно судить, заслуживают ли выводы авторов доверия, что ставит под сомнение и безопасность использования предложенных подходов (Wynants L., Van Calster B. и соавт., 2020).

Один из примеров — исследование по терапевтической эффективности гидроксихлорохина у пациентов с COVID-19. Ранние публикации, в которых сообщалось о положительных эффектах, подверглись жесткой критике за множественные серьезные методологические недостатки. Некорректное исследование гидроксихлорохина в начале пандемии повлияло на гражданский оборот препарата, поставив

под угрозу его доступность для пациентов, которым лекарственное средство было прописано по другим, уже одобренным, показаниям и затруднило набор пациентов в последующие исследования (Alexander P.E., Debono V.B. и соавт., 2020; Englund T.R., Kinlaw A.C. и соавт., 2020).

На примере клинических исследований показано, что часть из них плохо спланирована, имеют недостаточно подробный или недоступный для общественности протокол исследования (если он вообще существует). Однако важно отметить, что, хотя клинические испытания имеют протокол в отличие от других типов исследований, само по себе наличие протокола не означает автоматически, что все члены исследовательской группы придерживаются его, или дизайн исследования не имеет недостатков (Van Calster B., Wynants L. и соавт., 2021).

Эксперимент — процедура сбора научных данных о реакции на вмешательство систематическим образом, чтобы максимально повысить шанс правильно ответить на вопрос (подтверждающее исследование) или предоставить материал для генерации новых гипотез (пилотное исследование). В эксперименте применяются воздействия, которые находятся под контролем экспериментатора, и цель в том, чтобы выявить, вызывает ли изучаемое воздействие реакцию у экспериментальных субъектов, и/или количественно ее оценить (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Подтверждающее исследование обычно включает формальную проверку одной или нескольких заранее определенных гипотез. Напротив, поисковое исследование обычно включает поиск закономерностей в данных с меньшим акцентом на формальную проверку гипотез. Обычно такие эксперименты включают много переменных. Два типа этих исследований не являются взаимоисключающими. В рамках одного эксперимента может быть выполнено и подтверждающее исследование, и поисковое исследование. Например, исследователь может проводить эксперимент, чтобы подтвердить, оказывает ли исследуемое соединение предполагаемое влияние на массу тела крыс, однако при этом он может также в режиме поискового исследования собирать данные, касающиеся гематологических и биохимических показателей. Полученные результаты впоследствии могут стать основой для формулировки дополнительных гипотез для будущих подтверждающих экспериментов (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Экспериментальный дизайн зависит от целей исследования. Он должен быть детально спланирован, включая разработку протоколов и рассмотрение статистических методов, которые будут использоваться, до начала работы. В хорошо спланированном эксперименте отсутствует всякая предвзятость, а достаточно мощная доказательная база позволяет обнаружить эффекты, которые, вероятно, имеют биологическое значение (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Критические вопросы, которые нужно учитывать при разработке экспериментального дизайна, а также практические рекомендации по его реализации освещены в первом пункте ARRIVE 2.0. Для каждого эксперимента необходимо предоставить краткие сведения о дизайне исследования, включая:

- сравниваемые группы, в том числе контрольные, если контрольная группа не использовалась, это следует обосновать;
- экспериментальная единица (например, отдельное животное, помет или клетка с животными).

Сравниваемые группы

Для планирования доклинических исследований могут быть использованы онлайн инструменты открытого доступа, например, «Помощник по экспериментальному проектированию» [The Experimental Design Assistant (EDA)]. EDA — это бесплатный ресурс, разработанный NC3Rs (National Center for the Replacement Refinement and Reduction of Animals in Research), доступный после регистрации на [сайте](#). EDA позволяет графически отобразить дизайн эксперимента.

EDA помогает избежать многих ошибок на этапе планирования, повышает надежность результатов и в конечном счете их воспроизводимость. Система генерирует последовательность рандомизаций для эксперимента и предоставляет специальные функции, такие как осуществление ослепления и расчет размера выборки. Индивидуально подбираются предложения по оптимизации плана исследования. Например, система помогает исследователям определить переменные, которые могут исказить результат, и советует, как включить их в рандомизацию и статистический анализ. Как только исследователь финализирует дизайн, система дает рекомендации о том, какие методы статистического анализа являются наиболее подходящими. Планирование экспериментов с использованием EDA побуждает исследователей учитывать источники смещения, начиная с планирования и до сбора данных, обеспечивая строгий дизайн, который с большей вероятностью даст надежные результаты, для дальнейшего воспроизводства. EDA также может использоваться в качестве учебного ресурса, что способствует лучшему пониманию принципов экспериментального планирования на ранней стадии процесса обучения, что реализуется, в частности, за счет визуального представления абстрактных понятий, таких как экспериментальная единица, независимые переменные или преобразования данных (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Большая часть исследований *in vivo* должны проводиться с использованием одного из шаблонных дизайнов. Типичные экспериментальные планы описаны в литературе, и в большинстве экспериментов необходимо использовать один из этих планов. Наиболее распространенными являются полностью рандомизированные, рандомизированные блочные и факторные планы, однако также используется дизайн по типу «латинский квадрат», перекрестный дизайн, дизайн с повторными измерениями и др. Исследователям рекомендуется полностью описывать дизайн, чтобы позволить экспертам и/или читателям понять, что было сделано. Рекомендуется включать объяснение нестандартного плана, если он используется. В пределах каждого типа плана существует определенная свобода с точки зрения выбора воздействий и экспериментальных условий, при этом, как правило, методы статистического анализа стандартные (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Планы, в которых животные (или другие экспериментальные единицы) распределяются в группы случайным образом, также широко используются для исследований на животных. Их главными преимуществами являются простота и невосприимчивость к неравному количеству животных в группах, поскольку доступно статистическое программное обеспечение для анализа более сложных планов с неравным количеством экспериментальных единиц в каждой группе. Минусом является то, что такая «простая» рандомизация не может учитывать неоднород-

ность экспериментального материала или вариации (например, из-за биологических ритмов или окружающей среды), которые нельзя контролировать в течение определенного периода времени (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Планы с блочной рандомизацией используются для разделения эксперимента на ряд «мини-экспериментов» с целью повышения точности и/или учета некоторой естественной структуры экспериментального материала. В случае объемных экспериментов бывает невозможно воздействовать на всех животных одновременно или разместить их в одной среде, поэтому разделение эксперимента на более мелкие блоки, в которых воздействие будет осуществляться отдельно, является предпочтительным. Обычно такой блок состоит из одного или нескольких животных (или других экспериментальных единиц), которые были случайным образом распределены в одну из экспериментальных групп. Если есть *b* различных методов лечения, блок будет состоять из кратного числа животных, которые были случайным образом распределены в одну из групп лечения. Таким образом, блочный дизайн обеспечивает баланс воздействия по изменчивости. В ряде случаев желательно проводить эксперименты внутри помета, например, при сравнении трансгенных животных с животными дикого типа, в этом случае каждый помет является блоком. Аналогично, когда экспериментальные животные сильно различаются по возрасту или массе тела, лучше выбрать несколько групп однородных животных, а затем распределить их в группы. Рандомизированные блочные планы могут быть более предпочтительны, чем полностью рандомизированные планы, но их преимущества зависят от правильного анализа, использующего (обычно) двухфакторный ANOVA без взаимодействия (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

В дополнение к контролируемым исследователем воздействиям существует ряд случайных переменных, которые неконтролируемы, но, возможно, должны быть приняты во внимание при планировании эксперимента и анализе результатов. Например, наличие циркадных ритмов может стать причиной того, что параметры поведения, собранные утром, будут сильно отличаться от тех же данных, но собранных днем или вечером. Аналогично, экспериментальный материал может иметь некоторую естественную структуру (например, мышцы одного помета бывают более похожи, чем особи различных пометов). Измерения, выполненные разными людьми или в разное время, могут отличаться, а качество реагентов может ухудшаться с течением времени. Если предполагается, что эти эффекты будут влиять на результаты, необходимо учитывать их на этапе разработки дизайна (например, используя блочную рандомизацию, «латинский квадрат» или другой подходящий дизайн) или в ходе статистического анализа (например, используя ковариационный анализ) (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Факторные эксперименты изучают влияние нескольких типов воздействия или независимой переменной (например, эффект лекарственного препарата и пол животных). Целью может быть не только изучение того, есть ли реакции на введение лекарственного препарата, но и определение характера воздействия на оба пола (то есть выяснить, взаимодействуют факторы или усиливают друг друга). Такие планы чрезвычайно эффективны, поскольку они могут предоставлять больше информации для заданного размера эксперимента, чем большинство однофакторных планов, за счет увеличения сложности статистического анализа. В некоторых

случаях большое количество факторов, которые могут влиять на результаты эксперимента, можно результативно изучить с помощью более продвинутых факторных планов. Например, при скрининге потенциальных лекарственных средств можно выбрать подходящую комбинацию переменных (например, наличие/отсутствие тестируемого соединения; пол, линия, возраст и рацион животных; время после лечения; метод измерения конечной точки). Если учесть только 2 уровня каждой из этих переменных, то получится 128 комбинаций (то есть 2^7) лечения для изучения. Существуют специальные методы для разработки дизайна таких экспериментов без необходимости использования чрезмерно большого количества животных (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Приведенные выше рекомендации по планированию дизайна эксперимента применимы в первую очередь к фундаментальным исследованиям. Дизайн регуляторных, проводимых с целью дальнейшей регистрации лекарственного препарата, фармакокинетических и токсикологических исследований регламентирован соответствующими нормативными и нормативно-правовыми документами. Изменение дизайнов, рекомендованных для регуляторных исследований, возможны, но должны быть научно обоснованы.

Если использован общепринятый метод, может быть представлена ссылка на источник литературы, содержащий достаточно полную информацию для воспроизведения. Все модификации таких методов должны быть описаны.

В отечественных журналах дизайн исследования, как правило, представлен описательно (текстовое написание), авторы приводят полные и исчерпывающие данные, позволяющие воспроизвести эксперимент. Важно отметить, что в ряде случаев графическое представление дизайна исследования, например, с использованием так называемого временного луча, способствует большему пониманию того, какие манипуляции и в какие дни исследования проводятся (Кузьмина Д.М., Еремеева Н.А. и соавт., 2023).

Экспериментальная единица

В эксперименте биологические и технические факторы часто будут организованы иерархически, например, клетки внутри животных и митохондрии внутри клеток или клетки внутри комнат и животные внутри клеток. Такая иерархия может затруднить определение размера выборки — количество животных, клеток или митохондрий? Размер выборки — это количество экспериментальных единиц в группе. Экспериментальная единица (или единица рандомизации) определяется как биологическая единица, подвергшаяся вмешательству независимо от всех других единиц, так что можно отнести любые две экспериментальные единицы к разным группам. Кроме того, экспериментальные единицы не должны влиять на результаты друг друга (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Объединение экспериментальных единиц с подвыборками или повторными измерениями может привести к искусственному увеличению размера выборки (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Различают два типа репликации (повторов). Первый — репликация, которая увеличивает размер выборки (n) и, таким образом, способствует проверке эксперимен-

тальной гипотезы. Это называется «истинная, подлинная или абсолютная репликация», и когда эти определения (прилагательные) не используются, подразумевается, что репликация означает именно такой тип. Второй тип — репликация, которая не увеличивает размер выборки, она называется «псевдорепликация». Псевдорепликация искусственно увеличивает размер выборки, тем самым завышая кажущиеся доказательства, подтверждающие научное утверждение, и может приводить к невозпроизводимым результатам. Например, предположим, что исследователь выдвигает гипотезу, что у самцов мышей мозг тяжелее, чем у самок. Он мог бы, во-первых, взвесить мозг 1 самца и 1 самки мыши 5 раз или, во-вторых, взвесить мозг 5 самцов и 5 самок мышей 1 раз. Оба дизайна предоставляют 10 точек данных для расчета достоверности p -значения, но эта величина бессмысленна для первого дизайна, поскольку гипотеза касается половых различий, и есть только 1 представитель каждого пола. Многочисленные измерения на этих 2 мышах не вносят вклад в определение количества особей (n) и, таким образом, представляют собой псевдорепликацию (Lazic S.E., Clarke-Williams C.J. и соавт., 2018).

В некоторых экспериментах животных рандомизируют по условиям экспериментального воздействия, например, введение лекарственного препарата. Затем исследуется орган или часть тела обычно посмертно. Экспериментальная единица — животное, а размер выборки (n) — количество животных. Несколько гистологических срезов, количество нейронов на срезе, шипиков на нейрон и т.д. — все это подвыборки, поскольку эти элементы были рандомизированы вместе, препарат воздействует одновременно на все элементы подвыборки, и они могут влиять друг на друга между применением препарата и фиксацией ткани (Lazic S.E., Clarke-Williams C.J. и соавт., 2018).

Эксперименты с использованием нечеловекообразных приматов, как правило, имеют небольшие размеры выборки как по этическим, так и экономическим причинам, но требования к подлинной репликации остаются прежними. Предположим, что в эксперименте фиксируют данные с одного нейрона, в то время как испытуемому животному показывают изображения счастливой или грустной обезьяны. При этом 100 изображений показываются в случайном порядке, и в каждом случае измеряется частота нейронного ответа. Показано, что более быстрый ответ на сигнал возникает при демонстрации изображения счастливой обезьяны, при этом размер выборки составляет 100. Это кажется простым способом получить большой размер выборки, но только при исследовании 1 животного и 1 нейрона. Такие данные невозможно экстраполировать на генеральную совокупность. Статистический анализ в данном случае верный, но проверяемая гипотеза нерелевантна (Lazic S.E., Clarke-Williams C.J. и соавт., 2018).

В экспериментах *ex vivo* воздействию подвергаются отдельные органы животного. Если это парные органы или есть возможность забора нескольких образцов, например, левый и правый гиппокамп, две почки или несколько образцов крови, каждый из них может быть рандомизирован по различным условиям экспериментального воздействия. В таком случае n — это количество органов/образцов, при этом в исследование целесообразно включать несколько животных, так как полученные данные повысят надежность эффекта и позволят оценить, как наблюдаемый эффект отличается у разных животных. В других экспериментах *ex vivo* воздействие (ле-

карственный препарат) применяется к животному, и от каждой особи получают несколько, например, гистологических срезов. В этом случае n — количество животных, а не срезов (Lazic S.E., Clarke-Williams C.J. и соавт., 2018).

Если доклиническое исследование включало гистологический анализ, согласно ARRIVE требуется описать, как учитывались биологические и технические повторы. Под биологическими повторами следует понимать данные, полученные от независимых биологических единиц, которые отражают вариабельность биологической тест-системы. Например, в эксперимент включены 2 группы мышей по 10 животных в каждой, одна из которых является контрольной и не получает воздействия, вторая — экспериментальной, получающей лекарственный препарат. В таком случае каждая мышь будет являться биологической единицей, то есть биологическим повтором. Под техническими повторами следует понимать повторные измерения одного и того же объекта в одинаковых условиях. О роли технических повторов рассказал руководитель отдела гистологии и патоморфологии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Ярослав Александрович Гущин в докладе «[Технические реплики в гистологическом анализе \(ARRIVE\)](#)». При гистологическом анализе технические повторы вносят существенный вклад, повышая качество и надежность полученных результатов. Позволяют исключить ошибки, связанные с особенностями техники приготовления срезов, неправильной ориентацией ткани и окрашивания. В том случае, если предполагается получение количественных данных, важно помнить, что технические повторы — несколько срезов, полученных из ткани одного животного, будут являться псевдорепликацией.

Для гарантии того, что результаты могут быть экстраполированы на интересующую исследователя популяцию, репликация должна соответствовать проверяемой гипотезе. В этом случае необходимо определить научную или биологическую единицу интереса, то есть сущность (например, пациенты, животные, клетки и т.д.), на которой требуется проверить гипотезу или сделать вывод. Например, чтобы сделать заключение, подтвердившее, что лекарственный препарат эффективнее плацебо, требуется большое количество пациентов, поскольку гипотеза касается именно их. Невозможно ввести одному пациенту лекарство, а другому — плацебо и проводить ежедневные измерения в течение нескольких недель, а затем сделать выводы об эффективности изучаемого лекарственного препарата. Иногда биологические единицы могут быть неочевидными. Предположим, мы выдвигаем гипотезу, что аутбредные мыши более обучаемы, чем инбредные. Невозможно проверить эту гипотезу только на одной линии аутбредных и одной линии инбредных мышей, даже если имеется существенная выборка для каждой линии. Между этими двумя линиями могут быть различия, которые не имеют ничего общего с их статусом инбридинга/аутбридинга. Биологическая единица — это линия (потому что гипотеза касается линий), и поэтому нам нужно несколько линий как аутбредных, так и инбредных мышей. После установления биологической единицы в эксперименте, следующим объектом для определения является экспериментальная единица, которая является объектом, случайным образом и независимо подвергшимся экспериментальному воздействию. Иногда экспериментальную единицу называют «единицей распределения, или единица рандомизации», примерами служат человек, животное, клетка, аквариум, чашка для культивирования или лунка в планшете. Во многих

экспериментах биологическая единица и экспериментальная единица могут быть одной и той же сущностью, а ключевым моментом является то, что размер выборки соответствует количеству экспериментальных единиц (Lazic S.E., Clarke-Williams C.J. и соавт., 2018).

Для того чтобы репликацию можно было считать истинной, выполняется ряд требований:

1. Экспериментальные единицы должны быть независимо распределены по экспериментальным условиям или вмешательствам. Независимость необходима, поскольку расчеты p -значения предполагают независимость.
2. Экспериментальное воздействие должно применяться независимо к каждой экспериментальной единице. Независимость необходима, поскольку невозможно точно воспроизвести воздействие ко всем экспериментальным единицам. Такой эффект известен как «ошибка воздействия». Воздействие не должно распространяться или влиять на соседние экспериментальные единицы, особенно те, которые находятся в ином состоянии. Например, если на одно полушарие мозга апплицируется фактор роста, а другое служит контролем, предполагается, что фактор роста не диффундирует в противоположное полушарие. Невозможно считать данное утверждение верным, особенно если его нельзя проверить. В таком случае лучше использовать разных животных, формируя экспериментальную и контрольную группы (Lazic S.E., Clarke-Williams C.J. и соавт., 2018).
3. Экспериментальные единицы не должны влиять друг на друга, особенно на измеряемые переменные результаты. Например, показано, что поведение мышей дикого типа изменилось, когда их поместили с однопометниками, нокаутированными по гену нейрוליгина-3 (модель аутизма) (Kalbassi S., Bachmann S.O. и соавт., 2017). Здесь экспериментальная единица в одном состоянии влияет на экспериментальные единицы в другом (Lazic S.E., Clarke-Williams C.J. и соавт., 2018).

Следует отметить, что в отечественных статьях, описывающих исследования *in vivo*, крайне редко приводится описание экспериментальных единиц, что скорее всего обусловлено тем, что по умолчанию экспериментальной единицей является само лабораторное животное. Описание единиц измерения особенно необходимо, если дизайн эксперимента предусматривает отбор биологического материала для дальнейшего анализа.

Размер выборки

Вероятность обнаружения разницы между группами связана в том числе с размером выборки. Ее величина — один из первых и главных вопросов, на которые необходимо ответить при планировании исследования. Интуитивно понятно, что размер выборки, меньший необходимого, приведет к недостаточной статистической мощности для ответа на вопрос исследования и снизит вероятность достижения статистической значимости. Однако к выбору размера выборки неприменим принцип «чем больше, тем лучше». Большой размер выборки в большей степени харак-

теризует популяцию и, следовательно, обеспечивает более точные результаты. При этом стоит отметить, что после определенного предела увеличение точности будет небольшим и клинически незначимым. В некоторых исследованиях чрезмерно большая выборка подвергнет потенциально травматичным процедурам большее, чем необходимо, количество животных, что недопустимо с этической точки зрения. Определение размера выборки зависит от дизайна и цели исследования. В большинстве случаев величину выборки можно определить путем проверки гипотез, при этом необходимо учитывать размер ошибок типа I и типа II, а также дисперсию популяции и значительность эффекта интересующего результата (Zhang X., Hartmann P., 2023).

Уровень значимости указывает на вероятность получения ложноположительно-го результата, когда неверно отвергается нулевая гипотеза об отсутствии различий (ошибка I типа). Обычно он устанавливается на уровне 5%, хотя иногда бывают и более низкие значения. Альтернативная гипотеза обычно заключается в том, что два средних значения или частоты различаются (Festing M.F., Altman D.G., 2025).

Мощность эксперимента определяет вероятность того, что в эксперименте обнаружится указанный размер эффекта для данного уровня значимости и стандартного отклонения, и результаты будут статистически значимы. Выбор уровня мощности несколько произволен и обычно составляет от 80 до 95%. Однако при тестировании некоторых вакцин на вирулентность может быть указана мощность до 99% из-за серьезных последствий неспособности обнаружить вирулентную партию. Обратите внимание, что единица минус мощность — это вероятность получения ложноотрицательного результата (ошибка II типа) (Festing M.F., Altman D.G., 2025).

Одной из распространенных проблем надежности экспериментов *in vivo* является то, что они имеют недостаточную статистическую мощность, поскольку обычно для получения результатов используется слишком малое количество животных. Например, средняя мощность в нейробиологических исследованиях на животных оценивается примерно в 20%. Соответственно, существует риск пропустить истинный эффект (ложноотрицательный результат), так как только 1 из 5 экспериментов имел бы шанс обнаружить эффект заявленной величины. Также использование слишком малых размеров выборки также снижает надежность выводов отдельного эксперимента. Когда обнаруживается статистически значимый эффект, он с меньшей вероятностью будет подлинным, а его выраженность с большей вероятностью будет переоценена. Анализ научных публикаций показал, что обоснование выбора размера выборки редко включается в статьи (Percie du Sert N., Vamsey I. и соавт., 2017).

В 2003 г. опубликованы результаты исследования, в котором оценивали мощность статистических тестов, представленных в 697 статьях из 10 журналов, публикующих материал о поведении. В среднем статистическая мощность составляла 13–16% для обнаружения небольшого эффекта и 40–47% — среднего эффекта. Такие цифры намного ниже рекомендуемого порога мощности, составляющего 80%. По этому критерию только 2–3, 13–21 и 37–50% использованных статистических тестов имели необходимую мощность для выявления небольшого, среднего или большого эффекта соответственно. Показано, что неспособность обнаружить значимые связи отчасти обусловлена малыми размерами выборки, поскольку мощность увеличивается с размером выборки (Jennions M.D., Møller A.P., 2003).

Систематические обзоры научных статей по экспериментальному моделированию инсульта показывают, что только в 3% исследований приводят информацию о расчете размера выборки. Если рассмотреть наихудший сценарий и предположить, что большинство авторов действительно выполнили, но не описали расчет мощности, использовали минимально необходимый расчетный размер выборки, то более 60% экспериментов могли быть недостаточно мощными для обнаружения реальных различий между опытными группами и контрольной. Если требуемый размер выборки для обнаружения определенного размера эффекта в действительности составляет 20 животных, но используется только 18, то потенциально такое исследование нельзя считать надлежащим, однако если участвуют 22, то исследование можно считать надежным при игнорировании принципов этики (Fisher M., Feuerstein G. и соавт., 2009).

Согласно ARRIVE 2.0 (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020), необходимо указать точное количество экспериментальных животных для каждой группы и общее в каждом эксперименте (например, если моделирование проводилось на большем количестве животных). Также следует показать общее количество использованных животных. Для определения размера выборки наиболее важный момент — установить экспериментальную единицу (см. п. «Экспериментальная единица»).

Также необходимо предоставить обоснование, как был определен размер выборки, и подробную информацию о любых предварительных расчетах размера выборки, если таковые были (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020). Анализ мощности является наиболее распространенным способом определения размера выборки. Соответствующий размер выборки зависит от математического соотношения между следующими факторами:

- 1) размер эффекта, представляющий интерес;
- 2) стандартное отклонение (для количественных переменных);
- 3) выбранный уровень значимости;
- 4) выбранная мощность;
- 5) альтернативная гипотеза;
- б) размер выборки.

Исследователь обычно указывает первые 5 из этих пунктов, именно они определяют размер выборки. Также можно рассчитать мощность или размер эффекта, если размер выборки фиксирован (например, если ресурсы ограничены). Анализ мощности можно провести с помощью статистических программ, также существуют бесплатные онлайн калькуляторы мощности для оценки размеров выборки (Festing M.F., Altman D.G., 2002).

Если отсутствует информация о стандартном отклонении и/или сложно указать размер эффекта, можно воспользоваться альтернативным методом. Этот метод может быть ценным для некоторых пилотных экспериментов, когда проверка гипотез не является основной целью. Для количественных переменных, которые анализируются с использованием дисперсионного анализа, предполагается, что степени свободы⁶ должны быть приблизительно в диапазоне от 10 до 20. При значении степени

⁶ Степень свободы (Degree of Freedom, DF) в статистике — количество значений или наблюдений в выборке, используемых при расчете статистической характеристики, которые могут свободно изменяться.

свободы менее 10 DF можно ожидать надежных результатов от добавления большего количества экспериментальных единиц. Однако при более чем 20 DF добавление дополнительных единиц даст минимум дополнительной информации. Этот метод эмпирического правила, по-видимому, работает довольно хорошо для экспериментов на животных, хотя он, как правило, предполагает довольно большие размеры эффекта (Festing M.F., Altman D.G., 2002).

В этом методе значение E (количество животных) должно находиться в пределах от 10 до 20 для оптимального размера выборки. Если значение E меньше 10, то следует включить больше животных, а если оно больше 20, то размер выборки следует уменьшить. Существует формула, согласно которой $E = \text{общее количество животных} - \text{общее количество групп}$.

Предположим, что в исследовании на животных исследователь сформировал 4 группы животных по 8 животных в каждой для разных вмешательств, тогда общее количество животных составит 32 (4×8). Следовательно, $E = 32 - 4 = 28^7$. Это больше 20, поэтому количество животных в каждой группе должно быть уменьшено. Таким образом, если исследователь возьмет по 5 крыс в каждой группе, то будет: $E = 20 - 4 = 16$.

При E , равном 16, — это в пределах 10–20, по 5 крыс на группу в эксперименте с участием 4 групп можно считать достаточным размером выборки. Такой метод расчета считается грубым и его следует использовать только в том случае, если определение размера выборки не может быть выполнено методами анализа мощности, описанными для проверки гипотезы (Charan J., Biswas T., 2013).

В неблочном дизайне уравнение выглядит так: $E = N - T$, где E должно быть 10–20, то есть общее количество животных за вычетом количества воздействий должно быть от 10 до 20.

Сегодня в отечественных журналах, поддерживающих принципы ARRIVE, приводятся сведения о расчете размера выборки (Муразов Я.Г., Стуков А.Н. и соавт., 2021; Ильин Н.П., Галстян Д.С. и соавт., 2023; Борзых А.А., Селиванова Е.К. и соавт., 2024).

Экспериментальные животные

ARRIVE 2.0 рекомендует предоставлять данные об использованных животных, включая вид, линию (сток)/сублинию (субсток), пол, возраст или стадию развития и, если необходимо, массу тела. Приведенные показатели являются критическими факторами, которые могут повлиять на результаты эксперимента. Сведения о всех характеристиках использованных животных эквивалентны стандартизированным демографическим данным пациентов. Именно эти данные подтверждают как внутреннюю, так и внешнюю валидность результатов исследования, что позволяет другим исследователям воспроизвести эксперимент и обобщить результаты (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020). Учитывая имеющееся разнообразие лабораторных животных, предоставление исчерпывающей информации

⁷ Resource equation. URL: https://www.isogenic.info/html/resource_equation.html (дата обращения: 06.2025).

является критически важным для воспроизведения и интерпретации результатов научной работы.

Дополнительно ARRIVE 2.0 предлагает указывать данные о происхождении животных, здоровье/иммунном статусе, генетической модификации, генотипе и любых предыдущих процедурах (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Необходимость представления всех характеристик использованных животных продемонстрировала научный сотрудник лаборатории фармакологии и химиотерапии ФГБНУ «НИИНА» Василиса Антоновна Полозкова в докладе «**Выбор биомоделей для доклинических исследований на животных**» на примере сравнительного изучения сходств и различий физиологических и иных параметров, проведенного на беспородных крысах и крысах Вистар. В ходе обсуждения доклада был поднят вопрос о важности указания в отчетах и научных статьях не только массы тела лабораторных животных к началу исследования, но и возраста, а также питомника, из которого животные были получены. Такая информация будет способствовать надлежащей интерпретации полученных результатов.

Аспирант лаборатории трансляционной медицины ФФМ МНОИ МГУ им. М.В. Ломоносова Ксения Стевановна Милутинович в докладе «**Норма и патология у нокаутных мышей: проблема изменчивости симптомов в безмуциновой модели ВЗК**» также поделилась результатами исследования, в котором показано, что выраженность симптомов патологии у трансгенных мышей зависит от пола и возраста животного, также весомый вклад в вариабельность результатов вносят условия содержания. Такие данные еще раз демонстрируют важность представления всех характеристик лабораторных животных в отчете или научной статье.

В последние годы в отечественных журналах все больше внимания уделяется описанию лабораторных животных. Представленная исчерпывающая информация позволяет верно интерпретировать результаты исследования и повышает их воспроизводимость (Антонова Е.П., Морозов А.В. и соавт., 2023; Михайленко В.А., Буткевич И.П. и соавт., 2023; Ахмадиев П.А., Ласточкин А.А. и соавт., 2024; Поздняков Д.И., Вихорь А.А., 2024; Тур М.А. Белозерцева И.В., 2024).

Обоснование выбора релевантного вида лабораторного животного и характеристика их качества также могут быть представлены в данном разделе, а не в разделе, описывающем справочную информацию (см. п. «Справочная информация. Предпосылки»).

Условия содержания и уход за животными

Окружающая среда определяет качество и благополучие животных, при этом каждый ее аспект может потенциально влиять на их поведенческие и физиологические реакции, тем самым влияя на результаты исследований. В ARRIVE 2.0 приведены примеры условий содержания животных, которые влияют на их благополучие и результаты исследований (табл. 4). Необходимо предоставить подробную информацию об условиях содержания животных, включая любые меры по улучшению/обогащению окружающей среды (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Таблица 4

Примеры факторов, которые следует учитывать при сообщении о содержании и уходе за животными, и их влияние на лабораторных животных

| Информация в отчете | Примеры влияния на лабораторных животных |
|--|---|
| Система клетки/резервуара/жилья (тип и размеры) | Влияют на поведение. Цвет резервуара влияет на стресс у водных видов |
| Пища и вода (тип, состав, поставщик и доступ) | Влияют на массу тела, развитие опухоли, тяжесть нефропатии и порог развития симптомов паркинсонизма. Питание матери влияет на массу тела потомства |
| Подстилка и материал для гнездования | Влияют на поведенческие реакции на стресс и боль |
| Температура и влажность | Изменяют прогрессирование опухоли. Регулируют половую дифференциацию у рыбок данио |
| Санитария (частота смены воды в клетке/резервуаре, перенос материала, качество воды) | Влияет на артериальное давление, частоту сердечных сокращений, поведение. Добавляет дополнительный источник вариации |
| Социальная среда (размер и состав группы/плотность посадки) | Подрывает благополучие животных. Вызывает агрессивное поведение и стресс |
| Биобезопасность (уровень) | Микробиологический статус животных вызывает различия в параметрах системного заболевания |
| Освещение (тип, расписание и интенсивность) | Изменяет иммунную реакцию и реакцию на стресс |
| Обогащение окружающей среды | Снижает тревожность, стресс и ненормальное стереотипное поведение. Уменьшает предрасположенность к эпилепсии и остеоартриту. Улучшает у рыб пищевое поведение |
| Пол экспериментатора | Влияет на физиологический стресс и болевое поведение |

В отечественных научных статьях описание условий содержания и уход за лабораторными животными представлены достаточно полно (Жданов А.В., Комелькова М.В. и соавт., 2023; Виноградова Е.П., Симон Ю.А. и соавт., 2023; Билалова Д.Ф., Нигматуллина Р.Р. и соавт., 2023; Куликов А.Н., Береснева О.Н. и соавт., 2023).

Экспериментальные процедуры

Недостаточно полное описание экспериментального дизайна и процедур является одной из причин низкой трансляционности доклинических данных в клиническую практику, что делает невозможным воспроизведение данных и их правильную интерпретацию. Например, в области терапии рака исторические сведения, которые указывают на успешные результаты проведения доклинических исследований этого заболевания и как следствие на дальнейшую возможную безопасную и эффективную диагностику и терапию, остаются шокирующе низкими. Существенный фактор неудач — качество опубликованных доклинических данных и отсутствие подробной информации об используемых тест-системах, включая происхождение клеточных линий, о методологии эксперимента, что не позволяет однозначно интерпретировать полученные результаты (Freedman L.P., Inglese J., 2014).

Немаловажным фактором является описание используемых в исследовании реагентов/реактивов/наборов независимо от того, разработаны или нет стандарты их применения в медико-биологических исследованиях; в научной статье или отчете необходимо представлять подробное описание с указанием производителя, CAS-номера с серией и особенностей, если таковые имеются (Зеленцова А.С., Борисова А.Ю. и соавт., 2024; Ручко Е.С., Голубинская П.А. и соавт., 2025). Часто данная информация в статьях не приводится, что связано с ограничением ее объема.

Согласно ARRIVE 2.0 для каждой экспериментальной группы, включая контрольную, необходимо подробно описывать процедуры с целью воспроизводимости исследования. Рекомендовано предоставлять следующую информацию (см. ниже).

1. Дать описание того, что и как было сделано и использовалось.

Важная информация для описания включает процедуры, не только используемые для разработки модели (например, способ моделирования экспериментальной патологии), процедуры, используемые, но и для измерения результатов, а также проводимые до и после эксперимента, включая обращение с животными, мониторинг благополучия и эвтаназию. В руководстве ARRIVE 2.0 приведены примеры представления информации о процедурах и использованных ресурсах (табл. 5) (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Если возможно, следует указать идентификатор исследовательских ресурсов (RRID, Research Resource Identifier) для используемых реагентов и инструментов. RRID уникальны, и это позволяет однозначно идентифицировать реагенты или инструменты, используемые в исследовании, помогая другим исследователям воспроизвести методы (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020). Примеры таких описаний представлены в работах (Жданова Д.Ю., Ковалев В.И. и соавт., 2022; Филатова Т.С., Абрамочкин, Д.В., 2023; Калашников В.Е., Сергеева К.В. и соавт., 2024).

2. Указать, какие дни и с какой кратностью проводились процедуры/измерения.

Необходимо четко указать частоту и время проведения экспериментальных процедур и измерений. Важно отметить, если время проведения процедур или измерений у разных животных отличалось, эту информацию для наглядности можно предоставить в виде дополнительной таблицы по всем животным, используемым в исследовании (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

3. Сообщать, где проводились процедуры/измерения (включая подробную информацию о периодах акклиматизации).

Таблица 5

Примеры информации об определенных типах экспериментальных процедур и ресурсов, которую следует включать в публикацию/отчет

| Процедуры | Ресурсы |
|--|--|
| <p>Фармакологические процедуры (вмешательство и контроль):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Состав лекарственного средства • Доза • Объем • Концентрация • Путь и способ введения • Частота приема • Состав и объем носителя или раствора носителя • Любые доказательства того, что используемый фармакологический агент достигает ткани-мишени | <p>Клеточные линии:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Идентификация • Происхождение • Проверка и аутентификация • RRID* |
| <p>Хирургические процедуры (включая ложную операцию):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Описание хирургической процедуры • Используемый анестетик (включая дозу и другую информацию, указанную в разделе о фармакологических процедурах выше) • Режим анальгезии до и после операции • Асептические методы • Мониторинг (например, оценка хирургического анестезиологического плана) • Является ли процедура окончательной или нет • Послеоперационные процедуры • Продолжительность процедуры и наркоза • Измеренные физические параметры | <p>Реагенты (например, антитела, химические вещества):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Производитель • Поставщик • Каталожный номер • Номер лота (если применимо) • Чистота препарата (если применимо) • RRID |
| <p>Патогенная инфекция (вмешательство и контроль):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Инфекционный агент • Дозовая нагрузка • Состав и объем носителя или раствора носителя • Место и путь заражения • Время или частота заражения | <p>Оборудование и программное обеспечение:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Производитель • Поставщик • Номер модели/версии • Процедуры калибровки (если применимо) • RRID |

| Процедуры | Ресурсы |
|---|---------|
| <p>Эвтаназия:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Метод эвтаназии, включая гуманные стандарты, которым соответствует метод, такие как AVMA** • Фармакологический агент, если используется (включая дозу и информацию, перечисленную в разделе о фармакологических процедурах выше) • Любые меры, принятые для уменьшения боли и стресса до или во время эвтаназии • Время эвтаназии • Ткани, собранные после эвтаназии, и время сбора | |

Примечание.

* RRID, *Research Resource Identifier* (Идентификаторы исследовательских ресурсов).

DOI: [10.1371/journal.pbio.3000411.t001](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000411.t001).

** AVMA, *American Veterinary Medical Association*.

Необходимо указать, где проводились исследования (например, специальное лабораторное помещение или помещение для животных, клетка проживания, арена открытого поля, водный лабиринт) и были ли включены в протокол исследования периоды физиологической или процедурной акклиматизации, включая их тип и продолжительность (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

4. Представить научное обоснование необходимости проведения процедуры/измерения.

Существует множество подходов к оценке любого вопроса исследования, поэтому важно объяснить, почему была выбрана конкретная процедура или методика (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020). Такой подход улучшает понимание контекста исследования и способствует воспроизводимости экспериментов (Пруцкова Н.П., Селиверстова Е.В. и соавт., 2023; Антонова Е.П., Морозов А.В. и соавт., 2023).

Критерии включения и исключения

Впервые понятие «критерии включения и исключения» охарактеризовано в рекомендациях STAIR 2 (Stroke Therapy Academic Industry Roundtable, рекомендации Академического отраслевого круглого стола по терапии инсульта). Рекомендации, которые были опубликованы в 1999 г. и обновлены в 2009 г., направлены на улучшение качества доклинических исследований предполагаемых методов лечения острого инсульта (Fisher M., Feuerstein G. и соавт., 2009).

На конференции GLP-PLANET V, прошедшей в 2024 г., был представлен доклад «Критерии исключения при планировании эксперимента: кто, когда, какие, зачем и как?» (автор доклада — директор Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России Михаил Михайлович Галагудза), в ко-

тором рассматривалась адаптация критериев включения и исключения для доклинических исследований.

Когда критерии включения или исключения животных определены неоднозначно, может возникнуть так называемое смещение отбора. В экспериментах, где те или иные патологические состояния моделируются хирургическим путем, исключение животных является необходимым. По этическим причинам гуманные конечные точки должны быть определены априори, и животные, которые достигают гуманных конечных точек, могут быть исключены из последующего анализа. Однако также может быть оправдано исключение животных по научным причинам, если возникают осложнения, которые не связаны с экспериментальным воздействием. При этом, чтобы избежать смещения, все критерии включения и исключения животных должны быть не только определены заранее, но и специалист, принимающий решение о включении или исключении, не должен знать о воздействии, которое получала та или иная группа. Если эти критерии не указаны должным образом, существует риск возникновения смещения, связанный с неравномерным распределением исключенных животных среди экспериментальных групп (Bailoo J.D., Reichlin T.S. и соавт., 2014).

ARRIVE 2.0 рекомендует указывать все критерии включения или исключения животных (или экспериментальных единиц) в исследовании и точки сбора данных для анализа. Авторам важно уточнить, были ли эти критерии установлены априори. Если критерии не установлены, это также необходимо описать. Критерии включения и исключения определяют соответствие или несоответствие животных и данных после начала исследования. Для обеспечения научной достоверности критерии должны быть определены до начала эксперимента и сбора данных. Критерии включения не следует путать с характеристиками животных, хотя они могут быть и связаны с ними (например, масса тела должна находиться в определенном диапазоне для конкретной процедуры) или с другими параметрами исследования (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Для каждой экспериментальной группы необходимо указать всех животных, экспериментальные единицы или точки сбора данных, не включенные в анализ, и описать причины, если не было исключений, это также следует отметить. Необходимо указать точное значение n в каждой экспериментальной группе и каждом анализе (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Внушает оптимизм факт, что в последние годы представление информации о критериях включения/исключения стало более частым явлением в отечественных научных статьях (Болдырева Л.В., Морозова М.В. и соавт., 2023; Ильин Н.П., Галстян Д.С. и соавт., 2023; Деркач К.В., Зорина И.И. и соавт., 2024; Николаенко М.А., Гуляев М.В. и соавт., 2024; Сухов И.Б., Чистякова О.В. и соавт., 2024).

Рандомизация

Высокая внутренняя валидность может быть достигнута только путем минимизации систематического смещения, чтобы наблюдаемые различия можно было уверенно связать с изучаемым воздействием, например, с действием лекарственного средства. Наибольший вклад в повышение надежности исследования вносят рандомизация и ослепление. Качественно спланированное двойное слепое плацебо-контролируе-

мое рандомизированное исследование остается «золотым стандартом» для проверки гипотезы в клинических исследованиях. При правильном выполнении оно лишено предвзятости и сводит результирующие данные к одной из двух интерпретаций: случайность или отклонение нулевой гипотезы. В исследованиях на животных, несмотря на растущее понимание необходимости повышения строгости и воспроизводимости, часто отсутствуют процедуры рандомизации экспериментальных единиц или ослепления исследователей и специалистов, которые анализируют полученные данные (Percie du Sert N., Barmsey I. и соавт., 2017; Lewis A.J., Lee J.S. и соавт., 2018). Например, систематический анализ публикаций результатов экспериментов на животных, проведенных в финансируемых государством научно-исследовательских учреждениях Великобритании и США, показал, что на 2009 г. только в 13% публикаций сообщалось об использовании рандомизации и в 14% — ослепления (Kilkenny C., Parsons N. и соавт., 2009; Bailoo J.D., Reichlin T.S. и соавт., 2013).

Случайное распределение и ослепление имеют 2 преимущества: во-первых, они помогают выполнить ключевое предположение статистического анализа — разные группы отбираются из одной и той же фоновой популяции с использованием случайного выбора. Во-вторых, применение этих методов сводит к минимуму систематические различия между группами экспериментального воздействия во время проведения эксперимента, оценки результатов и анализа данных. Такие различия могут быть вызваны тем, что исследователи подсознательно влияют на распределение животных по группам, поведение животных или обработку данных (например, удаление выбросов) (Percie du Sert N., Barmsey I. и соавт., 2017).

Под рандомизацией понимают процесс случайного распределения экспериментальных единиц в группы, чтобы исключить всякую необъективность и связанное с ней вероятное смещение оценки. Применение рандомизации обеспечивает репрезентативность выборки, а также устранение вероятности систематической ошибки исследования. Воздействие распределяется так, чтобы каждая экспериментальная единица имела известную, часто равную вероятность получения этого воздействия. Рандомизация необходима, поскольку существуют источники вариации, известные или неизвестные, которые могут исказить результаты. Большинство статистических программ выдает случайные числа в указанном диапазоне, которые можно использовать при распределении экспериментальных единиц в группы. Существуют таблицы случайных чисел, разработанные для этой цели. Важно помнить, что различные группы должны подвергаться одинаковым манипуляциям на протяжении всего эксперимента. Например, измерения должны проводиться в одно и то же время. Кроме того, животные из разных групп должны содержаться в одинаковых условиях (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Процедура рандомизации в исследованиях с большим числом животных (более 50) затруднительна. Также определенные сложности представляет рандомизация крупных лабораторных животных, например, нечеловекообразных приматов. В работе А.И. Селезнева, М.Н. Макарова и соавт. (2014) описаны различные способы рандомизации, а также приведены достоинства и недостатки каждого. Для грамотного распределения в группы в условиях большого количества животных может быть использован метод модифицированной блочной рандомизации. Такой способ подразумевает распределение животных в ячейки блока рандомизации, из которых

случайным образом они отбираются в группы. Животные в этом случае не помещаются, а для распределения используют генератор случайных чисел. Для рандомизации крупных животных (малые размеры выборки) может быть использована стратифицированная рандомизация. Стратифицированная рандомизация использует тот же принцип, что и блочная, только страты, как правило, являются признаками животного, которые могут быть связаны с ответом (например, диапазон массы тела или размера опухоли). Однако это может привести к различиям в практической реализации стратифицированной рандомизации по сравнению с блочной (например, нет равного количества экспериментальных единиц в каждой весовой категории) (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Согласно ARRIVE 2.0, необходимо указать, использовалась ли рандомизация для распределения экспериментальных единиц в контрольные и экспериментальные группы. Если процедура проводилась, важно указать метод рандомизации (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Также требуется описать стратегию, используемую для минимизации потенциальных вмешивающихся факторов. Если такие факторы не контролировались, это следует указать. Обеспечить отсутствие различий между животными в разных группах, за исключением экспериментального воздействия, — важный принцип эксперимента. Выявление мешающих переменных (источников изменчивости или условий, которые могут потенциально повлиять на результаты) и управление ими при планировании и анализе повышает чувствительность эксперимента. Например, грызуны в клетках в верхней части стеллажа могут подвергаться воздействию более высокого уровня освещенности, что может вызвать стресс (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

В отечественных публикациях часто указывается, что была проведена рандомизация, однако метод рандомизации уточняется редко, чаще используется формулировка: «животные случайным образом были распределены на группы» (Трофимец Е.И., Боровкова К.Е. и соавт., 2021; Лапшина К.В., Ханина М.В. и соавт., 2023; Борзых А.А., Селиванова Е.К. и соавт., 2024; Деркач К.В., Зорина И.И. и соавт., 2024; Лебедева Д.А., Игонина Т.Н. и соавт., 2024).

Ослепление

В целом под ослеплением следует понимать метод проведения исследования, заключающийся в сокрытии информации от того или иного его участника, призванный исключить субъективное воздействие участников исследования на результат. Часто вместо термина «ослепление» используют термин «маскировка» (Karp N.A., Pearl E.J. и соавт., 2022; Макарова М.Н., Ковалева М.А. и соавт., 2024).

В экспериментах *in vivo* ослепление является важной составляющей для снижения риска осознанного или неосознанного влияния сотрудников на результат эксперимента. Отсутствие процедуры ослепления (маскировки) коррелирует с переоценкой изучаемых эффектов (Karp N. A., Pearl E.J. и соавт., 2022).

После рандомизированного распределения животных (или другой экспериментальной единицы) в группы животные и препарат должны быть закодированы до тех пор,

пока данные исследования не будут проанализированы. Например, когда какое-либо вещество вводится в диету, различные рационы могут быть закодированы, для этого им присваивается номер и/или указывается определенный цвет. При этом клетки могут быть закодированы аналогичным образом, чтобы гарантировать корректность помещения определенного типа корма животным на конечном этапе. Животных можно пронумеровать в случайном порядке, чтобы при посмертном исследовании не было указаний на определенную группу. Специалисты, проводящие гистологический анализ, часто не осведомлены о способе воздействия в той или иной группе, поскольку это может повлиять на интерпретацию результатов (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Нечастое упоминание ослепления (маскировки) в публикациях о результатах доклинических исследований не всегда связано с фактическим невыполнением данной процедуры, во многих случаях воздействие выполнялось тем или иным образом, но исследователи не упоминают об этом при описании методов (Макарова М.Н., Ковалева М.А. и соавт., 2024).

ARRIVE 2.0 рекомендует описывать, кто был осведомлен о распределении групп на разных этапах эксперимента (во время распределения, проведения эксперимента, оценки результатов и анализа данных). Исследователи часто ожидают определенного результата и могут непреднамеренно повлиять на эксперимент или интерпретировать данные, создавая поддержку предпочитаемой ими гипотезы. Ослепление (маскировка) — стратегия, используемая для минимизации этих субъективных предубеждений (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Ослепление может происходить на разных этапах эксперимента во время:

- распределения;
- проведения эксперимента;
- оценки результатов;
- анализа данных (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Описанное в ARRIVE 2.0 ослепление можно считать полным, его целесообразно использовать при поисковых и подтверждающих исследованиях на ранних этапах доклинической разработки лекарственного средства и в случаях, когда повторение эксперимента по каким-либо причинам затруднено (например, длительные исследования на нечеловекообразных приматах). Если невозможно провести полное ослепление, следует рассмотреть его возможность на отдельных этапах исследования (так называемое частичное ослепление) (Макарова М.Н., Ковалева М.А. и соавт., 2024).

Ни в одной из рукописей, поданных в журнал «Лабораторные животные для научных исследований» с 2018 г. по настоящее время, не было представлено сведений об использовании полного или частичного ослепления (маскировки). Сведений о том, что процедура ослепления не использовалась также не представлено. На наш взгляд, это не означает, что данная процедура не проводилась вовсе. Скорее всего в ряде экспериментов в той или иной мере персонал либо специалисты, анализирующие данные, не были осведомлены о принадлежности экспериментальных групп. Однако непредставление данной информации при подаче рукописи, вероятно, отражает существующее пока в научной среде недопонимание важности использования данной процедуры и информирования экспертов и/или читателей о ее проведении. Этот факт, разумеется, вызывает обеспокоенность, так как именно ослепление является одним из основных элементов, вносящих вклад в повышение надежности исследова-

ния. Важно, чтобы авторы еще до начала исследования имели четкое представление о стратегии маскировки и не только применяли запланированные методы, но и приводили информацию о них в отчете/рукописи.

В том случае, если ослепление не проводилось, об этом следует сообщить (Лапшина К.В., Ханина М.В. и соавт., 2023).

Критерии оценки

Основной результат — главный показатель, влияние на который оценивается в исследованиях по проверке гипотез, используется для расчета размера выборки и должен быть определен на этапе планирования исследования, однако на практике это не всегда так. Если изучаемое влияние на основной результат не оправдывает ожидания, но при этом воздействие на вторичный результат значимо, данные, полученные в отношении основного вывода, могут быть исключены из описания результатов при должном научном обосновании.

Важно отметить, что основной вывод не всегда определяется в публикациях. При анализе выбранных случайным образом 100 рефератов, представленных на конференции Общества интенсивной терапии 2008 г., и далее статей, опубликованных на основании этих данных в период до 2017 г., основной результат был определен в 26% рефератов и только 5% статей (Congradi U., Joffe A.R., 2017).

В ряде научных публикаций результаты представляются избирательно, причем акцент делается на самых интересных данных. Например, в рукописи, описывающей результаты клинических исследований, часто добавляют конечные точки, не определенные заранее, в то время как основные результаты, которые были ранее установлены, исключают из представления без какого-либо обоснования (Van Calster B., Wynants L. и соавт., 2021).

Существует такое явление, как HARKing (hypothesizing after the results), — выдвижение гипотез после определения результатов. На практике это означает, что такие части публикации, как введение и гипотеза, пишутся уже с учетом конечных результатов, которые могли и не быть четко определены заранее (Van Calster B., Wynants L. и соавт., 2021). По мнению зарубежных ученых, эта проблема может быть решена с введением формата зарегистрированных протоколов (см. п. «Регистрация протокола») и путем поддержки журналами формата публикации результатов исследований, одобренных «зарегистрированных протоколов». Такой формат позволяет авторам представлять протокол (план) исследования в журнал до проведения исследования. Принимая предложение, журнал обязуется опубликовать статью, если исследование будет проведено надлежащим образом, независимо от результатов, что важно в случае получения отрицательных данных. При таком сценарии изменение основного результата уже невозможно (Bradley S.H., DeVito N. J. и соавт., 2020).

ARRIVE 2.0 рекомендует четко определять все контролируемые показатели (например, гибель клеток, молекулярные маркеры или поведенческие изменения). Для исследований по проверке гипотез необходимо указать основной результат, то есть измерения результата, которые использовались для определения размера выборки (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Следует отметить, что определение первичной конечной точки (основного результата) в разделе «Материал и методы» присутствует в отечественных статьях по описанию экспериментов на животных редко (Антонова Е.П., Морозов А.В. и соавт., 2023; Гусакова Е.А., Городецкая И.В., 2024). Руководство ARRIVE 2.0 рекомендует конкретизировать, какой параметр на этапе планирования был определен как конечная точка (основной результат) и использован для расчета мощности, а какой параметр(ы) рассматривался как вторичная конечная точка (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Статистические методы

Важно понимать еще до начала эксперимента, как будут проанализированы полученные результаты. Специалисты в области статистической обработки данных выражают опасения о том, что исследователи обращаются к ним только после проведения эксперимента. Несмотря на то что экспериментальные вопросы имеют биологическую природу, и статистический анализ не должен полностью определять дизайн эксперимента, мнение, что математические приемы обработки данных исследования — это всего лишь технический последний элемент, совершенно неверно. Ни один эксперимент не следует начинать без четкого понимания того, как будут анализироваться его результаты (Fry D.J., 2014).

О важности участия специалиста в области статистики при планировании доклинического исследования рассказала доцент кафедры клинической фармакологии и доказательной медицины, заведующая отделом биомедицинской статистики ФГБОУ ВО ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России Елена Владимировна Вербицкая («[Статистический анализ данных доклинических исследований по репродуктивной токсичности](#)»). Статистический анализ можно разделить на следующие этапы:

1. Планирование эксперимента — определение дизайна исследования и расчет необходимого размера выборки для достижения нужной статистической мощности.
2. Сбор и проверка данных — организация первичных данных в структурированные форматы и контроль их качества перед анализом.
3. Статистическая обработка — применение соответствующих статистических методов для выявления значимых эффектов и зависимостей.
4. Интерпретация результатов — определение биологической значимости найденных статистических взаимосвязей и эффектов.

Согласно ARRIVE 2.0, необходимо предоставить подробную информацию о статистических методах, используемых для каждого анализа, включая информацию о программном обеспечении. Цель подробного описания методов анализа — не только информировать читателей и рецензентов о приемлемости выбранных способов, но и оценить достоверность результатов. Описание статистического анализа должно быть достаточно подробным, чтобы другой исследователь мог повторно проанализировать необработанные данные с использованием того же метода и получить те же результаты. Анализ данных с использованием различных методов и выборочное сообщение только о тех методах, которые дают статистически значимые результаты, представляют собой *p-hacking* (*p*-значимая подгонка данных) и вносят систематиче-

скую ошибку в источники литературы. Полный отчет обо всех выполненных анализах и соответствующее описание статистических методов включают:

- результат измерения;
- интересные независимые переменные;
- мешающие переменные, принимаемые во внимание в каждом статистическом тесте (например, ковариаты);
- описание проведенного статистического анализа, а также ссылки на используемые методы;
- способы обработки недостающих значений;
- поправку на множественные сравнения;
- используемый программный пакет и версию, в том числе компьютерный код, если таковой имеется (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Для анализа результатов экспериментальных медико-биологических исследований существует множество подходов, каждый из которых базируется на специфике изучаемых данных. Выбор методов статистической оценки представляет собой сложную задачу, обусловленную особенностями применяемых экспериментальных дизайнов. Основные трудности связаны с высокой биологической вариабельностью тест-систем, небольшими объемами выборок и значительным количеством исследуемых факторов. В биомедицинских исследованиях часто наблюдается нечеткое разграничение между поисковыми (гипотезообразующими) и подтверждающими исследованиями. Поисковые исследования характеризуются менее строгими требованиями к дизайну эксперимента, что позволяет оценивать большое количество параметров на небольших выборках. Однако такие исследования, как правило, не обладают достаточной мощностью для получения доказательств, и их результаты могут быть лишь предварительными. Тем не менее выводы поисковых исследований играют важную роль в формулировании гипотез для последующих подтверждающих экспериментов, для успешного проведения которых необходимо гармонизировать исследовательский дизайн с планируемым статистическим анализом. Это гарантирует согласованность между целями исследования и методами их достижения, повышая надежность и валидность полученных данных. Такая гармонизация обеспечивает соответствие исследовательского дизайна и статистических методов, что повышает надежность и достоверность результатов подтверждающих исследований.

В процессе планирования биомедицинских исследований может возникнуть идея оптимизировать количество экспериментов и провести заключительный анализ уже на первом этапе, основываясь на принципах этичного отношения к биомоделям. Предполагается, что использование большого количества экспериментальных единиц и тщательно подобранных тест-систем с минимальными вариациями параметров обеспечит получение статистически значимых результатов. Однако такой подход имеет несколько существенных недостатков. Во-первых, он значительно снижает трансляционный потенциал исследования, поскольку данные, полученные на ранних этапах, могут не отражать реальные условия применения в клинической практике. Во-вторых, существует риск упустить важные факторы, влияющие на результаты исследования. Например, некорректный отбор тест-систем может привести к объединению представителей различных популяций, что вызовет бимодальное распределение данных. Это в свою очередь сделает невозможным

применение первоначально запланированных статистических методов и потребует пересмотра исходных гипотез. Таким образом, несмотря на привлекательность идеи минимизации количества исследований, данный подход требует тщательной оценки его потенциальных ограничений и возможных последствий для достоверности и трансляционной значимости результатов.

ARRIVE 2.0 предлагает описать любые методы, использованные для оценки соответствия данных предположениям статистического подхода, и указать, что было сделано, если предположения не были выполнены (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

На основании анализа отечественных статей (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020) можно составить некоторое представление о том, насколько подробно представлены методы статистической обработки, и в какой степени это соответствует принципам, изложенным в ARRIVE 2.0.

Наиболее сложным является статистический анализ данных исследований репродуктивной токсичности. В докладе Елены Владимировны Вербицкой «**Статистический анализ данных доклинических исследований по репродуктивной токсичности**» показано, что нормативно-правовые документы, регулирующие данный тип исследований, не содержат конкретных требований по проведению статистического анализа. Во многом это связано с тем, что оценка репродуктивной токсичности включает группу исследований:

1. Фертильность и ранняя эмбриональная токсичность — оценка влияния на репродуктивную функцию до зачатия и в ранний период развития эмбриона.
2. Эмбриофетальная токсичность — изучение воздействия на развивающийся эмбрион и плод во время органогенеза.
3. Оценка пре- и постнатального развития — анализ эффектов на поздних стадиях беременности и после рождения потомства.
4. Оценка нескольких поколений — анализ эффектов, проявляющихся в нескольких поколениях животных.

Важно понимать, что именно тип исследования определяет, какие методы статистической обработки данных будут наиболее подходящими.

Например, в исследовании фертильности и ранней эмбриональной токсичности, когда лекарственный препарат вводят самке (рис. 3), а дальнейшей оценке подлежат помет (эмбрионы), объектом исследования является самка, факторами — воздействие (лекарственный препарат) и эмбрионы. Такой дизайн с точки зрения статистической обработки данных является простым.

Более сложным является анализ эффектов, когда препарат вводится самцам, которые оплодотворяют самок, а исследованию подлежат эмбрионы (рис. 4). Если объектом является самец, то в этом случае сценарий соответствует ранее описанному. Когда объект исследования — самка, то появляется фактор «самец», который нужно учитывать как случайный.

Описательная статистика в исследованиях репродуктивной токсичности может быть представлена следующим образом:

1. Для количественных данных (масса тела, биохимические показатели крови и т.д.) — среднее арифметическое, стандартное отклонение, коэффициент вариации, если распределение соответствует нормальному, или медиана и квартили/размах при не соответствующих нормальному распределению.

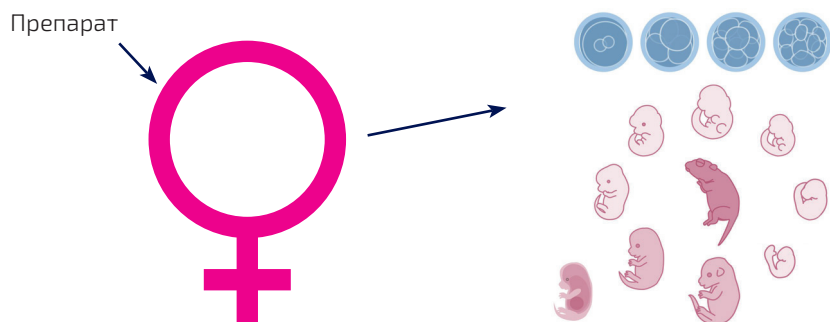


Рис. 3. Дизайн исследования фертильности и ранней эмбриональной токсичности, в котором воздействие получает самка

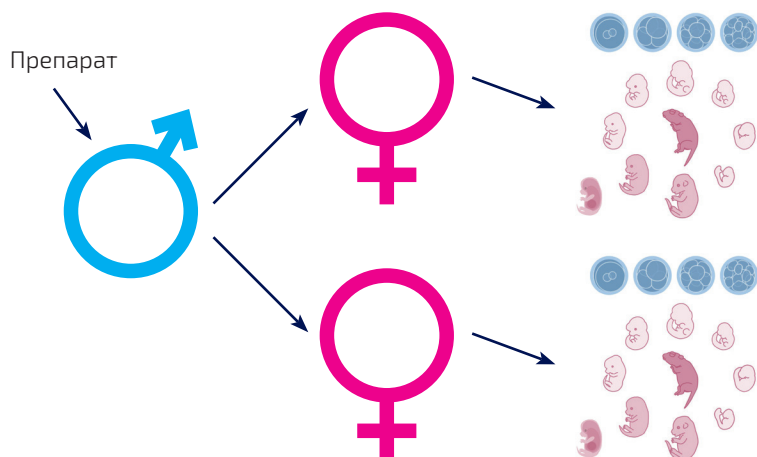


Рис. 4. Дизайн исследования фертильности и ранней эмбриональной токсичности, в котором воздействие получает самец

2. Для категориальных данных (число мальформаций, смертность) — абсолютные частоты, относительные частоты (проценты), доверительные интервалы для пропорций, таблицы сопряженности.

3. Для визуализации могут быть использованы диаграммы «ящик с усами», гистограммы распределений, графики временных рядов, точечные диаграммы.

Для статистической обработки количественных данных используются следующие методы, представленные в табл. 6. Методы статистической обработки, используемые для категориальных данных, указаны в табл. 7.

Важно отметить, что в отечественных журналах уже существуют примеры достаточного описания методов статистической обработки результатов исследований (Абашева Д.А., Калатанова А.В. и соавт., 2020; Плиско Г.А., Ногаева У.В. и соавт., 2021; Кузнецов С.В., Кузнецова Н.Н., 2024; Ярушкина Н.И., Зенько М.Ю. и соавт., 2024).

Таблица 6

Типичные статистические методы для количественных данных

| Метод | Описание | Комментарий |
|---------------------------|--|--|
| Параметрические тесты | Критерий Стьюдента (t) для двух групп, дисперсионный анализ (ANOVA, ANCOVA) для множественных сравнений | Если дизайн исследования предусматривает несколько групп, t-критерий Стьюдента не используется |
| Непараметрические аналоги | Критерии Манна—Уитни и Крускала—Уоллиса при отсутствии нормального распределения данных | Нельзя использовать при наличии вложенного фактора, и если дизайн исследования предполагает динамическое наблюдения показателя |
| Смешанные модели | Линейные смешанные модели с учетом случайных эффектов для иерархических данных. Обобщенные оценочные уравнения (GEE) | Используется при наличии вложенного фактора, а также если дизайн исследования предполагает динамическое наблюдение показателя |
| Регрессионный анализ | Модели доза—эффект для определения пороговых уровней воздействия вещества | — |

Таблица 7

Статистические подходы для категориальных данных

| Метод | Описание | Комментарий |
|----------------------|--|---|
| Частотный анализ | Критерий хи-квадрат для сравнения распределений категориальных переменных между группами, только если частоты во всех ячейках 5 и более. Точный критерий Фишера | Используется при сравнении двух и более групп |
| Регрессионные модели | Логистическая регрессия для бинарных исходов (например, наличие/отсутствие аномалии). Пуассоновская регрессия для анализа редких событий и счетных данных | Учитывает влияние факторов |
| Анализ выживаемости | Метод Каплана—Мейера для оценки времени до наступления определенного события. Лог-ранговый тест или критерий Вилкоксона для сравнения кривых выживаемости между группами | — |

Результаты

При публикации результатов исследователи обязаны представлять информацию точно и непредвзято. Отрицательные и положительные результаты должны быть опубликованы или иным образом доступны общественности. Однако на практике существуют отклонения от этих основных принципов. Результаты завершённых клинических испытаний часто не публикуются или не предоставляются общественности. Часто результаты, заранее определённые и выбранные по их клинической значимости, сообщаются избирательно в зависимости от характера и направления эффектов. Все это приводит к неправильному представлению и искажению итога исследований в биомедицинской литературе, так называемому «спину» (см. подраздел «Аннотация»). Концепция «спина» в публикациях разработана по аналогии с таковой «пиара». Впервые она изучена систематически в 2010 г. в выборке рандомизированных контролируемых испытаний со статистически незначимым первичным результатом, индексированным в PubMed. Показано, что более половины опубликованных выводов были искажены (Boutron I., Altman D.G. и соавт., 2014; Boutron I., Ravaud P., 2018).

Интерпретация результатов исследования и выводы часто могут быть преувеличены даже после рецензирования. «Спин» также проявляется в тенденции к использованию более позитивных слов в аннотациях и преувеличению значимости заявления при распространении результатов исследования в социальных сетях и средствах массовой информации. Это может привести к неверной интерпретации и распространению ложных убеждений (Van Calster B., Wynants L. и соавт., 2021).

Многие публикации содержат результаты, которые не являются полностью честными из-за «подгонки» данных или процедур статистического анализа, или даже фабрикации данных (например, *p*-хакинг) (Van Calster B., Wynants L. и соавт., 2021).

Ключевая информация необходимая для понимания того, как проводилось исследование и что было обнаружено, часто просто не упоминается в публикациях. Неполное представление результатов может привести к затруднению или невозможности интерпретации (Van Calster B., Wynants L. и соавт., 2021).

Степень «спина» может значительно различаться в публикациях, что создает ложное впечатление о количестве статей, в которых присутствует «спин». Кроме того, степень может различаться с точки зрения объема «спина» (различные стратегии «спина», используемые в разных разделах статьи), а также его типа (лингвистический «спин» может не иметь таких же последствий, как выборочное сообщение результатов с вводящими в заблуждение рекомендациями для клинической практики), по данным I. Boutron, D.G. Altman и соавт. (2014).

Выявление «спина» в научной публикации — сложная задача. Для этого используют стандартизированные инструменты сбора данных, специально разработанные для оценки «спина» и выявления неожиданных способов интерпретации результатов. Такая оценка имеет некоторую субъективность, поэтому при разногласии желательно проводить дополнительное исследование. «Спин» может включать в себя неверную информацию о методах с попыткой «приукрасить» их, например, представление исследования как рандомизированного, когда рандомизация не проводилась. Результаты могут быть поданы неполно или неадекватно с избирательной интерпретацией

и фокусом на статистически значимые показатели (вторичные результаты, внутригрупповое сравнение, анализы подгрупп и т.д.), или в них не в полной мере сообщаются данные по безопасности. Выводы могут не соответствовать фактическим результатам исследования. Наконец, риторика может быть использована для формирования позитивного мнения читателей. Определить, был ли «спин» добавлен сознательно, чтобы ввести в заблуждение, или же он стал результатом отсутствия методологических навыков у авторов, которые могут просто воспроизводить общепринятые методы отчетности, невозможно (Boutron I., Altman D.G. и соавт., 2014).

Можно было бы ожидать, что процесс рецензирования поможет выявить и удалить «спин» из научной статьи до ее публикации. Однако в одном из анализов показано, что, хотя рецензенты выявляли «спин» более чем в половине публикаций, только 67% его было полностью удалено. Кроме того, в 15% статей рецензенты запросили прибавить немного «спина», который был фактически внесен авторами в 9% статей. В целом рецензенты почти не оказали влияния на наличие «спина» в реферате (Boutron I., Altman D.G. и соавт., 2014).

Главным следствием «спина» является неправильная интерпретация результатов исследования экспертами и/или читателями. Этот вопрос проанализирован ранее в рандомизированном контролируемом исследовании в онкологии, в ходе которого оценена выборка из 30 рефератов рандомизированных контролируемых исследований со статистически незначимыми первичными результатами. Все аннотации были переписаны так, чтобы быть представленными без «спина», а заключения были стандартизированы. Все 300 участников исследования были рандомизированы в группы для чтения рефератов, представленных со «спином» или без. В соответствии с результатами участники с большей вероятностью считали лечение полезным, когда выводы исследования были представлены со «спином» (Boutron I., Altman D.G. и соавт., 2014).

Согласно ARRIVE 2.0, по каждому проведенному эксперименту, включая независимые повторы, отчет или рукопись должны включать методы описательной статистики для каждой экспериментальной группы с показателем вариабельности, где это применимо (например, среднее и стандартное отклонение или медиана и размах) и, если применимо, размер эффекта с доверительным интервалом (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

При текстовом представлении результатов, когда приводятся индивидуальные средние значения, необходимо представлять также их меру вариации. Избыточные десятичные знаки, часто создаваемые компьютером, необходимо удалить. Обычно достаточно указать средние значения до трех значащих цифр (например, 11,4 или 0,128). Проценты часто можно округлить до ближайшего целого числа. Если цель состоит в том, чтобы описать вариацию среди отдельных экспериментальных единиц, которые вносят вклад в среднее значение, то следует указать стандартное отклонение. Вместо использования знака «±» при представлении средних значений лучше использовать обозначение, например, «среднее 9,6 (SD 2,1)», поскольку это позволяет избежать любой путаницы между стандартным отклонением и стандартной ошибкой. Для того, чтобы показать точность среднего значения, необходимо использовать доверительный интервал (ДИ), например, 9,6 [95%ДИ: 7,2–12,0] (предпочтительно) или стандартную ошибку, например, 9,6 [SE 1,2] (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Фактические наблюдаемые значения p следует указывать, когда это возможно, а не использовать знаки больше ($>$) или меньше ($<$), хотя, если эти значения очень низкие, можно использовать знак меньше (например, $p < 0,001$). Важно подчеркнуть, что отсутствие статистической значимости не следует использовать для утверждения, что эффекта не существует. Незначимость может быть связана с недостаточным размером выборки или слишком изменчивым экспериментальным материалом (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

При сравнении двух средних величин следует указать размер разницы между ними вместе с доверительным интервалом. При проведении непараметрического анализа разумнее указать медианы и, например, 25 и 75%, указывающие межквартильный размах (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

В случае указания пропорций или процентов необходимо также показать стандартную ошибку или доверительный интервал. При сравнении пропорций следует указать доверительный интервал для разницы или отношения. Всегда должно быть обозначено количество наблюдений (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

В некоторых случаях целесообразно представлять данные в виде графиков, которые особенно ценны для иллюстрации данных, которые было бы трудно объяснить, используя текст или таблицы. Графики, показывающие отдельные точки, а не столбчатые диаграммы или графики с погрешностями, предпочтительнее, поскольку они дают гораздо более ясное представление о характере данных (Festing M.F., Altman D.G., 2005). Количество наблюдений должно быть указано в тексте или подписи к графику. Линии регрессии не следует показывать без точек данных; предпочтительно также, чтобы они были представлены с доверительным интервалом и/или интервалом прогнозирования.

Говоря о размере эффекта с доверительным интервалом, важно отметить, что в исследованиях по проверке гипотез с использованием статистических выводов исследователи часто путают статистическую значимость и малые значения p с биологической или клинической значимостью. Статистическая значимость обычно определяется количественно и оценивается по заранее заданному пороговому значению с $p < 0,05$, часто используемому в качестве условного. Однако статистическая достоверность сильно зависит от размера выборки и разброса данных. Исследователи должны учитывать размер наблюдаемого эффекта и выяснить, является ли этот размер эффекта биологически значимым изменением (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Когда необходимо сравнить только 2 группы, размер эффекта — разница средних значений (для количественных данных) или частотах (для качественных), которую исследователь хочет, чтобы в эксперименте можно было обнаружить. Например, исследователь может указать минимальную разницу в средней массе тела между контрольной группой крыс и группой, получающей препарат, которая будет рассматриваться как биологически значимая и которую, по мнению исследователя, эксперимент должен установить (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Часто бывает удобно использовать отношение размера эффекта к стандартному отклонению (то есть выразить размер эффекта в единицах стандартных отклонений). Получаемое значение D — это безразмерное число, которое можно сравнивать в разных экспериментах и/или с различными результатами. Например, если стан-

дартное отклонение размера помета в конкретной колонии мышей штамма Balb/c составляет 0,8 (со средним значением 5 детенышей), и необходимо провести эксперимент для обнаружения разницы в среднем размере помета между получающими препарат и контрольными группами, например, 1,0 детеныша, то $D=1,0/0,8=1,25$ единицы стандартного отклонения. Чем меньше размер эффекта, тем больший размер выборки необходим (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Стандартное отклонение, соответствующее запланированному эксперименту, должно быть указано (для количественных переменных). Для рандомизированного блочного или перекрестного дизайна соответствующая оценка обычно основывается на данных предыдущего эксперимента. Если предыдущее исследование не проводилось, можно использовать пилотное, хотя такая оценка не будет являться надежной, если пилотное исследование проведено на малом количестве животных (Festing M.F., Altman D.G., 2005).

Сегодня в отечественных научных публикациях описание результатов, как правило, представляется достаточно полно и сопровождается таблицами, удобными для восприятия (Габова А.В., Федосова Е.А. и соавт., 2024; Сивак К.В., Стосман К.И. и соавт., 2024; Сухов И.Б., Чистякова О.В. и соавт., 2024) или графиками.

Интерпретация или научные последствия

Как уже было описано ранее, существует проблема неправильного представления и искажения результатов исследований в научной литературе («спин») (Boutron I., Ravaud P., 2018; Boutron I., Altman D.G. и соавт., 2024).

I. Boutron предлагает ряд мер, которые помогут избежать этого. Во-первых, важно четко осознать, что спекуляция в публикациях является пагубной исследовательской практикой. Действительно, в настоящее время она, по-видимому, считается распространенной и приемлемой. Исследователи, несмотря на энтузиазм в отношении своего проекта, должны оставаться объективными при интерпретации результатов. Во-вторых, необходимо повысить понимание методологических принципов исследователями, рецензентами и редакторами, а также повысить их осведомленность о последствиях спекуляции. Для рецензентов и редакторов необходимо разработать и внедрить специальные руководства и обучение по выявлению спекуляции в публикациях, а для авторов — по избеганию. В-третьих, необходимо переосмыслить процесс отчетности. Отчетность и интерпретация результатов исследований достаточно сложный процесс, в котором необходимо учитывать множество факторов, в частности, надежность и применимость результатов; оценка эффекта лечения для первичных и вторичных результатов, данные о безопасности и т.д. Несмотря на эту сложность, отчетность и интерпретация результатов почти полностью и исключительно зависят от авторов, которые имеют свободу в выборе представления и трактовки данных. Авторы могут сознательно или бессознательно исказить полученные результаты. Предлагается новый процесс, включающий коллегиальное обсуждение. Процесс интерпретации данных будет касаться не только авторов, но станет результатом консенсуса между авторами, рецензентами и редакторами журналов. Все стороны при таком сценарии будут нести равную ответственность (Boutron I., 2020).

Отчасти руководство ARRIVE 2.0 воплощает эти инициативы. Так, авторам рекомендовано интерпретировать результаты, принимая во внимание цели и гипотезы исследования, современные представления и данные научной литературы (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020). Некоторые работы (Ярушкина Н.И., Зенько М.Ю. и соавт., 2024; Габова А.В., Федосова Е.А. и соавт., 2024) могут служить наглядным примером надлежащей интерпретации результатов исследований.

ARRIVE 2.0 также рекомендует обсудить ограничения исследования, включая потенциальные источники систематической ошибки, ограничения модели на животных и неточности, связанные с результатами. Обсуждение ограничений работы важно для того, чтобы рассматривать результаты в контексте, оценить их соответствие выводам. Целесообразно обсудить качество доказательств, представленных в исследовании, оценить, насколько экспериментальная модель *in vivo* соответствует конкретному вопросу исследования. Определение строгости дизайна исследования для выделения причины и следствия [также известного, как внутренняя валидность (Wieschowski S., Chin W.W. L. и соавт., 2018)] должно не только включать обсуждение, но еще установить, были ли учтены потенциальные риски систематической ошибки (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Возможность обобщения и трансляционность

Согласно ARRIVE 2.0, необходимо прокомментировать, могут ли и каким образом результаты этого исследования распространяться на другие виды или экспериментальные условия, включая какое-либо отношение к биологии человека (в случае, если это уместно) (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Воспроизводимость является краеугольным камнем научного метода, а низкая воспроизводимость угрожает авторитету всей области исследований на животных и снижает их трансляционную ценность (Bailoo J.D., Reichlin T.S. и соавт., 2014).

Среди исследований, изучающих поведенческие различия между различными инбредными и мутантными линиями мышей (поведенческое фенотипирование), текущие оценки доли невоспроизводимых результатов (ложных результатов) варьируют от 30 до 60%. Вероятно, подобные проблемы наблюдаются и в других областях исследований (Kafkafi N., Benjamini Y. и соавт., 2005). Предложены различные решения для снижения риска получения таких ложных результатов. Например, V.E. Johnson (2013) предложил снизить критическое значение показателя статистической значимости p с 0,05 до 0,005 или даже 0,001. Предполагая, что примерно половина гипотез, проверяемых учеными, верна, V.E. Johnson подсчитал, что от 17 до 25% слабозначимых научных результатов являются ложноположительными. Однако, чтобы избежать снижения доли ложноположительных и увеличения доли ложноотрицательных результатов, размеры выборки должны быть увеличены примерно на 50–100% для достижения аналогичной статистической мощности.

В одной из работ (Kafkafi N., Benjamini Y. и соавт., 2005) предложено повысить контрольный показатель для значимых результатов более конкретным способом. Согласно их подходу, лаборатории следует рассматривать как выборку, представля-

ющую популяцию всех потенциальных лабораторий. Используя данные нескольких мультилабораторных исследований, авторы показали, что этот метод может значительно снизить долю ложных результатов. Трудность такого подхода заключается в том, что такая специфичность будет достигнута только в том случае, если экспериментальные воздействия будут протестированы в нескольких лабораториях для получения точных оценок межлабораторной дисперсии. Таким образом, этот подход мало применим к экспериментам *in vivo* в целом, но может быть полезен при проведении стандартных доклинических испытаний эффективности и безопасности при разработке лекарственных препаратов.

Помимо таких истинных репликаций, есть несколько других способов, с помощью которых можно оценить воспроизводимость результатов. Например, другие авторы (Richter S.H., Garner J.P. и соавт., 2010) предложили использовать гетерогенизацию исследуемых популяций (вместо гомогенизации посредством стандартизации) путем систематического изменения нескольких выбранных факторов. В принципе любая характеристика животных (например, генотип, пол, возраст и т.д.) и их окружения (например, условия содержания, экспериментальный протокол) может быть использована для такой гетерогенизации.

Есть смысл предпринимать и более простые меры, как предлагает R. Paylor (2009), например, разделив эксперименты на несколько этапов, где небольшое количество животных исследуются с некоторым интервалом вместо того, чтобы использовать одну большую партию с привлечением нескольких экспериментаторов для работы и сбора данных, или распределяя сеансы тестирования по времени суток вместо изучения результатов исследования сразу всех животных в одно и то же время. Оценка влияния партии, экспериментатора или времени суток соответственно покажет, влияют ли такие незначительные изменения условий на результаты и, следовательно, укажет, может ли воспроизводимость при более крупных изменениях условий (например, между лабораториями) быть под угрозой.

Однако, несмотря на все предложения, недостаточная воспроизводимость результатов экспериментов *in vivo* во многих областях исследований и отсутствие воспроизводимости полученных в доклинических исследованиях результатов в клинических (то есть трансляционная неудача) остаются нерешенными проблемами. Например, более чем из 500 потенциальных нейропротекторных средств, которые были эффективны в моделях ишемического инсульта на животных, ни одно не оказалось эффективным по результатам клинических исследований (O'Collins V.E., Macleod M.R. и соавт., 2006; Bailoo J.D., Reichlin T.S. и соавт., 2014). Отчасти такой трансляционный промежуток (*translational gap*) объясняется сложным патогенезом моделируемого патологического состояния. Например, патогенез церебральной ишемии сложен и не до конца понятен, вовлеченность огромного количества физиологических и биохимических факторов осложняет моделирование патологии в доклинических условиях. Однако сформулированы несколько причин отсутствия трансляционности, которые в целом применимы не только для доклинических исследований инсульта (Dhir N., Medhi B. и соавт., 2020). Рассмотрим эти причины подробнее.

1. Выбор модели и критерии успешного результата. Для индукции ишемического инсульта используются различные модели как *in vivo* (окклюзия средней мозговой артерии, фототромбоз, эндотелин-1 и тромбоемболический инсульт)

и *in vitro* [депривация глюкозы (GD) и комбинированная депривация кислорода и глюкозы (OGD)]. Достаточно ли точно эти модели имитируют клиническую ситуацию? Сопоставим ли объем области ишемии во всех этих моделях? Критериев для оценки успешной индукции инсульта в этих моделях не существует. Критерии успешности и стандартизация этих моделей различаются в разных лабораториях.

2. Результаты измерения и функциональная оценка. Во всех экспериментальных исследованиях инсульта эффективность терапии определяется по размеру зоны ишемии и путем оценки функционального состояния ЦНС (например, водный лабиринт Морриса, тест по распознаванию новых объектов). Однако в клинических условиях неврологические функции оцениваются с использованием ранжирования или систем подсчета баллов, таких как шкала инсульта NIH и шкала Бартела.
3. Терапевтическое временное окно: в большинстве экспериментальных исследований агенты вводятся либо до индукции инсульта, либо сразу после инсульта. Это не соответствует клиническим испытаниям и не имитирует клиническую ситуацию, когда требуется длительное время для клинической диагностики пациента и получения МРТ-сканов. Эффективность экспериментальных агентов при введении более чем через 6 ч после инсульта сомнительна.
4. Режимы дозирования лекарственных препаратов: в экспериментальных исследованиях препараты вводятся в низких дозах и в течение короткого времени, чтобы избежать токсичности. Однако в клинических условиях препараты вводятся весьма вариабельным образом, от однократной внутривенной инъекции/инфузии до многократного перорального приема, который может длиться месяцами.
5. Возраст и преморбидные состояния. Еще одним несоответствием между экспериментальной и клинической ситуацией является наличие преморбидных состояний, таких как атеросклероз, гипертония, сахарный диабет и гиперлипидемия. Эти факторы зачастую игнорируются при проведении доклинических исследований. В эксперименте исследователи обычно используют здоровых молодых животных.

В одном из исследований убедительно продемонстрирована крайне низкая степень воспроизводимости доклинических исследований. Идентификация мутаций белка SOD1 как возможной причины семейного бокового амиотрофического склероза привела к созданию трансгенных моделей на грызунах. Мыши, несущие 23 копии человеческого трансгена SOD1 (G93A), считаются стандартной моделью для исследований методов терапии этого заболевания. Опубликовано не менее 50 работ, описывающих терапевтические агенты, которые продлевают жизнь модельных мышей. Однако ни один терапевтический агент, кроме рилузола, не показал соответствующей клинической эффективности. На основании компьютерного моделирования и статистического анализа данных 5429 мышей SOD1 (G93A) из проведенных исследований эффективности было определено влияние нескольких критических сопутствующих биологических переменных, которые необходимо учитывать и контролировать при разработке и интерпретации результатов исследований эффективности. На этом основании разработали оптимальный дизайн исследования на модели мы-

шей SOD1 (G93A). Далее повторно протестировали несколько соединений, о которых сообщалось в крупных исследованиях на животных (миноциклин, креатин, целексиксид, фенилбутират натрия, цефтриаксон, WHI-P131, талидомид и рилузол), используя этот оптимальный дизайн исследования. В результате не обнаружили увеличения продолжительности жизни мышей SOD1 (G93A) при применении всех изученных соединений (включая рилузол), вводимых в соответствии с путями и дозами, о которых сообщалось в публикациях. Вероятно, большинство опубликованных результатов скорее всего являются измерениями «шума», а не фактическим эффектом препарата (Scott S., Kranz J.E. и соавт., 2008).

подавляющее большинство крупномасштабных клинических испытаний III фазы не являются успешными, включая испытания генотерапевтических препаратов. Вероятной причиной таких исходов является отсутствие «надежности» (robustness) доклинических исследований, на основании которых проводятся клинические исследования I/II и III фаз. Надежность определяется как стабильность/воспроизводимость. Зачастую доклинические эксперименты проводятся при очень узком наборе экспериментальных условий. Таким образом, когда используемые подходы наконец-то проверяются в клинических условиях в контексте реального заболевания, такие факторы как различный возраст пациентов, неоднородный генетический состав человеческих популяций и сложность заболеваний, препятствуют трансляционности, так как эти аспекты никогда не проверялись и не моделировались в доклинических условиях. Внедрение пересмотренных подходов к доклиническим исследованиям, включая использование последних разработок в статистических, научных, математических и биологических моделях, должно привести к более достоверным доклиническим экспериментам с их последующим переводом на более надежные клинические испытания III фазы. Основным ограничением фундаментальной науки, которая составляет основу будущих клинических испытаний, является отсутствие всестороннего понимания того, какие изучаемые переменные на самом деле значимы и предсказывают эффективность новых методов лечения у пациентов (Lowenstein P. R., Castro M.G., 2009).

Регистрация протокола

Существует много инициатив, направленных на улучшение качества исследований и публикаций. Среди них поддержка журналами формата публикации «зарегистрированных отчетов». Зарегистрированные публикации позволяют авторам представлять протокол (план) исследования в журнал до проведения исследования. Принимая предложение, журнал обязуется опубликовать статью, если исследование будет проведено надлежащим образом и независимо от результатов. Этот подход может помочь ограничить влияние предвзятости. Зарегистрированные протоколы также ограничивают как возможности авторов проводить (или рецензентов запрашивать) HARKing или *p*-hacking, так и стимул делать это. Исследования с недостаточной мощностью, сомнительные методологические или статистические решения могут быть выявлены и рассмотрены в ходе рецензирования до проведения исследования. Авторы не ограничены в проведении дополнительных анализов, но за-

регистрированные протоколы помогают прояснить, что дополнительные анализы являются обоснованными. Статьи с негативными результатами чаще публикуются, если протокол был зарегистрирован, и эти протоколы цитируются так же часто, как и обычные статьи (Bradley S.H., DeVito N.J. и соавт., 2020).

Для достижения воспроизводимости результатов исследований и оценки правдоподобности выводов важно, чтобы документация, включая план анализа, была доступна. Предоставление доступа ко всем результатам исследований — единственный способ решения проблемы предвзятости публикаций. Необходимо, чтобы исследования, которые финансируются за счет государственного бюджета и на их основе могут приниматься важные решения в области здравоохранения, были открыты для просмотра всем желающим. Для всех финансируемых государством исследований полная документация, включая протоколы, планы статистического анализа, код статистического анализа, не обработанные или надлежащим образом обезличенные сводные данные и результаты, должны быть в открытом доступе — реестре Всемирной организации здравоохранения. Теоретически FDA (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, США) уже требует соблюдать эти правила при клинических испытаниях (Bradley S.H., DeVito N.J. и соавт., 2020).

Подход с регистрацией протоколов исследования ценен еще и тем, что финансирующая организация получает почти гарантированную публикацию (<https://www.cos.io/initiatives/registered-reports>). Это побуждает исследователей включать специалистов по дизайнам исследований и статистиков в свои проекты с самого начала. Формат идеально подходит и для исследований по воспроизведению ранее полученных результатов, где дизайн разработки во многом определяется исходным экспериментом (Van Calster B., Wynants L. и соавт., 2021).

Интересна инициатива «Воспроизводимость: биология рака» (Reproducibility Project: Cancer Biology, RP:CB), которая является совместным проектом Центра открытой науки (Center for Open Science) и проекта Научного обмена (Science Exchange), нацеленная на решение проблемы воспроизводимости в научных исследованиях путем повторений получивших научный резонанс экспериментов в области биологии рака. Было запланировано воспроизвести результаты экспериментов, представленных в 29 статьях, опубликованных в период с 2010 по 2012 г. в высокорейтинговых журналах. Протоколы повторных исследований, подробно описывающие экспериментальные процедуры, были заранее сформированы и опубликованы, прошли рецензирование. Повторные эксперименты были завершены, получены результаты воспроизведения экспериментов 18 статей, из которых 17 были приняты и опубликованы, а отклоненная статья была опубликована как препринт. Из оставшихся 11 проектов, по 4 была инициирована экспериментальная работа, но остановлена. В 2 проектах получены неполные результаты из-за непредвиденных проблем при проведении экспериментов. В оставшихся 5 завершены только некоторые эксперименты, а другие исследования остались незавершенными из-за технических или непредвиденных методологических проблем. Эксперименты по этим проектам наряду с другими, предпринятыми в рамках инициативы «Воспроизводимость: биология рака», наглядно демонстрируют сложность воспроизводимости (повторения) доклинических экспериментов. Хотя не все предпринятые повторные эксперименты были завершены и, таким образом, не могут предоставить

результаты для сравнения с исходными опубликованными результатами, все равно они представляют полезную информацию: например, предотвращают ненужное дублирование, позволяя другим исследователям планировать дальнейшие эксперименты, основываясь на этих попытках. Формат публикации Registered Reports является одним из способов публикации и отчетности (например, препринтов), позволяющих исследователям распространять результаты своих работ независимо от того, были они успешными или окончились неудачно. Как резюмируют авторы: «...многому можно научиться, открыто делаясь не только тем, что мы нашли, но и тем, что мы пробовали на этом пути...» (Errington T.M., Denis A. и соавт., 2021).

Согласно ARRIVE 2.0, необходимо указать, был ли этот протокол (включая цель исследования, ключевые особенности дизайна и план статистического анализа) подготовлен до исследования, а также зарегистрирован и где. Протоколы могут регистрироваться с разной степенью полноты. Например, в формате, предлагаемом все большим числом журналов, протоколы проходят рецензирование, и в случае принятия журнал обязуется опубликовать завершённое исследование независимо от полученных результатов (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Другие онлайн-ресурсы включают Open Science Framework (Nosek B.A., Ebersole C.R. и соавт., 2018), который подходит для депонирования протоколов RHISPS (популяция, гипотеза, вмешательство, план статистического анализа, первичная мера результата, расчет размера выборки) и предоставляет исследователям возможности предварительной регистрации. Можно не делать протоколы достоянием общественности до тех пор, пока исследование не будет опубликовано, и выборочно делиться ими с рецензентами и редакторами. EDA также может использоваться для создания PDF-файла с отметкой времени, в котором излагаются ключевые элементы экспериментального плана (Percie du Sert N., Bamsey I. и соавт., 2020). Это может быть использовано для демонстрации того, что проведение исследования, анализ и отчетность не были необоснованно пополнены новыми данными. Как минимум, рекомендуется регистрировать протоколы, содержащие все компоненты RHISPS, как указано выше (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Практика регистрации протоколов доклинических исследований *in vivo* в России не является распространенной, не существует национального ресурса, позволяющего это сделать. Заведующий лабораторией фармакологии поведения отдела психофармакологии Института фармакологии им. А.В. Вальдмана ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России Илья Михайлович Суханов в докладе «(Пред)регистрация доклинических исследований. Камо грядеши» поделился опытом предрегистрации протоколов исследований и рассказал об имеющихся международных реестрах доклинических исследований, охарактеризовав их преимущества и недостатки (табл. 8).

Предрегистрация протокола исследования позволяет минимизировать, а, возможно, и исключить дублирование экспериментов и повысить воспроизводимость результатов исследований. В ходе обсуждения доклада главный редактор журнала «Лабораторные животные для научных исследований» сообщил о готовности отработать механизм предрегистрации протокола исследования с привлечением к рецензированию не только членов редакционной коллегии, но и внешних специалистов по теме исследования.

Характеристика реестров доклинических исследований

| Наименование реестра, сайт | Преимущества |
|--|---|
| Open science frame work registry, США https://osf.io | <p>Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> • легкость регистрации (поддерживает регистрацию через ORCID); • простота интерфейса и простота заполнения форм; • возможность размещать массивы данных, относящиеся к проекту; • возможность размещать информацию на русском. <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • неспециализированный сайт; • отсутствие внешней проверки дизайна исследования; • отсутствие возможности запретить общий доступ на период эмбарго; • нет номера протокола в реестре |
| Preclinicaltrials, Нидерланды https://preclinicaltrials.eu | <p>Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> • специализированный сайт; • простота интерфейса, наличие подсказок; • процедура внешней экспертизы протокола исследования (ПИ); • наличие регистрационного номера ПИ; • возможность наложить эмбарго на общественный доступ (от 1 года). <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • реестр доступен только на английском языке; • нет возможности размещать массивы данных, относящиеся к проекту |
| Animalstudyregistry, Германия https://animalstudyregistry.org | <p>Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> • специализированный сайт; • простота интерфейса, наличие подсказок; • наличие DOI для ПИ; • возможность наложить эмбарго на общественный доступ (до 5 лет). <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • реестр доступен только на английском языке; • нет возможности размещать массивы данных, относящиеся к проекту; • отсутствие внешней проверки дизайна исследования |

В своем докладе «[Научные исследования и идеалы научных журналов. Есть ли компромисс?](#)» заместитель директора Института экспериментальной медицины по научной работе ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России Яна Геннадьевна Торопова также охарактеризовала предрегистрацию протокола исследования как ценный инструмент повышения воспроизводимости исследований. Сегодня научные журналы по всему миру отдают предпочтение инновационной статье с новыми выводами, а не исследованиям, цель которых — попытка воспроизвести или подтвердить данные. В приоритете рукописи, описывающие положительные результаты с доказательством в поддержку гипотезы, отрицательные данные практически не публикуются. Предрегистрация плана исследования может внести существенный вклад и позволит повысить научную коммуникацию через опубликование методологически безупречных исследований, в том числе с отрицательными результатами.

Генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» Игорь Евгеньевич Шохин в докладе «[Философия GLP-исследований: от плана до публикации](#)» отметил, что еще одним публикационным ограничением может являться коммерческая тайна. Однако фармацевтические компании должны быть заинтересованы в обнародовании результатов, проведенных доклинических и клинических исследований, поскольку такие научные публикации не являются раскрытием коммерческой тайны, а позволяют врачебному и научному сообществу оценить эффективность и безопасность лекарственного препарата. В научно-производственном рецензируемом журнале «[Разработка и регистрация лекарственных средств](#)» представлен ряд публикаций в отношении первых дженериков семаглутида и агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида.

Доступ к данным

ARRIVE 2.0 рекомендует сообщать информацию о том, доступны ли данные исследования, и где они размещены. По возможности следует делать доступными все данные, которые используются в сводных оценках, представленных в статье. Данные должны соответствовать руководящим принципам FAIR (Wilkinson M.D., Dumontier M. и соавт., 2016), то есть доступны для поиска (не используют устаревшие типы файлов), совместимы, могут размещаться на нескольких платформах и с несколькими пакетами программного обеспечения и могут использоваться повторно (то есть имеют адекватные дескрипторы данных). Данные могут быть общедоступны через структурированный, специализированный (зависящий от предметной области) репозиторий с открытым доступом, например, поддерживаемый Национальным центром биотехнологической информации (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) или Европейским институтом биоинформатики (EBI, <https://www.ebi.ac.uk/>). Если такой репозиторий недоступен, данные могут храниться в неструктурированных, но общедоступных репозиториях [например, Figshare (<https://figshare.com/>), Dryad (<https://datadryad.org/>), Zenodo (<https://zenodo.org/>) или Open Science Framework (<https://osf.io/>)]. Существуют также поисковые платформы для определения соответствующих репозиторий со строгими стандартами, например, FairSharing (<https://fairsharing.org/>) и re3data (<https://www.re3data.org/>) (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

На настоящий момент биомедицинские исследования характеризуются колоссальным ростом данных, но накопление огромных объемов информации само по себе не гарантирует ее эффективное использование для построения новых гипотез. Это особенно актуально для исследований с применением животных, где первостепенное значение имеют проблемы воспроизводимости результатов и обеспечения благополучия животных. В некоторых зарубежных странах требуется обмен данными, полученными в ходе исследований на животных, и ведется работа по обеспечению возможности повторного использования подобной информации *in vivo* с целью создания виртуальных контрольных групп. Несмотря на различные инициативы и руководства, обмен данными и их повторное использование в области биомедицинских исследований остается скорее исключением, чем правилом. Причины этого могут включать специфичность подходов к той или иной области, технические барьеры, нежелание обмениваться данными, неосведомленность о потенциальных преимуществах и отсутствие стимулов для обмена сведениями и их повторного использования, одним из важнейших элементов для такого обмена является предоставление метаданных⁸, которые описывают первичную (не подвергшуюся статистическому анализу) информацию. Метаданные необходимы для создания репозитория первичных данных. Европейские ученые разработали минимальный набор метаданных для обеспечения повторного применения *in vivo*. Кроме того, и привели примеры использования этих данных в исследованиях. Все эти инициативы, как предполагается, должны побудить исследователей к обмену данными, с тем чтобы оптимизировать экспериментальный процесс и способствовать реализации принципов 3Rs (Moresis A., Restivo L. и соавт., 2024).

Учитывая отсутствие общедоступных отечественных ресурсов для хранения данных доклинических исследований, в доклиническом центре должен быть налажен процесс четкой регистрации всей информации, не допускающий ее искажения, а также обеспечено надежное хранение/архивирование первичных данных, с тем, чтобы при необходимости (например, дополнительная статистическая обработка, метаанализ, представление данных рецензенту) эти сведения были доступны.

Декларация конфликта интересов

Согласно рекомендациям ARRIVE 2.0, необходимо заявить о любых потенциальных конфликтах интересов, в том числе финансовых и нефинансовых, если таковых не существует, это следует указать. Необходимо перечислить все источники финансирования (включая идентификатор гранта) и роль спонсоров в разработке, анализе и отчетности по исследованию (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Сегодня в отечественных научных журналах представлены разделы «Сведения о конфликте интересов», «Потенциальный конфликт интересов», «Финансирование

⁸ Метаданные — это информация, которая содержит описательные и административные сведения. Примерами служат владелец проекта, название и постоянные идентификаторы, а также структурная информация о том, как был создан набор данных.

исследования и конфликт интересов», «Финансирование исследования» или схожие, в которых авторы обязаны раскрыть информацию.

Заявление, связанное с конфликтом интересов или его отсутствием, правомочно и в итоговых отчетах о научно-исследовательской работе. Такие заявления могут быть оформлены в виде приложений к отчету.

Уход за животными и наблюдение

ARRIVE 2.0 рекомендует описать все меры, принятые для уменьшения боли, страданий и дистресса животных в эксперименте. Применение безопасных и эффективных методов анальгезии имеет решающее значение для облегчения боли, страданий и дистресса. Без терапии боль может повлиять на биологию животных и увеличить вариативность эксперимента, в то же время определенные методы обезболивания также могут вносить изменения, влияя на экспериментальные данные. Если анальгетики или другие меры по улучшению благополучия животных, разумно ожидаемые для той или иной процедуры, не применяются по требованиям эксперимента, необходимо это научно обосновать (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

При использовании лекарственных препаратов, применяемых для обеспечения благополучия животных в исследовании, требуется привести научное обоснование его выбора, дозы и режим дозирования (Getty C.M., Dilger R.N., 2015).

Также необходимо описать все ожидаемые или неожиданные нежелательные явления. Сообщение о неблагоприятных событиях позволяет другим исследователям планировать соответствующие оценки благополучия и минимизировать риск возникновения этих событий в их собственных исследованиях. Необходимо фиксировать любые нежелательные явления, которые оказали негативное влияние на благополучие животных в исследовании (например, угнетение сердечно-сосудистой системы и дыхания, нарушение центральной нервной системы, переохлаждение, снижение потребления пищи и пр.). Следует указать, были ли они ожидаемыми или неожиданными. Если нежелательные явления не наблюдались или не регистрировались во время исследования, это также нужно указать (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Работа S. Bellanger (Bellanger S., Benrezzak O. и соавт., 2015) является удачным примером научного обоснования изменения протокола исследования при воспроизведении экспериментальной модели, которое было выполнено для обеспечения благополучия животных.

ARRIVE 2.0 рекомендует описать гуманные конечные точки, установленные для исследования, признаки, которые оценивали, и частоту их мониторинга. Если в исследовании не были установлены гуманные конечные точки, необходимо это указать. Гуманные конечные точки — это заранее определенные морфологические, физиологические и/или поведенческие признаки, которые определяют обстоятельства, при которых животное будет исключено из эксперимента (Percie du Sert N., Hurst V. и соавт., 2020).

Хотя экспериментаторы хорошо знают, что дискомфорт и дистресс могут повлиять на их собственную физиологию, они могут не задумываться о подобных

эффектах у экспериментальных животных. Необходимо помнить, что качество, надежность и воспроизводимость результатов могут зависеть от того, насколько нарушено благополучие животных. Использование возможностей для уменьшения травматичности экспериментальных процедур или альтернативных методов, менее инвазивных процедур — один аспект, а другой — установление гуманных конечных точек, при достижении которых животные будут выведены из эксперимента, чтобы избежать ненужных страданий. Их можно рассматривать как три типа: предел тяжести, при котором страдания, испытываемые животным, больше, чем того заслуживает эксперимент, конечная точка, достигаемая целью, после которой любые страдания не нужны, поскольку цель уже достигнута, и недостижимая конечная точка, при которой признается, что цель не может быть достигнута, так что дальнейшее подвергание животного потенциальным страданиям не нужно. Стоит обратить внимание на потенциальную потерю данных, которая может возникнуть в результате применения конечных точек предела тяжести, и на то, что некоторые дизайны будут более чувствительны к этому, чем другие (Fry D.J., 2014).

Этические вопросы особенно значимы в доклинических исследованиях биологии рака. Эксперименты на животных остаются необходимыми для понимания фундаментальных механизмов, лежащих в основе канцерогенеза, и для поиска методов профилактики, диагностики и лечения рака. В «Руководстве по обеспечению благополучия экспериментальных животных в исследованиях рака» (Workman P., Aboagye E.O. и соавт., 2010) закреплены подходы, которых следует придерживаться при планировании экспериментов. В целом данные подходы применимы и к другим областям исследований, в которых моделирование патологии или изучение токсических эффектов представляет угрожающий благополучию животного процесс.

Рекомендуются пилотные исследования роста опухоли с использованием небольшого количества животных (5–10 голов) для установления того, что закономерности локального и метастатического роста воспроизводимы. Они также выявляют любые неблагоприятные эффекты, связанные с прогрессированием опухоли, и позволяют установить гуманные конечные точки. Использование соответствующего положительного контроля может быть ценным на этом этапе для обеспечения ожидаемого роста или реакции опухоли. При имплантации опухолей необходимо использовать соответствующие анестетики, а также настоятельно рекомендовать постимплантационную анальгезию. Следует проконсультироваться с ветеринарами, чтобы убедиться, что выбранные агенты соответствуют современной передовой практике. Выбор соответствующих гуманных конечных точек должен быть обоснован применительно к научному результату. Ранние конечные точки снижают неспецифические системные эффекты и, таким образом, могут повысить точность полученных результатов. Конечные точки для конкретных моделей также должны учитывать известный патогенез конкретной рассматриваемой модели опухоли и должны регулярно пересматриваться в свете опыта. Например, исследования опухолеобразования могут быть прекращены, как только станет очевидным прогрессирующий рост опухоли. Напротив, папилломы кожи, вызванные канцерогенами, например, подвергаются злокачественной трансформации на поздних стадиях своего развития и могут потребовать более поздних конечных точек. Необходимо приложить все усилия для выявления факторов, позволяющих принимать научные

решения на как можно более ранней стадии, принимая во внимание общую нагрузку процедур на благополучие животных. Намеренно добиваться смертельного исхода и использовать его в качестве конечной точки неприемлемо, нельзя допустить, чтобы животные доживали до состояния агонии. Опухолевая нагрузка всегда должна быть ограничена минимумом, необходимым для обоснованного научного результата. Например, исследования эффективности должны быть прекращены, как только будут продемонстрированы стойкие, статистически значимые терапевтические эффекты. Терапевтические исследования должны быть разработаны так, чтобы контрольные опухоли не становились чрезмерно большими. Во всех случаях общее состояние здоровья и состояние животного остаются определяющими факторами. Неблагоприятные эффекты для животного будут зависеть от биологии, места, способа роста опухоли и любых дополнительных процедур или методов лечения. Несмотря на оговорки, оценка размера опухоли и нагрузки является важным фактором при определении конечных точек (Workman P., Aboagye E.O. и соавт., 2010).

В отечественных научных статьях авторы описывают меры, предпринятые для снижения боли и дистресса в исследовании *in vivo* (Базовкина Д.В., Устинова У.С. и соавт., 2023; Жилиев С.Ю., Платонова Т. Ф. и соавт., 2023).

Интеграция принципов ARRIVE в систему менеджмента качества. Оценка удовлетворенности спонсора исследования

Одной из основных задач эффективной системы менеджмента качества испытательного центра является документальное сопровождение всех основных этапов выполнения доклинического исследования с гарантией полноты и сохранности научной составляющей. Учитывая, что ARRIVE 2.0 применимо к любой области исследований *in vivo*, представляется возможным в рамках системы менеджмента качества объединить требования нормативных и нормативно-правовых документов, соблюдение принципов надлежащей лабораторной практики и рекомендаций ARRIVE 2.0 для создания документов, регламентирующих выполнение работ, а также для разработки конкретных заполняемых форм. Доклад руководителя службы качества АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Светланы Владимировны Ходько «Документальное сопровождение доклинического исследования *in vivo* в соответствии с принципами GLP» был посвящен вопросам документального сопровождения доклинических исследований в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики для обеспечения соответствия действующим нормативным документам Евразийской экономической комиссии. При этом как в докладе, так и в одноименной статье (Ходько С.В., Макарова М.Н. и соавт., 2025) показано, насколько необходимо соблюдать принципы ARRIVE 2.0, документируя все важные этапы доклинического исследования, от которых может зависеть целостность данных и качество проведенного исследования.

Интеграция принципов ARRIVE в систему менеджмента качества повышает надежность проводимых доклинических исследований *in vivo* и может стать значительным конкурентным преимуществом компании, что в итоге повысит удовлетворенность спонсора исследования. Об этапах формирования системы обратной связи

рассказал руководитель отдела обеспечения качества Научно-технологического университета «Сириус» Иван Сергеевич Гиба в докладе «Подходы к оценке удовлетворенности спонсора исследования».

Заключение

Сегодня научное сообщество понимает необходимость переосмыслить текущую исследовательскую и публикационную практику. Несмотря на то что многие группы специалистов разрабатывают и апробируют подходы, направленные на повышение качества биомедицинских исследований, отчетности и публикаций, появление множества рекомендаций и руководств, вопрос качества исследований до сих пор остается открытым.

Результаты ретроспективного исследования V. Leung и соавт., опубликованные в 2018 г., показали, что внедрение ARRIVE в редакторскую практику способствовало повышению качества научных статей, но ряд рекомендаций — расчет размера выборки, рандомизация и ослепление — по-прежнему освещается не в полной мере (Leung V., Rousseau-Blass F. и соавт., 2018).

Насколько выражены эти тенденции в отечественной науке можно косвенно оценить по анализу статей, описывающих результаты исследований *in vivo*, опубликованных за последние 3 года в ряде отечественных журналов («Лабораторные животные для научных исследований», «Журнал эволюционной биохимии и физиологии», «Гены и клетки», «Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова», «Безопасность и риск фармакотерапии»). Согласно традициям отечественной научной школы, авторы подробно освещают современное состояние научной проблемы, актуальность исследования, его цели и задачи. Дизайн исследования, как правило, описан достаточно подробно. Все чаще дизайн представляется графически, что способствует большему пониманию контекста исследования. Экспериментальные процедуры в большинстве статей описываются полно с указанием точного наименования оборудования и производителей. Упоминается применение рандомизации для формирования групп, однако метод рандомизации детализирован редко. Сведения о применении полного или частичного ослепления (маскировки) или о том, что процедура ослепления не использовалась, представляются редко. Указывается количество лабораторных животных, участвующих в исследовании, в некоторых статьях приводится обоснование объема (размера) выборки. Критерии включения/исключения описываются в статьях редко. Что касается экспериментальных животных, авторами предоставляются полные сведения. Недостаточно внимания уделяется аспектам гуманного отношения к животным, а именно — детальному описанию мер, направленных на снижение дистресса, определению гуманных конечных точек, фиксации нежелательных эффектов, наблюдаемых в ходе исследования. В опубликованных в журналах статьях всегда указываются наличие или отсутствие конфликта интереса и источники финансирования исследования.

Следует отметить, что наличие в журналах чек-листа для подготовки публикаций, составленного на основании рекомендаций ARRIVE 2.0, способствует повыше-

нию качества публикаций и облегчает процесс рецензирования. При этом, конечно, следует помнить, что качество исследования и последующей публикации закладывается на этапе планирования. Составление плана (протокола) исследования с учетом рекомендаций ARRIVE 2.0, продумывание деталей эксперимента и возможных рисков, тщательное рецензирование плана с привлечением специалистов из разных областей, если это необходимо, несомненно, будут способствовать повышению качества и воспроизводимости полученных результатов.

Вместе с тем для формирования культуры доклинических исследований недостаточно руководствоваться одним или несколькими нормативными, нормативно-правовыми документами или рекомендациями. Важно осознать, что в поиске научно обоснованных решений следует руководствоваться понятием «ответственность» ученого перед обществом, перед человечеством.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alexander P.E., Debono V.B., Mammen M.J. et al. COVID-19 coronavirus research has overall low methodological quality thus far: case in point for chloroquine/hydroxychloroquine // *J. Clin. Epidemiol.* 2020. Vol. 123. P. 120–126. DOI: [10.1016/j.jclinepi.2020.04.016](https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2020.04.016).
2. Avey M.T., Fenwick N., Griffin G. The use of systematic reviews and reporting guidelines to advance the implementation of the 3Rs // *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2015. Vol. 54. N. 2. P. 153–162.
3. Bailoo J.D., Reichlin T.S., Würbel H. Refinement of experimental design and conduct in laboratory animal research // *ILAR J.* 2014. Vol. 55. N. 3. P. 383–391. DOI: [10.1093/ilar/iltu037](https://doi.org/10.1093/ilar/iltu037).
4. Begley C.G., Ellis L.M. Drug development: Raise standards for preclinical cancer research // *Nature.* 2012. Vol. 483. N. 7391. P. 531–533. DOI: [10.1038/483531a](https://doi.org/10.1038/483531a).
5. Bellanger S., Benrezzak O., Battista M.C. et al. Experimental dog model for assessment of fasting and postprandial fatty acid metabolism: pitfalls and feasibility // *Lab Anim.* 2015. Vol. 49. N. 3. P. 228–240. DOI: [10.1177/0023677214566021](https://doi.org/10.1177/0023677214566021).
6. Boutron I., Altman D.G., Hopewell S. et al. Impact of spin in the abstracts of articles reporting results of randomized controlled trials in the field of cancer: the SPIIN randomized controlled trial // *J. Clin. Oncol.* 2014. Vol. 32. N. 36. P. 4120–4126. DOI: [10.1200/JCO.2014.56.7503](https://doi.org/10.1200/JCO.2014.56.7503).
7. Boutron I., Ravaud P. Misrepresentation and distortion of research in biomedical literature // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018. Vol. 115. N. 11. P. 2613–2619. DOI: [10.1073/pnas.1710755115](https://doi.org/10.1073/pnas.1710755115).
8. Bradley S.H., DeVito N. J., Lloyd K.E. et al. Reducing bias and improving transparency in medical research: a critical overview of the problems, progress and suggested next steps // *J. R. Soc. Med.* 2020. Vol. 113. N. 11. P. 433–443. DOI: [10.1177/0141076820956799](https://doi.org/10.1177/0141076820956799).
9. Charan J., Biswas T. How to calculate sample size for different study designs in medical research? // *Indian J. Psychol. Med.* 2013. Vol. 35. N. 2. P. 121–126. DOI: [10.4103/0253-7176.116232](https://doi.org/10.4103/0253-7176.116232).

10. Chiu K., Grundy Q., Bero L. "Spin" in published biomedical literature: A methodological systematic review // *PLoS Biol.* 2017. Vol. 15. N. 9. P. e2002173. DOI: [10.1371/journal.pbio.2002173](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2002173).
11. Conradi U., Joffe A.R. Publication bias in animal research presented at the 2008 Society of Critical Care Medicine Conference // *BMC Res. Notes.* 2017. Vol. 10. N. 1. P. 262. DOI: [10.1186/s13104-017-2574-0](https://doi.org/10.1186/s13104-017-2574-0).
12. Dhir N., Medhi B., Prakash A. et al. Pre-clinical to Clinical Translational Failures and Current Status of Clinical Trials in Stroke Therapy: A Brief Review // *Curr. Neuropharmacol.* 2020. Vol. 18. N. 7. P. 596–612. DOI: [10.2174/1570159X18666200114160844](https://doi.org/10.2174/1570159X18666200114160844).
13. Echevarría L., Malerba A., Arechavala-Gomez V. Researcher's Perceptions on Publishing «Negative» Results and Open Access // *Nucleic Acid Ther.* 2021. Vol. 31. N. 3. P. 185–189. DOI: [10.1089/nat.2020.0865](https://doi.org/10.1089/nat.2020.0865).
14. Englund T.R., Kinlaw A.C., Sheikh S.Z. Rise and Fall: Hydroxychloroquine and COVID-19 Global Trends: Interest, Political Influence, and Potential Implications // *ACR Open Rheumatol.* 2020. Vol. 2. N. 12. P. 760–766. DOI: [10.1002/acr2.11207](https://doi.org/10.1002/acr2.11207).
15. Errington T.M., Denis A., Allison A.B. et al. Experiments from unfinished Registered Reports in the Reproducibility Project: Cancer Biology // *Elife.* 2021. Vol. 10. P. e73430. DOI: [10.7554/eLife.73430](https://doi.org/10.7554/eLife.73430).
16. Festing M.F., Altman D.G. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals // *ILAR J.* 2002. Vol. 43. N. 4. P. 244–258. DOI: [10.1093/ilar.43.4.244](https://doi.org/10.1093/ilar.43.4.244). Erratum in: *ILAR J.* 2005. Vol. 46. N. 3. P. 320.
17. Fisher M., Feuerstein G., Howells D.W. et al. STAIR Group. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations // *Stroke.* 2009. Vol. 40. N. 6. P. 2244–2250. DOI: [10.1161/STROKEAHA.108.541128](https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.541128).
18. Freedman L.P., Cockburn I.M., Simcoe T.S. The Economics of Reproducibility in Pre-clinical Research // *PLoS Biol.* 2015. Vol. 13. N. 6. P. e1002165. DOI: [10.1371/journal.pbio.1002165](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002165). Erratum in: *PLoS Biol.* 2018. Vol. 16. N. 4. P. e1002626. DOI: [10.1371/journal.pbio.1002626](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002626).
19. Freedman L.P., Inglese J. The increasing urgency for standards in basic biologic research // *Cancer Res.* 2014. Vol. 74. N. 15. P. 4024–4029. DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-14-0925](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0925).
20. Fry D.J. Teaching experimental design // *ILAR J.* 2014. Vol. 55. N. 3. P. 457–471. DOI: [10.1093/ilar/ihu031](https://doi.org/10.1093/ilar/ihu031).
21. Getty C.M., Dilger R.N. Moderate perinatal choline deficiency elicits altered physiology and metabolomic profiles in the piglet // *PLoS ONE.* 2015. Vol. 10. N. 7. P. e0133500. DOI: [10.1371/journal.pone.0133500](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133500).
22. Jennions M.D., Møller A.P. A survey of the statistical power of research in behavioral ecology and animal behavior // *Behav. Ecol.* 2003. Vol. 14. N. 3. P. 438–445. DOI: [10.1093/beheco/14.3.438](https://doi.org/10.1093/beheco/14.3.438).
23. Glasziou P., Meats E., Heneghan C. et al. What is missing from descriptions of treatment in trials and reviews? // *BMJ.* 2008. Vol. 336. N. 7659. P. 1472–1474. DOI: [10.1136/bmj.39590.732037.47](https://doi.org/10.1136/bmj.39590.732037.47).
24. Hartshorne J.K., Schachner A. Tracking replicability as a method of post-publication open evaluation // *Front. Comput. Neurosci.* 2012. Vol. 6. P. 8. DOI: [10.3389/fncom.2012.00008](https://doi.org/10.3389/fncom.2012.00008).

25. Handbook on quality practices in basic biomedical research (QPBR). World Health Organization. Geneva, 2010. 175 p.
26. Ioannidis J.P. Why most published research findings are false // PLoS Med. 2005. Vol. 2. N. 8. P. e124. DOI: [10.1371/journal.pmed.0020124](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020124). Epub 2005 Aug 30. Erratum in: PLoS Med. 2022. Vol. 19. N. 8. P. e1004085. DOI: [10.1371/journal.pmed.1004085](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004085).
27. Johnson V.E. Revised standards for statistical evidence // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. Vol. 110. N. 48. P. 19313–19317. DOI: [10.1073/pnas.1313476110](https://doi.org/10.1073/pnas.1313476110).
28. Kafkafi N., Benjamini Y., Sakov A. et al. Genotype-environment interactions in mouse behavior: a way out of the problem // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. N. 12. P. 4619–4624. DOI: [10.1073/pnas.0409554102](https://doi.org/10.1073/pnas.0409554102).
29. Karp N. A., Pearl E.J., Stringer E.J. et al. A qualitative study of the barriers to using blinding in *in vivo* experiments and suggestions for improvement // PLoS Biol. 2022. Vol. 20. N. 11. P. e3001873. DOI: [10.1371/journal.pbio.3001873](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001873).
30. Kilkenny C., Parsons N., Kadoszewski E. et al. Survey of the quality of experimental design, statistical analysis and reporting of research using animals // PLoS One. 2009. Vol. 4. N. 11. P. e7824. DOI: [10.1371/journal.pone.0007824](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007824).
31. Kalbassi S., Bachmann S.O., Cross E. et al. Male and Female Mice Lacking Neurotrophin-3 Modify the Behavior of Their Wild-Type Littermates // eNeuro. 2017. Vol. 4. N. 4. DOI: [10.1523/ENEURO.0145-17.2017](https://doi.org/10.1523/ENEURO.0145-17.2017).
32. Kousholt B.S., Præstegaard K.F., Stone J.C. et al. Reporting quality in preclinical animal experimental research in 2009 and 2018: A nationwide systematic investigation // PLoS One. 2022. Vol. 17. N. 11. P. e0275962. DOI: [10.1371/journal.pone.0275962](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0275962).
33. Lazic S.E., Clarke-Williams C.J., Munafò M.R. What exactly is “N” in cell culture and animal experiments? // PLoS Biol. 2018. Vol. 16. N. 4. P. e2005282. DOI: [10.1371/journal.pbio.2005282](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005282).
34. Leung V., Rousseau-Blass F., Beauchamp G. et al. ARRIVE has not ARRIVED: Support for the ARRIVE (Animal Research: Reporting of *in vivo* Experiments) guidelines does not improve the reporting quality of papers in animal welfare, analgesia or anesthesia // PLoS One. 2018. Vol. 13. N. 5. P. e0197882. DOI: [10.1371/journal.pone.0197882](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197882).
35. Lewis A.J., Lee J.S., Rosengart M.R. Translational Sepsis Research: Spanning the Divide // Crit. Care Med. 2018. Vol. 46. N. 9. P. 1497–1505. DOI: [10.1097/CCM.0000000000003271](https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003271).
36. Lowenstein P. R., Castro M.G. Uncertainty in the translation of preclinical experiments to clinical trials. Why do most phase III clinical trials fail? // Curr. Gene Ther. 2009. Vol. 9. N. 5. P. 368–374. DOI: [10.2174/156652309789753392](https://doi.org/10.2174/156652309789753392).
37. Lydersen S., Langaas M. What proportion of published research findings are false? // Tidsskr. Nor. Laegeforen. 2021. Vol. 141. N. 18. DOI: [10.4045/tidsskr.21.0703](https://doi.org/10.4045/tidsskr.21.0703).
38. Moresis A., Restivo L., Bromilow S. et al. A minimal metadata set (MNMS) to repurpose nonclinical *in vivo* data for biomedical research // Lab Anim (NY). 2024. Vol. 53. N. 3. P. 67–79. DOI: [10.1038/s41684-024-01335-0](https://doi.org/10.1038/s41684-024-01335-0).
39. Neves K., Tan P. B., Amaral O.B. Are most published research findings false in a continuous universe? // PLoS One. 2022. Vol. 17. N. 12. P. e0277935. DOI: [10.1371/journal.pone.0277935](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277935).
40. Nosek B.A., Ebersole C.R., DeHaven A.C., Mellor D.T. The preregistration revolution // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2018. Vol. 115. N. 11. P. 2600–2606. DOI: [10.1073/pnas.1708274114](https://doi.org/10.1073/pnas.1708274114). PMID: 29531091.

41. O'Collins V.E., Macleod M.R., Donnan G.A. et al. 1026 experimental treatments in acute stroke // *Ann. Neurol.* 2006. Vol. 59. N. 3. P. 467–477. DOI: [10.1002/ana.20741](https://doi.org/10.1002/ana.20741).
42. Paylor R. Questioning standardization in science // *Nat. Methods.* 2009. Vol. 6. N. 4. P. 253–254. DOI: [10.1038/nmeth0409-253](https://doi.org/10.1038/nmeth0409-253).
43. Percie du Sert N., Hurst V., Ahluwalia A. et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research // *PLoS Biol.* 2020. Vol. 18. N. 7. P. e3000410. DOI: [10.1371/journal.pbio.3000410](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410).
44. Prinz F., Schlange T., Asadullah K. Believe it or not: how much can we rely on published data on potential drug targets? // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2011. Vol. 10. N. 9. P. 712. DOI: [10.1038/nrd3439-c1](https://doi.org/10.1038/nrd3439-c1).
45. Reynolds-Vaughn V., Riddle J., Brown J. et al. Evaluation of Spin in the Abstracts of Emergency Medicine Randomized Controlled Trials // *Ann. Emerg. Med.* 2019. P. 423–431. DOI: [10.1016/j.annemergmed.2019.03.011](https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2019.03.011).
46. Richter S.H., Garner J.P., Auer C. et al. Systematic variation improves reproducibility of animal experiments // *Nat. Methods.* 2010. Vol. 7. N. 3. P. 167–168. DOI: [10.1038/nmeth0310-167](https://doi.org/10.1038/nmeth0310-167).
47. Schneck A. Are most published research findings false? Trends in statistical power, publication selection bias, and the false discovery rate in psychology (1975–2017) // *PLoS One.* 2023. Vol. 18. N. 10. P. e0292717. DOI: [10.1371/journal.pone.0292717](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0292717).
48. Scott S., Kranz J.E., Cole J. et al. Design, power, and interpretation of studies in the standard murine model of ALS // *Amyotroph Lateral Scler.* 2008. Vol. 9. N. 1. P. 4–15. DOI: [10.1080/17482960701856300](https://doi.org/10.1080/17482960701856300).
49. Vasilevsky N.A., Brush M.H., Paddock H. et al. On the reproducibility of science: unique identification of research resources in the biomedical literature // *PeerJ.* 2013. Vol. 1. P. e148. DOI: [10.7717/peerj.148](https://doi.org/10.7717/peerj.148).
50. Wieschowski S., Chin W.W.L., Federico C. et al. Preclinical efficacy studies in investigator brochures: do they enable risk — benefit assessment? // *PLoS Biol.* 2018. Vol. 16. N. 4. P. e2004879. DOI: [10.1371/journal.pbio.2004879](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2004879).
51. Wilkinson M.D., Dumontier M., Aalbersberg I.J. et al. The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship // *Scientific Data.* 2016. Vol. 3. P. 160018. DOI: [10.1038/sdata.2016.18](https://doi.org/10.1038/sdata.2016.18).
52. Workman P., Aboagye E.O., Balkwill F. et al. Committee of the National Cancer Research Institute. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research // *Br. J. Cancer.* 2010. Vol. 102. N. 11. P. 1555–1577. DOI: [10.1038/sj.bjc.6605642](https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605642).
53. Wynants L., Van Calster B., Collins G.S. et al. Prediction models for diagnosis and prognosis of covid-19: systematic review and critical appraisal // *BMJ.* 2020. Vol. 369. P. m1328. DOI: [10.1136/bmj.m1328](https://doi.org/10.1136/bmj.m1328). Update in: *BMJ.* 2021. Vol. 372. P. n236. DOI: [10.1136/bmj.n236](https://doi.org/10.1136/bmj.n236). Erratum in: *BMJ.* 2020. Vol. 369. P. m2204. DOI: [10.1136/bmj.m2204](https://doi.org/10.1136/bmj.m2204).
54. Zhang X., Hartmann P. How to calculate sample size in animal and human studies // *Front Med (Lausanne).* 2023. Vol. 10. P. 1215927. DOI: [10.3389/fmed.2023.1215927](https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1215927).
55. Абашева Д.А., Калатанова А.В., Карпенко М.Н. и др. Оценка аддиктивного потенциала препарата Кортексин® в доклинических исследованиях // *Лабораторные животные для научных исследований.* 2020. № 4. С. 30–37. DOI: [10.29296/2618723X-2020-04-03](https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-04-03).

56. Антонова Е.П., Морозов А.В., Илюха В.А. и др. Длительная световая депривация влияет на пищеварительную функцию у крыс в онтогенезе // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2023. Т. 59. № 3. С. 223–231.
57. Ахмадиев П.А., Ласточкин А.А., Тазетдинов А.М. и др. Пространственное обучение крыс линии DAT-NET в 8-рукавном радиальном лабиринте // Лабораторные животные для научных исследований. 2024. № 3. С. 51–58. DOI: [10.57034/2618723X-2024-03-04](https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-03-04).
58. Базовкина Д.В., Устинова У.С., Адонина С. Н. и др. Влияние длительной социальной изоляции на поведение и дофаминовую систему мозга у мышей // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т. 110. № 2. С. 238–253. DOI: [10.31857/S0869813924020071](https://doi.org/10.31857/S0869813924020071).
59. Билалова Д.Ф., Нигматуллина Р.Р., Мустафин А.А. 5-HT₂-рецепторы и 5-ГИУК — терапевтические мишени оценки тяжести, прогрессирования и эффективности лечения у неполовозрелых самцов крыс в монокроталиновой модели легочной гипертензии // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т. 109. № 8. С. 1045–1055. DOI: [10.31857/S0869813923080022](https://doi.org/10.31857/S0869813923080022).
60. Болдырева Л.В., Морозова М.В., Павлов К.С. и др. Влияние приема фосфолипидов на формирование поведенческих характеристик у лабораторных мышей C57BL/6J // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т. 110. № 2. С. 254–267. DOI: [10.31857/S0869813924020082](https://doi.org/10.31857/S0869813924020082).
61. Бондарева Е.Д., Барчева А.В., Болотова В.Ц. и др. Разработка системы идентификации качества лабораторных животных. Идентификация уровня барьеров (сообщение 1) // Лабораторные животные для научных исследований. 2025. № 1. С. 4–20. DOI: [10.57034/2618723X-2025-01-01](https://doi.org/10.57034/2618723X-2025-01-01).
62. Бондарева Е.Д., Ковалева М.А., Макарова М.Н. и др. Разработка системы идентификации качества лабораторных животных. Контроль окружающей среды (сообщение 2) // Лабораторные животные для научных исследований. 2025. № 2. С. 4–31. DOI: [10.57034/2618723X-2025-02-01](https://doi.org/10.57034/2618723X-2025-02-01) (а).
63. Бондарева Е.Д., Ковалева М.А., Макарова М.Н. и др. Разработка системы идентификации качества лабораторных животных. Мониторинг здоровья животных (сообщение 3). Лабораторные животные для научных исследований. 2025. № 3. С. 36–45. DOI: [10.57034/2618723X-2025-03-03](https://doi.org/10.57034/2618723X-2025-03-03) (b).
64. Борзых А.А., Селиванова Е.К., Боровик А.С. и др. Комплексное исследование эффектов беговой тренировки в колесе на нервную регуляцию частоты сердечных сокращений у крыс // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2024. Т. 110. № 10. С. 1701–1717. DOI: [10.31857/S0869813924100095](https://doi.org/10.31857/S0869813924100095).
65. Виноградова Е.П., Симон Ю.А., Александров А.Ю. и др. У самок мышей нокаутов по гену TAAR1 отсутствует ранний поведенческий ответ на острый иммобилизационный стресс // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т. 109. № 11. С. 1650–1664. DOI: [10.31857/S0869813923110122](https://doi.org/10.31857/S0869813923110122).
66. Габова А.В., Федосова Е.А., Саркисова К.Ю. Сравнение влияния антидепрессантов имипрамина и флуоксетина на цикл сон—бодрствование и сонные веретена у крыс линии WAG/RIJ с абсансной эпилепсией и коморбидной депрессией // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2024. Т. 110. № 6. С. 1037–1054. DOI: [10.31857/S0869813924060115](https://doi.org/10.31857/S0869813924060115).

67. Гусакова Е.А., Городецкая И.В. Значение гормонов надпочечников в реализации стресс-протекторного эффекта малых доз L-тироксина // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2024. Т. 110. № 5. С. 753–768. DOI: [10.31857/S0869813924050077](https://doi.org/10.31857/S0869813924050077).
68. Деркач К.В., Зорина И.И., Шпаков А.О. Эффективность курсового применения метформина в комбинации с интраназально вводимым инсулином для лечения крыс с ожирением, вызванным «кафетерий-диетой» // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2024. Т. 110. № 4. С. 590–604. DOI: [10.31857/S0869813924040067](https://doi.org/10.31857/S0869813924040067).
69. Жданова Д.Ю., Ковалев В.И., Чаплыгина А.В. и др. Белок YB-1 предотвращает возрастное снижение уровня эстрадиола в плазме крови у трансгенных стареющих самок мышей 5XFAD // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2022. Т. 109. № 2. С. 163–177. DOI: [10.31857/S0869813923020103](https://doi.org/10.31857/S0869813923020103).
70. Жданов А.В., Комелькова М.В., Горбунова М.А. и др. Влияние антигистаминных препаратов на поведенческую активность *Danio rerio* // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т. 109. № 12. С. 1847–1855. DOI: [10.31857/S0869813923120154](https://doi.org/10.31857/S0869813923120154).
71. Жиляев С.Ю., Платонова Т.Ф., Хлебников А.И. и др. Вазоактивное и нейропротекторное действие ингибитора c-Jun-N-терминальных киназ у крыс с хронической гипоперфузией головного мозга // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т. 109. № 6. С. 749–759. DOI: [10.31857/S0869813923060079](https://doi.org/10.31857/S0869813923060079).
72. Зеленцова А.С., Борисова А.Ю., Шмигера В.С. и др. Митохондриальное дыхание первичной смешанной культуры нейронов гиппокампа на различных стадиях дифференцировки // Гены и клетки. 2024. Т. 19. № 1. С. 201–210. DOI: [10.17816/gc529662](https://doi.org/10.17816/gc529662).
73. Ильин Н.П., Галстян Д.С., Демин К.А. и др. Поведенческие, геномные и нейрохимические нарушения в модели нейротравмы на взрослых рыбах зебраданио (*Danio rerio*) // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т. 109. № 11. С. 1699–1717. DOI: [10.31857/S0869813923110043](https://doi.org/10.31857/S0869813923110043).
74. Калашников В.Е., Сергеева К.В., Туртикова О.В. и др. Природа спонтанной тонической активности камбаловидной мышцы крысы в условиях опорной разгрузки, выявленная при использовании CLP290, нового активатора калий-хлоридного ко-транспортера спинного мозга // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2024. Т. 110. № 9. С. 1337–1348. DOI: [10.31857/S0869813924080048](https://doi.org/10.31857/S0869813924080048).
75. Кузнецов С.В., Кузнецова Н.Н. Участие адренорецепторов в механизмах возникновения патологического сердечного ритма, вызванного у новорожденных крысят введением хлорида никеля // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2024. Т. 110. № 9. С. 1488–1509. DOI: [10.31857/S0869813924090152](https://doi.org/10.31857/S0869813924090152).
76. Кузьмина Д.М., Еремеева Н.А., Щелчкова Н.А. и др. Поведенческий фенотип мышей линии C57Bl/6, перенесших буллинг в инфантильном возрасте // Гены и клетки. 2023. Т. 18. № 4. С. 353–367. DOI: [10.23868/gc546155](https://doi.org/10.23868/gc546155).
77. Куликов А.Н., Береснева О.Н., Иванова Г.Т. и др. Кардиопротективное действие соевого белка при высокосолевого диеты у яванских макак // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т. 109. № 6. С. 771–787. DOI: [10.31857/S0869813923060055](https://doi.org/10.31857/S0869813923060055).

78. Лапшина К.В., Ханина М.В., Кайсманова, М. П. и др. Фармакологическое ингибирование активности водного канала AQP4 вызывает усиление альфа-синуклеиновой патологии в черной субстанции в модели болезни паркинсона у крыс // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2023. Т. 109. № 11. С. 1684–1698. DOI: [10.31857/S0869813923110079](https://doi.org/10.31857/S0869813923110079).
79. Лебедева Д.А., Игонина Т. Н., Брусенцев Е.Ю. и др. Влияние гонадотропной стимуляции яичников в условиях хронического психосоциального стресса на качество ооцитов мышей // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2024. Т. 110. № 6. С. 930–944. DOI: [10.31857/S0869813924060044](https://doi.org/10.31857/S0869813924060044).
80. Макарова М.Н., Ковалева М.А., Макаров В.Г. Слепление (маскировка) в доклинических исследованиях как возможный инструмент повышения воспроизводимости и трансляционности данных (литературный обзор) // Трансляционная медицина. 2024. Т. 11. № 1. С. 122–132. DOI: [10.18705/2311-4495-2024-11-1-122-132](https://doi.org/10.18705/2311-4495-2024-11-1-122-132).
81. Макарова М.Н., Крышень К.Л., Ковалева М.А. и др. Подход к выбору релевантных видов лабораторных животных в исследованиях // Лабораторные животные для научных исследований. 2025. № 3. С. 8–35. DOI: [10.57034/2618723X-2025-03-02](https://doi.org/10.57034/2618723X-2025-03-02).
82. Михайленко В.А., Буткевич И.П., Вершинина Е.А. Влияние неонатальной гипоксии и антидепрессанта флуоксетина на когнитивную и стресс-гормональную функции у взрослых крыс // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2023. Т. 59. № 3. С. 178–189.
83. Муразов Я.Г., Стуков А.Н., Змитриченко Ю.Г. и др. Методологические аспекты доклинической оценки противоопухолевой активности на примере оригинального цитостатика у крыс Wistar с трансплантируемой карциносаркомой Walker 256 // Лабораторные животные для научных исследований. 2021. № 1. С. 12–17. DOI: [10.29296/2618723X-2021-01-02](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-01-02).
84. Небогатиков В.О., Салихова Д.И., Белоусова Е.В. и др. Безопасность биомедицинского клеточного продукта на основе глиальных клеток-предшественников человека: пилотное исследование на мышах линии C57BL/6J при ретроорбитальном введении // Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2024. Т. 4. № 6. С. 720–732. DOI: [10.30895/1991-2919-2024-650](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-650).
85. Николаенко М.А., Гуляев М.В., Волкова, А.А. и др. Повреждение мозга при фотоиндуцированной ишемии в условиях стрептозотоцин-индуцированного диабета у мышей с нокаутом гена белка паннексина 1 // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2024. Т. 110. № 10. С. 1718–1732. DOI: [10.31857/S08698139241000105](https://doi.org/10.31857/S08698139241000105).
86. Плиско Г.А., Ногаева У.В., Семивеличенко Е.Д. и др. Сравнительная эффективность производных этилметилгидроксипиридина сукцината при острой интоксикации тетрахлорметаном // Лабораторные животные для научных исследований. 2021. № 2. С. 3–9. DOI: [10.29296/2618723X-2021-02-01](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-02-01).
87. Поздняков Д.И., Вихорь А.А. Ассоциированные с полом различия реакций нейровоспаления в коре больших полушарий при манифестации болезни Альцгеймера в эксперименте // Лабораторные животные для научных исследований. 2024. № 2. С. 58–65. DOI: [10.57034/2618723X-2024-02-05](https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-02-05).
88. Пруцкова Н.П., Селивёрстова Е.В., Кутина А.В. Влияние изменений водно-солевого баланса на ионо- и осморегулирующую функции почек у озерной лягуш-

- ки // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2023. № 3. С. 44–53. DOI: [10.57034/2618723X-2023-03-03](https://doi.org/10.57034/2618723X-2023-03-03).
89. Ручко Е.С., Голубинская П.А., Пикина А.С. и др. Фенотипическое сходство сфероидов нативных хондроцитов и сфероидов хондроцитов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека с помощью рекомбинантных факторов TGF- β 1 и BMP2 // *Гены и клетки*. 2025. Т. 20. № 1. С. 41–53. DOI: [10.17816/gc641935](https://doi.org/10.17816/gc641935).
90. Сивак К.В., Стосман К.И., Калинина Е.Ю. и др. Доклиническая оценка безопасности противоопухолевых препаратов на основе живых непатогенных энтеровирусов // *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2024. Т. 12. № 4. С. 444–462. DOI: [10.30895/2312-7821-2024-415](https://doi.org/10.30895/2312-7821-2024-415).
91. Сухов И.Б., Чистякова О.В., Добрецов М.Г. Исследование Na⁺/K⁺-атфазы и компонентов Ca²⁺-транспортирующей системы в миокарде в условиях экспериментального преддиабета и диабета 1-го типа у крыс // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2024. Т. 110. № 6. С. 915–929. DOI: [10.31857/S0869813924060033](https://doi.org/10.31857/S0869813924060033).
92. Трофимец Е.И., Боровкова К.Е., Гуцин Я.А. и др. Апробация модели острого бактериального цистита на кроликах // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2021. № 2. С. 25–37. DOI: [10.29296/2618723X-2021-02-04](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-02-04).
93. Тур М.А. Белозерцева И.В. Влияние форсированного плавания на выполнение теста «Избавление подныриванием» // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2024. Т. 110. № 9. С. 1349–1361. DOI: [10.31857/S0869813924080058](https://doi.org/10.31857/S0869813924080058).
94. Филатова Т.С., Абрамочкин Д.В. Влияние гибернации на электрическую активность и калиевые токи в миокарде длиннохвостого суслика // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2023. Т. 109. № 6. С. 788–797. DOI: [10.31857/S0869813923060031](https://doi.org/10.31857/S0869813923060031).
95. Ходько С.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Документальное сопровождение доклинического исследования *in vivo* в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики // *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2025. Т. 15. № 3. С. 252–261. DOI: [10.30895/1991-2919-2025-698](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-698).
96. Ярушкина Н.И., Зенько М.Ю., Морозова О.Ю. и др. Влияние социальной изоляции и обогащенной среды на активность гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы, болевую чувствительность и поведение крыс после ульцерогенного стрессора // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2024. Т. 110. № 9. С. 1510–1528. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869813924090162>.

Экспериментальные модели

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-s2>

А.А. Матичин¹, Д.Ю. Акимов¹, А.Ю. Бородина¹, В.А. Вавилова¹, А.В. Воротилов²,
М.М. Галагудза², А.А. Головина¹, В.Г. Джинджолия³, Д.М. Карачевцева¹, А.А. Карпов^{2,4},
Д.М. Кузьмина⁵, Е.С. Кукушкина¹, Е.В. Мазукина¹, Я.Г. Муразов¹, А.Е. Носова⁶, В.А. Пугач⁷,
И.А. Рыжков⁸, А.А. Сапрыкина¹, Д.А. Тильченко⁹, З.С. Фесенко¹⁰, Н.И. Ярушкина¹¹

¹ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

² ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,

³ ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии»,

⁴ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,

⁵ Центр доклинических исследований ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России,

⁶ ГНЦ ИБХ РАН,

⁷ ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ,

⁸ НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР,

⁹ ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России,

¹⁰ Институт трансляционной биомедицины СПбГУ,

¹¹ ИФ РАН

Эксперименты на животных исторически играют важнейшую роль в изучении и описании патофизиологии заболеваний, идентификации органов-мишеней и оценке *in vivo* новых лекарственных средств и методов лечения. Моделирование заболеваний на животных является жизненно важным инструментом в доклинических исследованиях. Выбор подходящих экспериментальных моделей на животных имеет решающее значение с учетом таких факторов, как физиологическое и патофизиологическое сходство, доступность тест-системы и этические соображения.

В настоящее время не существует официального и даже конкретного определения понятия «экспериментальные модели на животных». Ниже приведены некоторые варианты.

- «Модели на животных — это классические фармакологические модели, используемые в качестве обязательного элемента в доклинических (токсикологических и фармакологических) исследованиях новых лекарственных средств. Тестирование на животных позволяет изучить механизмы заболе-

вания и патогенетические стадии, что создает возможности для улучшения лечения и выявления новых терапевтических подходов» (Гомзикова М.О., Маланьева А.Г. и соавт., 2021).

- «Понятие "модель на животных"» (animal model) определяется как вид, не являющийся *Homo sapiens*, используемый в биомедицинских исследованиях, поскольку может имитировать аспекты биологических процессов или заболеваний, обнаруживаемых у человека» (Енгальчева Г.Н., Сюбаев Р.Д., 2024).
- «Модели на лабораторных животных (биологические модели) применяют для воспроизведения биологических структур, функций и процессов на молекулярном, субклеточном, клеточном, органно-системном, организменном и популяционно-биоценотическом уровнях» (Богачева Н.В., Зайцева И.В. и соавт., 2020).
- «Живой организм, который позволяет изучать нормальную биологию или поведение, или исследовать спонтанный или индуцированный патологический процесс, и в котором явление в одном или нескольких отношениях напоминает аналогичное явление у людей или других видов животных» (Hau J., Schapiro S.J. и соавт., 2011).
- «Модельное животное — это вид (не человек), используемый в биомедицинских исследованиях, поскольку он может имитировать аспекты биологических процессов или заболеваний, встречающихся у человека» (Tazetdinov A.M., Takhirova Z.R. и соавт., 2023).

В рамках конференции были рассмотрены различные подходы к выбору тест-системы, способов моделирования патологий, а также ключевых контролируемых показателей.

В своем докладе «Монгольские песчанки — объект для моделирования глобальной ишемии головного мозга и изучения механизмов нейропротекции» Михаил Михайлович Галагудза затронул тему выбора тест-системы, учитывая особенности животных, на примере монгольской песчанки. Кровообращение головного мозга у монгольской песчанки имеет особенность, которая делает этот вид уникальной экспериментальной моделью. В отличие от подавляющего большинства лабораторных млекопитающих артериальный круг большого мозга (виллизиев круг) у песчанок является незамкнутым или разомкнутым. Ключевая анатомическая деталь, лежащая в основе такой особенности, — это отсутствие задних соединительных артерий. Эта генетически детерминированная видовая черта кардинально меняет последствия перевязки магистральных сосудов.

У других животных, таких как, например, крысы, замкнутый виллизиев круг действует как эффективная система коллатерального (обходного) кровообращения. Если кровоток по сонным артериям прекращается, мозг может компенсировать это за счет получения крови из вертебробазиллярного бассейна (через позвоночные артерии) именно благодаря этим соединительным артериям, и наоборот. У песчанок такая «система безопасности» отсутствует. Поэтому при выполнении относительно простой хирургической процедуры — билатеральной окклюзии общих сонных артерий — у них развивается глобальная ишемия всего переднего мозга, поскольку пути для компенсаторного притока крови из задних отделов круга просто нет. При этом данная анатомическая особенность не является чем-то исключительным

и для человека. Строение виллизиева круга у человека характеризуется огромной вариативностью — описано 48 его вариантов. Наиболее частый из них, встречающийся примерно у 27% людей, схож с таковым у монгольских песчанок. Речь идет о гипоплазии или полном отсутствии задних соединительных артерий либо с одной, либо с обеих сторон. Таким образом, можно сделать вывод, что в анатомическом плане человек гораздо ближе к монгольской песчанке, чем к другим лабораторным млекопитающим с их всегда замкнутым кругом, что повышает потенциальную трансляционную ценность данных, полученных на этой модели.

Однако эта идеальная картина осложняется внутривидовой изменчивостью. Уже в 1974 г. было обнаружено, что не все песчанки одинаково реагируют на перевязку артерий: некоторые демонстрируют полную ишемию, а у других из-за сохранения коллатералей повреждение не возникает. Более поздние исследования, например 2006 г., уточнили, что степень ишемического повреждения напрямую коррелирует с наличием и, что особенно важно, диаметром задней соединительной артерии. Если ее диаметр менее 50 мкм, развивается тяжелое повреждение гиппокампа, а если артерия шире 50 мкм, то коллатеральный кровоток оказывается достаточным для предотвращения масштабной ишемии. Более того, в некоторых питомниках, как например, в Японии, где у колонии песчанок произошла почти полная утрата этого признака, классический «незамкнутый» вариант встречается лишь у 4% животных.

Несомненно, при выборе тест-системы также необходимо учитывать и биологические особенности того или иного животного. Так, в своем докладе «**Особенности проведения доклинических исследований на хорьках: опыт ЦДИ “ПИМУ”**» Дарья Михайловна Кузьмина рассказала об опыте работы с хорьками и их особенностях как тест-системы. Критической точкой в работе с хорьками можно считать управление половым циклом самок. У самок в период с марта по август начинается период эструса. Без вязки самки остаются в этом состоянии от 3 до 6 мес. Как отметил лектор, если самки не выходят из фазы активного полового цикла и спаривания не происходит, то в этом случае животные могут находиться в состоянии сильного стресса вплоть до случаев гибели. Стандартная практика в данном случае — проведение овариэктомии самкам с целью избежать весеннего гона. В рамках исследовательской работы, представленной докладчиком, хирургическая кастрация была заменена химической, что позволило успешно провести эксперимент, поскольку половой цикл у животных был подавлен без хирургического вмешательства.

Стоит помнить, что даже у филогенетически близких к человеку животных, таких как приматы, могут быть свои особенности, влияющие на результаты исследований. Как подчеркнул в своем докладе «**Моделирование алиментарной дислипидемии на макаках резус и макаках яванских**» Валерий Гарикович Джинджолия, среди разных видов приматов не существует универсальной тест-системы. Ключевой точкой принятия решения должна быть цель исследования. Например, для изучения нарушений липидного обмена и индукции гиперхолестеринемии идеально подходят яванские макаки (*Macaca fascicularis*), что подтверждается данными, где на гиперхолестеринемической диете у данных животных был зафиксирован устойчивый двукратный прирост общего холестерина и липопротеинов низкой плотности уже

к концу первого месяца эксперимента. В то же время для моделирования нарушений углеводного обмена более релевантной моделью являются макаки-резусы (*Macaca mulatta*), у которых в ходе использования фруктозной диеты был отмечен полуторакратный устойчивый прирост уровня глюкозы в крови, в то время как у яванских макак значимых изменений этого показателя не произошло. Кроме выбора вида, другая фундаментальная ключевая точка — это учет методических особенностей работы с приматами, которые напрямую влияют на достоверность получаемых данных. В качестве примеров в докладе приводятся проблемы высокой вариабельности биохимических показателей из-за стрессовой реакции животных на процедуры, что требует обязательного включения в дизайн исследования длительного периода адаптации обезьян к манипуляциям.

В своем докладе «Модель дефицита дофамина у животных, лишенных дофаминового транспортера, — сложности переноса с мышей на крыс» Зоя Сергеевна Фесенко рассказала о проблемах, возникающих при прямом переносе моделей с одного вида животных на другой, на примере модели дефицита дофамина (DDD-модели) у животных, лишенных дофаминового транспортера. За основу была взята модель DDD-мышей, разработанная в 2005 г.: нокаутным мышам линии DAT-KO внутрибрюшинно вводили альфа-метилпаратирозин (AMPT), что приводило к быстрому истощению дофамина и развитию обратимого состояния акинезии и ригидности, что позволяет изучать острую гиподофаминергию, аналогичную тяжелым формам болезни Паркинсона. Необходимость изменения вида модельного организма обосновывается высоким процентом спонтанной гибели среди нокаутных мышей линии DAT-KO, что осложняет набор необходимой выборки. Для нокаутных особей крыс линии DAT-KO это не характерно. Помимо этого, крысы сами по себе обладают большими размерами, что открывает перспективы для проведения сложных и более точечных исследований головного мозга, позволяющих сочетать многокомпонентные конструкции регистрирующих элементов, микродиализных мембран и прочего. Кроме того, у крыс более широко представлен репертуар поведенческих реакций, ассоциированный в том числе с проявлением когнитивных функций, для которых разработан ряд успешно применяемых поведенческих подходов. В докладе представлена попытка полного переноса моделирования AMPT-индуцированного протокола на линию крыс без функционального дофаминового транспортера (крысы DAT-KO). Пошаговое воспроизведение протокола привело к развитию у крыс DAT-KO многочисленных тромбозов и летальности в течение 3 дней, что не решали попытки корректировать дозы, борьба с обезвоживанием и введение антикоагулянтов, причем этого не наблюдалось в работе с мышами DDD. Решением проблемы стало изменение пути и дозы введения AMPT: вместо внутрибрюшинного введения животным вводили AMPT в латеральные желудочки мозга с помощью микроинъектора. Модифицированный протокол не только обеспечивал выживаемость животных, но и сохранил основные преимущества модели: быстрое развитие и обратимость гиподофаминергического состояния.

Создание адекватной, патогенетически обоснованной и воспроизводимой экспериментальной модели является критически важным фундаментом для скрининга и изучения новых лекарственных соединений. При этом ключевым аспектом выступает не просто индукция патологического состояния, а глубокое понимание

механизмов ее развития, позволяющее целенаправленно конструировать модель под конкретные исследовательские задачи и корректно интерпретировать получаемые данные об эффектах препаратов. В своем докладе [«Гипогликемическая и гепатопротекторная активность новых производных \$\alpha\$ -цианотиоацетамида из ряда частично гидрированных пиридинов на разработанной *de novo* методике лекарственного гепатита у беспородных половозрелых крыс»](#) Дмитрий Александрович Тильченко привел пример разработки модели лекарственного гепатита. Наиболее известный метод моделирования гепатита основан на введении противотуберкулезных препаратов животным. При этом существуют как мономодели, когда используется один препарат, например, изониазид, рифампицин или пиразинамид, так и их комбинации. Стоит обратить внимание, что многие методики лишены четкого патогенетического обоснования выбора конкретных препаратов, их доз и комбинаций. После систематизации данных литературы установлено, что разные комбинации и дозы изониазида, пиразинамида и рифампицина приводят к принципиально разным синдромам поражения печени: например, высокие дозы рифампицина вызывают синдром холестаза за счет нарушения синтеза гема, а комбинация изониазида и пиразинамида — преимущественно гепатоцеллюлярный синдром. На основе этого была целенаправленно сконструирована новая модель, использующая сравнительно высокие дозы изониазида и пиразинамида с добавлением низкой дозы рифампицина для потенцирования токсического эффекта, но без выраженного холестатического компонента. Эта модель была целенаправленно применена в исследовании для изучения гепатоцеллюлярного повреждения, связанного с митохондриальной дисфункцией — ключевым звеном в патогенезе метаболических нарушений, таких как сахарный диабет. Использование этой модели позволило оценить не только гепатопротекторную, но и гипогликемическую активность новых производных альфа-цианотиоацетамида.

Создание релевантных и стандартизированных моделей является критически важным условием для получения трансляционных данных, способных стать мостом между доклиническими исследованиями и клинической практикой, при этом ключевым аспектом выступает строгое соответствие модели не только этиологии заболевания, но и комплексным критериям подтверждения, которые охватывают патоморфологические, биохимические и функциональные проявления патологии, что позволяет минимизировать артефакты и увеличить предсказательную ценность экспериментальных результатов. В своем докладе [«Острый респираторный дистресс-синдром: проблемы релевантности биомodelей и трансляционности экспериментальных данных в клиническую практику»](#) Виктория Александровна Пугач затронула проблему подтверждения сформированности моделей на примере острого респираторного синдрома (ОРДС). В 2022 г. экспертная комиссия в составе американского торакального общества предложила использовать стандартные критерии для верификации ОРДС. В их числе патоморфологическая картина острого повреждения легких, повышение проницаемости аэрогематического барьера, формирование местной воспалительной реакции, а также нарушение газообменной функции легких с последующей генерализацией патологического процесса. Для подтверждения каждого из перечисленных критериев были выделены ряд показателей. В качестве примера необходимости комплексной оценки критери-

ев были представлены результаты исследования противовоспалительной терапии дексаметазоном на модели ЛПС-индуцированного ОРДС у крыс. Если ограничиться лишь традиционным релевантным показателем для *1-го критерия* (патоморфологическая оценка по балльной шкале), то все дозы дексаметазона демонстрируют схожую противовоспалительную эффективность. Однако рассмотрение дополнительных показателей (кровоизлияния и тромбоз микрососудов) выявило дозозависимые неблагоприятные эффекты на систему гемостаза, что позволило определить минимальную терапевтическую дозу как наиболее безопасную.

Для оценки информативности *2-го критерия* было выбрано два релевантных показателя — увеличение массового коэффициента легких и повышение уровня общего белка в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ), а также два дополнительных критерия: повышение уровня биомаркеров повреждения альвеолярного эпителия (sRAGE, SP-D, KL-6) в крови и БАЛЖ. На модели кроликов показано, что показатель массового коэффициента легких хорошо коррелирует с уровнем общего белка в БАЛЖ, что отражает раннее нарушение проницаемости альвеолярного барьера, а последующее увеличение сурфактантного белка D (SP-D) свидетельствует о повреждении альвеолярного компонента барьера.

С использованием широкого спектра биомаркеров в БАЛЖ подтвержден *3-й критерий* (формирование местной воспалительной реакции) на модели кроликов (табл. 1).

Высокую корреляцию с выраженностью отека продемонстрировали количество нейтрофилов, уровни интерлейкина-18, нейтрофильной эластазы, а также маркеров эндотелиальной дисфункции (эндотелин-1, синдекан-1).

Для оценки информативности *4-го критерия* выбраны следующие релевантные показатели — это изменение уровня газов в артериальной крови, снижение сатурации по данным пульсоксиметрии, изменение показателей функций внешнего дыхания, а также дополнительные критерии — изменение легочной ткани по данным лучевой диагностики, снижение массы тела, наличие показателей синдрома системного воспалительного ответа и полиорганной недостаточности, а также снижение температуры тела. Высокую корреляцию с выраженностью отека легких продемонстрировали следующие релевантные показатели — это уровень сатурации, а также парциальное давление кислорода в артериальной крови. Из дополнительных показателей информативными оказались динамика изменений массы тела, а также показатели температуры тела на 3-и сутки эксперимента.

В крови кроликов определяли широкий спектр биомаркеров воспаления и дисфункции эндотелия (см. табл. 1), выполняли исследования клинического, биохимического анализов крови, а также показатели коагулограммы.

Высокую корреляцию с выраженностью отека продемонстрировали уровни интерлейкина-18, синдекана-1, показатели адгезионной дисфункции эндотелия (P- и E-селектин), биомаркер вазомоторной дисфункции эндотелия адреномедуллин, а также параметры коагулограммы.

На основании полученных результатов докладчик рекомендует набор релевантных и дополнительных показателей для оценки сформированности ОРДС (табл. 2).

При этом в зависимости от типа исследования допустимо использовать разное количество критериев: для фундаментальных исследований достаточно двух

Таблица 1

Исследуемые биомаркеры в крови и БАЛЖ кроликов на фоне интратрахеального введения липополисахарида

| | |
|--|---|
| Биомаркеры воспаления | <ul style="list-style-type: none"> • Провоспалительные цитокины (ИЛ-6, ИЛ-18). • Протеазы (нейтрофильная эластаза, миелопероксидаза). • Другие медиаторы острого воспаления (фактор активации тромбоцитов) |
| Биомаркеры дисфункции эндотелия | <p>Адгезионная дисфункция</p> <ul style="list-style-type: none"> • Растворимые формы молекул клеточной адгезии (VCAM-1, P-селектин, E-селектин). • Компоненты эндотелиального гликокаликса (синдекан-1). <p>Гемостатическая дисфункция</p> <ul style="list-style-type: none"> • Тромбогенные факторы (фактор фон Виллебранда, тканевой фактор, ингибитор активатора плазминогена). • Атромбогенные факторы (тромбомодулин, тканевой активатор плазминогена, протеин С, ингибитор пути тканевого фактора). <p>Вазомоторная дисфункция</p> <ul style="list-style-type: none"> • Вазоконстрикторы (эндотелин-1). • Вазодилататоры (адренормедуллин) |
| Дополнительные исследования | <ul style="list-style-type: none"> • Эндопульмональная цитограмма (в бронхоальвеолярной жидкости). • Клинический, биохимический анализ крови и коагулограмма |

Таблица 2

Рекомендуемые показатели для оценки сформированности модели ОРДС

| Критерий | Релевантные показатели | Дополнительные показатели |
|-----------------|---|---|
| 1-й | Массовый коэффициент легких, общий белок в БАЛЖ | Сурфактанный белок-D в БАЛЖ |
| 2-й | Количество нейтрофилов, ИЛ-18, нейтрофильная эластаза, показатели дисфункции эндотелия в БАЛЖ | На усмотрение исследователя |
| 3-й | Газы в артериальной крови | Масса и температура тела, показатели воспаления, дисфункции эндотелия и гиперкоагуляции в крови |
| 4-й | Балльная оценка гистопатологических изменений в ткани легких | Кровоизлияния и микротромбозы в ткани легких |

из первых трех критериев, а на этапе доклинических исследований экспериментальная модель должна быть подтверждена по всем четырем критериям.

В своем докладе «**Ортотопические модели в экспериментальной онкологии: *non progredi est regredi***» Ярослав Геннадьевич Муразов затронул серьезную проблему, связанную с низкой предсказательной способностью (предиктивной валидностью) экспериментальных моделей с участием животных для дальнейших клинических исследований перспективных средств противоопухолевой терапии. Традиционные технически простые модели, основанные на подкожной трансплантации гомогенных иммортализованных коммерчески доступных клеточных линий опухолей человека и животных, к сожалению, обладают низким трансляционным потенциалом. Сегодня ведутся широкие дебаты по поводу объективности результатов, полученных с помощью этих клеточных линий, выращенных «на пластике», из-за возможности клональной селекции и артефактов, связанных с многочисленными пассажами *in vitro*. Клеточные линии адаптируются к росту в искусственной среде без важных клеточных и неклеточных компонентов микроокружения опухоли. Тем не менее подкожная трансплантация клеточных линий сегодня не теряет своей актуальности на ранних этапах разработки или для скрининга перспективных противоопухолевых кандидатов. Альтернативой подкожным моделям являются клинически более релевантные, но технически сложные ортотопические модели, когда опухолевый материал трансплантируется в физиологически релевантную нишу, то есть орган или ткань, из которого опухоль развивается спонтанно у человека или животных. Что касается выбора источника опухолевого материала для трансплантации животным, то в трансляционных исследованиях в онкологии предпочтение сегодня отдается полноценным фрагментам опухоли человека (PDX, Patient-Derived Xenograft), полученным от пациента в ходе биопсии или операции. Докладчик отметил, что имплантация фрагментов опухоли (а не клеточной суспензии) является более рациональным подходом к созданию ортотопических моделей у мышей. По сравнению с клетками, культивированными *in vitro*, PDX-образцы в целом лучше сохраняют генетические и эпигенетические особенности опухоли-оригинатора, полученной от пациента. PDX-модели растут в трехмерной микросреде (экосистеме), которая включает кровеносную систему, обеспечивающую доставку питательных веществ и кислорода, а также стромальные и иммунокомпетентные клетки организма хозяина, которые взаимодействуют и обмениваются информацией с опухолевыми клетками.

При выборе экспериментальной модели важную роль играет возможность проведения методики моделирования патологии или измерения показателей. Несмотря на уверенность в своих навыках проведения исследований, зачастую не всегда получается воссоздать эксперимент на основе опубликованных данных литературы или прошлого опыта. Александр Владимирович Воротилов в своем докладе «**Модель трансплантации левого легкого на крысах с использованием техники модифицированной манжеты**» на примере модели ортотопической трансплантации легкого у крысы по методу манжеты ярко иллюстрирует, как выбор адекватной экспериментальной модели позволяет минимизировать ключевые технические риски (такие как время ишемии), стандартизировать процедуру для выполнения в условиях лаборатории даже при ограниченном числе исследователей и в конечном итоге

получать воспроизводимые и клинически релевантные результаты. Актуальность разработки таких моделей продиктована медицинской реальностью: высокий уровень смертности от хронических заболеваний легких и крайне ограниченное количество трансплантаций в России требуют поиска эффективных способов изучения и совершенствования этого метода лечения на доклиническом этапе. Выбранная спикером методика включает в себя строго стандартизированные этапы: забор донорского легкого с промыванием консервирующим раствором при определенном давлении, использование специальных манжет для соединения сосудов и бронха значительно сокращают время ишемии и упрощают анастомоз по сравнению с традиционным сшиванием. Докладчик наглядно продемонстрировал преимущества и проблемы работы с данной экспериментальной моделью. К преимуществам относятся ее относительная простота и возможность выполнения одним оператором с помощью специально разработанного инструмента для фиксации, что повышает воспроизводимость и снижает зависимость от наличия ассистента. К возможным проблемам, которые могут возникнуть во время выполнения методики, можно отнести индивидуальные анатомические особенности животных, которые не позволяют привить донорское легкое реципиенту.

Формирование модельной патологии само по себе не гарантирует успех доклинических исследований. Ценность модели напрямую зависит от методов последующего анализа, которые должны быть тщательно выбраны и отработаны, чтобы избежать искажений и потери данных.

Несмотря на появление новых подходов к диагностике, морфологические исследования по-прежнему имеют большое значение в доклинических исследованиях. В своем докладе [«Подходы к морфологической оценке левого и правого желудочков при различных патологиях в экспериментах на грызунах»](#) Андрей Александрович Карпов показывает, что работа с биоматериалом на этапе морфологической оценки — это целый комплекс взаимосвязанных задач, где ошибка на любом из этапов может сделать бесполезными все последующие усилия. В качестве примера приводятся практические аспекты подготовки и оценки микропрепаратов сердца. Так, для корректной оценки размеров полостей и толщины стенок необходимо остановить сердце в диастоле с помощью введения хлорида калия, что имитирует его естественное расслабленное состояние и предотвращает случайное искажение геометрии. Далее, чтобы избежать деформации желудочков и особенно истонченного рубца после инфаркта, докладчик предложил инъекцию в полости сердца желатина, парафина или другого агента, который фиксирует орган в его естественной трехмерной конфигурации. Следующий этап — разделение сердца на уровни для получения репрезентативных срезов. Стандартно, если протокол исследования не предполагает дополнительных требований, деление происходит на базальный, средний и верхушечный сегменты. Дальнейший шаг — приготовление микропрепаратов. В первую очередь, на что следует обратить внимание, — это используемые красители. Стандартная окраска гематоксилином и эозином плохо подходит для оценки фиброзных изменений, в то время как специализированные окраски, такие как Пикро Маллори или окраска по Ван Гизону, обеспечивают четкую визуализацию рубцовой ткани и диффузных изменений, что является ключевым моментом для моделей инфаркта или токсического повреждения. Последний

этап — морфологическая оценка структур сердца. Лектор в своем докладе приводит конкретные примеры морфометрического анализа: следует проводить не просто измерение площади рубца, а расчет его отношения к общей площади стенки желудочка с учетом эндокардиальной и эпикардиальной протяженности, что позволяет нивелировать ошибку, связанную с истончением рубца. Для оценки ремоделирования предлагается измерение размеров рубца и межжелудочковой перегородки. Индекс дилатации предлагается оценивать как отношение площади полости левого желудочка к площади всего желудочка. При этом отмечено преимущество оценки площадей над линейными размерами, что позволяет получить более точные результаты и лучше транслировать данные между исследованиями.

Наталья Ильинична Ярушкина в своем докладе «[Экспериментальные модели на крысах для оценки влияния физической активности на функциональное состояние организма: персонализированный подход](#)» осветила методику оценки влияния физической активности у животных. Адекватный выбор и применение экспериментальных моделей физической активности на животных являются критически важным условием для получения достоверных и клинически релевантных данных о влиянии физической нагрузки на организм, при этом ключевое значение имеет не только сам факт применения нагрузки, но и ее характер (добровольный или принудительный), интенсивность и продолжительность, что в совокупности определяет конечный физиологический эффект, который может быть как позитивным, так и негативным. В качестве примера Н.И. Ярушкина приводит две принципиально разные модели оценки физической активности у крыс: принудительный бег на тредбане и добровольный бег в колесе. Модель принудительного бега, оснащенная системой стимуляции (шокерами) и компьютером для учета параметров (интенсивность, длительность, пройденное расстояние), позволяет четко контролировать нагрузку, что является ее ключевым преимуществом. С помощью этой модели был показан выраженный гастропротективный эффект регулярных тренировок, проявлявшийся в уменьшении площади эрозий слизистой оболочки желудка, вызванных введением индометацина. При этом на модели добровольного бега в колесе, где животное само регулировало свою активность, показано, что фактор регулярной физической активности является принципиально важным. Однократный добровольный бег не только не оказывал защитного действия, но и усугублял повреждения желудка. Однако при регулярном ежедневном доступе животных к колесу на модели добровольного бега также был отмечен гастропротективный эффект. При этом на модели повреждения слизистой оболочки желудка индометацином был показан как профилактический, так и терапевтический эффект регулярной физической нагрузки. В качестве способа контроля интенсивности нагрузки докладчик предлагает использовать регистрацию поверхностной температуры тела крысы. Приводятся данные о более высокой эффективности профилактического применения бега при условии дозирования его продолжительности на основе изменения температуры тела. Лектор указывает, что модель принудительного бега может быть использована и в качестве диагностического инструмента. При этом на модели диабета, индуцированного стрептозотоцином показано: резкое падение работоспособности и выносливости на беговой дорожке является ранним и объективным индикатором развития патологического состояния.

Экспериментальная фармакология невозможна без анестезии лабораторных животных. Согласно рекомендациям Коллегии ЕЭК от 14 ноября 2023 г. № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований», а также Директиве 2010/63/EU, животным при определенных процедурах необходимо обеспечивать анестезию. От качества анестезии и последующей аналгезии зависит скорость восстановления животного и, как следствие, — конечный результат эксперимента (Oh S.S., Narver H.L., 2024).

В своем докладе «Анестезия лабораторных животных: актуальные проблемы и возможные пути их решения» Иван Александрович Рыжков отметил, что во многих научных и образовательных организациях, где практикуется анестезия лабораторных животных, нет соответствующего анестезиологического оборудования (наркозные аппараты, мониторы, подогреваемые столики). По мнению Ивана Александровича, изофлуран или севофлуран являются препаратами выбора для проведения ингаляционной анестезии лабораторным животным при наличии соответствующего наркозного оборудования, квалификации персонала и аналгезии. Поскольку большинство анестетиков в той или иной степени угнетают дыхание, то в качестве газа-носителя для ингаляционного анестетика рекомендует использовать кислородно-воздушную смесь или кислород. Докладчик обратил внимание присутствующих на то, что в отличие от ингаляционной анестезии инъекционные анестетики менее управляемы и имеют большую вариабельность эффектов у особей разных видов или линий. Комбинированная анестезия позволяет дополнить желаемые эффекты разных анестетиков и минимизировать их нежелательное действие. Среди важных аспектов И.А. Рыжков выделил мониторинг глубины анестезии, параметров дыхания и кровообращения, что позволяет вовремя выявить, предупредить и лечить осложнения анестезии и хирургического вмешательства.

Анестезия может влиять на воспроизводимость экспериментальных модельных патологий. L. Cicero и соавт. (2018), обращали внимание сообщества специалистов по работе с лабораторными животными на: а) недостаточную информацию о методах анестезии в экспериментальных исследованиях; б) небольшую выборку животных; в) отсутствие общепринятых рекомендаций по предоставлению анестезии в определенных исследованиях (Cicero, L., Fazzotta, S. и соавт., 2018).

Дмитрий Юрьевич Акимов, в докладе «Влияние анестезии на качество доклинических исследований» обратил внимание слушателей, что не только боль и стресс, но и само воздействие, оказываемое анестезией, влияют на сердечно-сосудистую, дыхательную, иммунную и метаболическую системы лабораторных животных. Это может исказить получаемые в ходе эксперимента данные, поэтому для минимизации такого влияния необходимо соотносить степень тяжести процедур с уровнем анестезии и требуемой аналгезией, учитывая рекомендации ЕЭК от 14 ноября 2023 г. № 33. Докладчик рассказал о возможных эффектах препаратов, которых можно добиться с помощью их комбинации (табл. 3).

Лектор отметил, что у грызунов (мышей, крыс, морских свинок) только на максимальной дозе тилетамин-золазепам наблюдались признаки диссоциативной анестезии, снижение рефлексов менее чем на 50%, это дает возможность регистрировать частоту дыхательных движений (ЧДД) и артериальное давление (АД), одна-

| Наименование препарата | Ксилазин | Медетомидин | Дексмедетомидин |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | Агонист $\alpha 2$ -адренорецепторов | Агонист $\alpha 2$ -адренорецепторов | Агонист $\alpha 2$ -адренорецепторов |
| Ксилазин | Миорелаксация | Не целесообразно | Не целесообразно |
| Медетомидин | Не целесообразно | Общая анестезия | Не целесообразно |
| Дексмедетомидин | Не целесообразно | Не целесообразно | Общая анестезия |
| Тилетамин + золазепам | Общая анестезия | Общая анестезия | Общая анестезия |
| Кетамин | Общая анестезия | Общая анестезия | Общая анестезия |
| Изофлуран | Сон, миорелаксация | Общая анестезия | Общая анестезия |
| Пропофол | Сон, миорелаксация | Общая анестезия | Общая анестезия |

ко выполнить регистрацию ЭКГ нельзя. При использовании ксилазина у животных выражена миорелаксация, доступно измерение ЧДД и АД, но не проведение ЭКГ. Комбинация тилетамин-золазепам с ксилазином в зависимости от дозы может удовлетворять потребностям процедур от легкой до тяжелой степени тяжести, обеспечивая достаточный сон и анальгезию.

Д.Ю. Акимов обратил внимание, что тилетамин-золазепам, часто используемый для анестезии кроликов, может вызывать обратимые нефротоксические эффекты, повышая уровень креатинина и мочевины в крови в дозе 10 мг/кг. Однако в дозе до 7,5 мг/кг такого действия не отмечено. В работе D.W. Brammer и соавт. (1991) сказано, что именно тилетамин, а не золазепам отвечает за данный эффект (Brammer D.W., Doerning B.J. и соавт., 1991). Для процедур, относящихся к легкой степени тяжести, лектор видит перспективным использовать пропофол или газовую анестезию (изофлуран, севофлуран и др.); для умеренной степени тяжести лучше комбинировать пропофол или изофлуран с дексмедетомидином, тилетамин-золазепамом, кетамином; для тяжелых процедур можно применять кетамин и мульти-модальную анестезию.

Для проведения процедур легкой степени тяжести у карликовых свиней спикер предложил использовать пропофол, комбинацию ксилазина с изофлураном; для умеренных процедур следует комбинировать вышеприведенные препараты с трамалом, дексмедетомидином; для тяжелых процедур применять ксилазин + тилетамин-золазепам, ксилазин + кетамин + пропофол или иные приемы, такие как мульти-модальная и регионарная анестезия.

Лектор отметил, что список препаратов выбора для собак и кошек достаточно широкий, и имеются протоколы анестезиологического обеспечения в зависимости

Таблица 3

коммерчески доступных анестетиков

| Тилетамин + золазепам | Кетамин | Изофлуран | Пропофол |
|--|----------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| Тилетамин — антагонистов NMDA-рецепторов; золазепам — ГАМК-модулятор | Антагонист NMDA-рецепторов | Агонист $\alpha 1$ рецептора ГАМК | Ингибитор ГАМК через ГАМК-А рецепторы |
| Общая анестезия | Общая анестезия | Сон, миорелаксация | Сон, миорелаксация |
| Общая анестезия | Общая анестезия | Общая анестезия | Общая анестезия |
| Общая анестезия | Общая анестезия | Общая анестезия | Общая анестезия |
| Не целесообразно | Не целесообразно | Общая анестезия | Общая анестезия |
| Не целесообразно | Общая анестезия | Общая анестезия | Общая анестезия |
| Общая анестезия | Общая анестезия | Сон | Сон |
| Общая анестезия | Общая анестезия | Сон | Сон |

от степени тяжести процедуры. Кроме того, пропофол в дозе 10 мг/кг схоже влияет на кошек и собак, снижая ЧДД и АД.

Д.Ю. Акимов поделился опытом анестезиологического обеспечения яванских макаков для процедур легкой степени тяжести на примере комбинации пропофол + изофлуран; для умеренной степени тяжести процедур — тилетамин-золазепам + изофлуран; для тяжелых процедур — кетамин + изофлуран с дексмететомидином и без него.

В дополнение к предыдущим лекторам выступила Анастасия Евгеньевна Носова с докладом «Альгезия лабораторных животных при отсутствии опиоидов. Схемы и дозировки», которая предложила ряд приемов для обезболивания некоторых видов лабораторных животных.

Альгезия крыс. Лидокаин внутривенно в дозе 1,5–2,5 мг/кг/ч либо 30–50 мкг/кг/мин; медетомидин 0,25–2 мкг/кг/ч; дексмететомидин 0,5–2 мкг/кг/ч; мелоксикам 0,1–0,5 мг/кг 1 раз в сутки; метамизол натрия (спазмалгон, анальгин, баралгин) 20–50 мг/кг 2–3 раза в сутки; серения 1–2 мг/кг 1–2 раза в сутки; габапентин 30–50 мг/кг 2–3 раза в сутки; кетопрофен 1–2 мг/кг 1 раз в сутки; лидокаин 30–40 мкг/кг/мин + дексмететомидин 0,125–1 мкг/кг/ч.

Альгезия морских свинок. Лидокаин внутривенно в дозе 1,5–2,5 мг/кг/ч либо 30–50 мкг/кг/мин; медетомидин 0,25–2 мкг/кг/ч; дексмететомидин 0,5–2 мкг/кг/ч; мелоксикам 0,1–0,5 мг/кг 1 раз в сутки; метамизол натрия (спазмалгон, анальгин, баралгин) 20–50 мг/кг 2–3 раза в сутки; серения 1–2 мг/кг 1–2 раза в сутки; габапентин 30–50 мг/кг 2–3 раза в сутки; кетопрофен 1–2 мг/кг 1 раз в сутки; лидокаин 30–40 мкг/кг/мин + дексмететомидин 0,1–1 мкг/кг/ч.

Альгезия кроликов. Мелоксикам в дозе 0,5–1 мг/кг 1 раз в сутки; метамизол натрия (спазмалгон, анальгин, баралгин) 25–50 мг/кг 2–3 раза в сутки; маропитант

1–2 мг/кг 1–2 раза в сутки; габапентин 20–30 мг/кг 2–3 раза в сутки; медетомидин 0,25–2 мкг/кг/ч; дексмедетомидин 0,12–3 мкг/кг/ч; лидокаин 1,5–3 мг/кг/ч либо 25–60 мкг/кг/мин; карпрофен 4 мг/кг 1–2 раза в сутки; кетопрофен 1–4 мг/кг подкожно, внутримышечно 1–2 раза в сутки; флупиртин 1,5 мг/кг 2–3 раза в сутки; лидокаин 30–40 мкг/кг/мин + дексмедетомидин 0,12–1 мкг/кг/ч.

В ходе доклинических исследований, направленных на изучение токсичности соединений или моделирование патологических состояний, экспериментальные животные нередко испытывают значительные страдания, что ставит под сомнение этическую допустимость таких работ и может негативно отражаться на достоверности получаемых данных. При этом применение обезболивающей и поддерживающей терапии ограничено действующими нормативами: ветеринарное вмешательство допускается лишь в тех случаях, когда оно не оказывает влияние на исследуемые параметры, что создает серьезный этический и методический конфликт. Эти вопросы обсуждались на сессии GLP-planet «Гуманная экспериментальная техника».

В рамках сессии выступила Дарья Михайловна Карачевцева с докладом «**Этические аспекты техники парентерального пути введения лабораторным животным**». Техническое совершенство выполнения парентеральных инъекций у лабораторных животных, включая точный выбор места введения, угла наклона иглы и корректного размера катетера, является фундаментальным аспектом гуманного выполнения процедуры введения, поскольку минимизирует болевые ощущения, травматизацию тканей и стресс животного.

Екатерина Сергеевна Кукушкина представила свой доклад «**Допустимые объемы введения в разные структуры глаза у лабораторных животных**» (Кукушкина Е.С., Маркарова М.Н. и соавт., 2025). Учет видовых анатомических особенностей и физиологических ограничений при введении препаратов в структуры глаза является фундаментальным условием гуманного проведения офтальмологических исследований, поскольку позволяет достичь научных целей, минимизируя боль, дистресс и риск осложнений у лабораторных животных. Рациональный расчет объема вводимого вещества, который должен быть достаточен для эффективности, но не превышать физиологическую емкость структуры глаза, является одним из главных аспектов при проведении манипуляций введения, позволяющим избежать травмирующего повышения внутриглазного давления. Выбор вида животного должен быть обоснован не только удобством исследования (например, кролики из-за большой площади роговицы), но и соразмерностью его анатомии задачам исследования.

В дополнение к предыдущим докладчикам Анастасия Александровна Сапрыкина выступила с докладом «**Эндотрахеальный и интраназальный пути введения**». Прогресс в фармакологии, появление новых терапевтических мишеней диктуют необходимость освоения более специфических путей введения, таких как эндотрахеальный и интраназальный. Выбор вида животного, соблюдение биоэтических аспектов, определение дозы препаратов для анестезии, объем введения, оборудование для проведения манипуляций и компетентность персонала являются ключевыми моментами при проведении данных манипуляций. Стоит помнить, что разные виды животных имеют свои преимущества и недостатки. При выборе животных стоит обратить внимание на такие ключевые моменты, как возможность воспро-

изведения необходимой для исследования патологии, анатомические особенности дыхательной системы и иммунного ответа, а также наличие необходимых видоспецифических реагентов.

Алена Александровна Головина представила доклад «**Офтальмотонометрия для оценки фармакологической безопасности**». Тонометрия является важным неинвазивным методом отслеживания внутриглазного давления. Эффективность и гуманность выполнения тонометрии напрямую зависят от видовых особенностей животных. Кролики являются идеальной тест-системой, поскольку они инстинктивно замирают при обследовании, что позволяет провести точные измерения без фиксации и седации животных. При этом хорьки, которые при фиксации проявляют сильное беспокойство, и карликовые свиньи, реагирующие на стресс оглушительным криком, приводящим к скачку внутриглазного давления, являются менее подходящими видами, поскольку измерение глазного давления становится источником значительного дистресса и дает артефактные результаты. Наиболее показателен пример с мышами, где попытка измерения признана не просто нерезультативной, но и негуманной из-за несоответствия размера их глаза и зонда прибора, что могло бы причинить животному дискомфорт.

Подходы к гуманному формированию внутрилабораторных норм на примере массовых коэффициентов внутренних органов животных представила Антонина Юрьевна Бородина. Формирование внутрилабораторных норм может и должно осуществляться путем ретроспективного анализа накопленных данных, что позволяет избегать целенаправленного умерщвления животных исключительно для нормативных целей. Особенно показателен пример с хомяками, где сбор информации от 260 животных занял несколько лет именно потому, что этот вид используется реже, что подчеркивает, как систематический учет данных даже от редких экспериментов постепенно создает ценный ресурс, избавляющий от необходимости проводить новые опыты. Формирование референтных интервалов является непрерывным процессом и должно учитывать специфику конкретной лаборатории. В качестве примера лектор привела данные по массе крыс, у которых за 10-летие масса тела увеличилась на 15–20%, что делает устаревшие нормы, указанные в литературе, нерелевантными.

Валерия Александровна Вавилова в своем докладе «**Методы отбора ликвора в доклинических исследованиях**» рассказала о методах отбора ликвора у лабораторных животных. Анализ ликвора представляет ценную информацию для диагностики и дифференциальной диагностики многих органических и неврологических заболеваний воспалительной и инфекционной природы, мозговых и спинальных кровотечений, опухолевых процессов, лейкозов и других функциональных расстройств центральной нервной системы. Отбор ликвора является технически сложной и инвазивной процедурой, требует строгого соблюдения гуманных принципов, которые реализуются через тщательный подбор метода и места пункции в зависимости от вида животного, контроль объема отбираемой жидкости для предотвращения осложнений и использование усовершенствованных инструментов для минимизации травматичности. Например, для мышей в силу их малых размеров прижизненный отбор ограничивается 30 мкл, а возможность повторного взятия может быть затруднена из-за высоких рисков повреждения ЦНС и инфицирования.

Для крыс, напротив, отмечается относительная легкость многократного прижизненного отбора (до 200 мкл суммарно), что позволяет проводить наблюдения в динамике, избегая включения излишнего количества животных в исследование. Особый акцент делается на соблюдение безопасных объемов, например, у кроликов вместо теоретически возможного 1 мл рекомендуется брать не более 300 мкл ликвора, чтобы исключить негативные последствия для здоровья животного. Важным аспектом является использование специальных игл и канюль для пункции, что повышает точность манипуляции и снижает травматизацию, а также проведение правильной фиксации животного, что обеспечивает безопасность как для него, так и для персонала.

При планировании исследований на животных необходимо учитывать все контрольные точки в эксперименте, когда животные могут испытывать боль и стресс.

Одной из важных экспериментальных точек является выбор пути и объемов введения. Согласно нормативным документам, введение тестируемого объекта животным должно соответствовать планируемому способу применения в клинической практике. При выборе вида животного необходимо учитывать допустимые объемы введения, а также в целом техническую возможность необходимого типа введения.

Следующая важная экспериментальная точка — взятие биологического материала. При планировании исследования стоит учитывать не только возможность получения достаточного количества биоматериала, но и техническую возможность его получения. Например, при планировании изучения кинетических параметров препарата X для определения аналита в крови необходимо минимум 2 мл крови, количество необходимых точек взятия крови должно быть 10 за 24 ч. В данном случае общее количество крови, забранное у животного за сутки, составит порядка 20 мл. В таком случае мышь как тест-система не подойдет, и скорее всего будет разумнее выбрать более крупное животное, такое как кролик или карликовая свинья.

Одним из гуманных и современных способов получения биологического материала является биопсия. Данный метод диагностики позволяет проводить прижизненный сбор клеток или тканей из организма лабораторного животного для последующего исследования. Существуют различные виды биопсии, которые можно использовать в качестве малоинвазивных методов исследования при оценке промежуточных точек в доклинических исследованиях. Проведение биопсии позволяет привести к сокращению количества животных в эксперименте, а также исключить необходимость проведения эвтаназии животных для диагностики различных патологий.

Елизавета Владимировна Мазукина в своем докладе «Гуманные экспериментальные точки» затронула проблему выбора гуманных конечных точек эксперимента. Одним из подходов к решению этой проблемы является определение критериев, которые могут служить основанием для досрочного окончания эксперимента, чтобы прекратить или избежать боли и страданий, но при этом достичь целей исследования. Наиболее распространенное определение гуманных конечных точек (ГКТ) представлено в OECD № 19 и определяет их как «самый ранний признак в эксперименте на животных, свидетельствующий о сильной боли, тяжелом состоянии, страданиях или приближающейся смерти».

Одна из гуманных конечных точек в эксперименте — передача животных в ветеринарную службу. Данная ГКТ может быть применена, когда проводимые с животными процедуры не приведут к необратимым последствиям для их жизни и здоровья, манипуляции критически не нарушают работу основных органов и систем организма.

В зависимости от типа исследования конечные гуманные точки могут меняться. Для начала необходимо определить, чем вызвано изменение общего состояния животного, — это воздействие тестируемого объекта и/или индукции патологии, либо, наоборот, оно не связано с проведением манипуляций в рамках эксперимента. При необходимости стоит провести дополнительные исследования, подтверждающие или опровергающие влияние исследуемого объекта. Установить последовательность действий для выяснения причин боли и страдания животного, включая методы обследования, критерии подтверждения и исключения альтернативных влияний на состояние животного. Затем необходимо обозначить дальнейшую стратегию лечения животного. Важно учитывать, остается животное в эксперименте или нет, а также прогноз терапии и ее целесообразность.

При проведении разных типов исследований у животных могут возникнуть различные состояния, после выявления которых необходимо принять решения об эвтаназии или проведении реанимационных мероприятий. В табл. 4 представлены состояния животных, при которых грызунов, как правило, стоит эвтаназировать, а крупным животным провести реанимационные мероприятия.

При проведении исследований, направленных на изучение токсических свойств при многократном введении с периодом отсроченного наблюдения, выявление у тестируемого объекта токсических эффектов, проявляющихся в виде изменений клинического состояния или случаев гибели, может быть затруднено распределение животных на точки плановой эвтаназии. Основным принципом распределения животных на эвтаназию является отбор большинства животных для этой процедуры по окончании периода введения для определения органов-мишеней. Однако при этом не стоит забывать про обратимость выявленных изменений и оставлять часть животных на эвтаназию после периода отсроченного наблюдения. В каждом конкретном случае необходимо учитывать все вводные данные и основные цели и задачи исследования.

В исследованиях на моделях онкологических заболеваний в дополнение к признакам, представленным в табл. 4, в качестве гуманных конечных точек могут быть использованы следующие показатели:

- продолжительная неподвижность;
- летаргия;
- потеря в массе тела на 20% и более от исходной;
- превышение размера опухоли 20 мм в диаметре (если у животного обнаружено более одной опухоли, этот размер является максимально допустимым для всех опухолей в совокупности).

При проведении эксперимента на генетически модифицированных животных необходимо учитывать их особенности и исходя из этого определять конечные гуманные точки в эксперименте.

Методы эвтаназии должны приводить к быстрой потере сознания, сопровождающейся остановкой сердца и дыхания, окончательной потерей функции моз-

Показатели гуманных конечных точек

| | |
|------------------------------------|---|
| Сердечно-сосудистая система | <ul style="list-style-type: none"> • Остановка сердечной деятельности; • все виды шока при появлении классических диагностических критериев (холодные и бледные кожные покровы, нарушение сознания, нитевидный пульс); • острая сердечная недостаточность, сопровождающаяся дыхательной недостаточностью или требующая гемодинамической поддержки; • гидроперикард, сопровождающийся гемодинамической нестабильностью; • острый период крупноочагового инфаркта миокарда; • кардиогенный шок; • аритмии, сопровождающиеся гемодинамической нестабильностью (значимое снижение систолического АД); • расслоение аневризмы брюшной аорты; • полный атриовентрикулярный блок; • урежение пульса более чем на 20% или учащение более чем на 50% (с учетом эмоционального возбуждения); • систолическое АД менее 10% от верхней границы нормы; • диастолическое АД более 10% от нижней границы нормы |
| Дыхательная система | <ul style="list-style-type: none"> • Острая дыхательная недостаточность, сопровождающаяся одышкой, удушьем, ахипноз, цианозом, беспокойством, возбуждением, тахикардией, потерей сознания; • массивное кровохарканье; • обструкция дыхательных путей; • легочная эмболия, сопровождающаяся гемодинамической нестабильностью (значимое снижение систолического АД); • частота дыханий более чем 10% от нижней границы нормы |
| Нервная система | <ul style="list-style-type: none"> • Метаболическая, токсическая или гипоксическая кома; • внутримозговое кровоизлияние с клиникой сдавления мозга; • эпистатус (эпилептические судорожные припадки и судороги); • паралич конечностей; • тяжелая черепно-мозговая травма; • появление анизокории и нарушения сознания, отсутствие реакции зрачков на свет; • менингит, являющийся причиной нарушения сознания или дыхания; • центральные или нервно-мышечные нарушения, сопровождающиеся прогрессирующим ухудшением нервно-мышечного статуса или функции дыхания |

Окончание таблицы 4

| | |
|---|--|
| Пищеварительная система | <ul style="list-style-type: none"> • Тяжелый панкреатит, сопровождающийся признаками нарушения сознания и респираторного дистресса; • асцит; • перфорация пищевода; • желудочно-кишечное кровотечение, сопровождающееся гипотензией, продолжающимся кровотечением; • острая печеночная недостаточность (желтушность слизистых оболочек, кожи и глаз) |
| Травмы и хирургические манипуляции | <ul style="list-style-type: none"> • Септический шок и тяжелый сепсис; • различные травмы не совместимые с жизнью (вследствие драк обширные кусаные раны и др.); • животные в послеоперационный период, нуждающиеся в проведении респираторной поддержки, расширенного гемодинамического мониторинга или создании индивидуального ухода; • интракраниальное кровотечение, ушиб мозга или субарахноидальное кровотечение с признаками нарушения сознания или очаговой симптоматикой; • разрыв внутренних органов, желчного пузыря, печени, матки, сопровождающиеся гемодинамической нестабильностью; • анурия |
| Лабораторные данные | <ul style="list-style-type: none"> • Натрий плазмы менее 110 или более 170 ммоль/л; • калий плазмы менее 2 или более 7 ммоль/л; • PaO₂ менее 50 мм рт. ст.; • pH менее 7,1 или более 7,7; • глюкоза более 29 ммоль/л при отсутствии выставленного диагноза сахарного диабета |

га, а также быть надежными и необратимыми. Кроме того, используемая техника должна минимизировать боль и эмоциональный стресс, испытываемый животным до момента потери сознания. Также немаловажным в выборе метода эвтаназии является научный интерес и влияние метода эвтаназии на биологический материал, получаемый от животных.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гомзикова М.О., Маланьева А.Г., Сираева З.Ю. Основы проведения биомедицинских исследований на лабораторных животных. Казань: МедДоК, 2021. С. 90–92.
2. Енгальчева Г.Н., Сюбаев Р.Д. Выбор релевантных видов животных для проведения доклинических исследований безопасности лекарственных средств: об-

- зор // Безопасность и риск фармакотерапии. 2024. С. 31–43. DOI: [10.30895/2312-7821-2025-460](https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-460).
3. Богачева Н.В., Зайцева И.В. и др. Основные проблемы экспериментальных исследований новых иммунобиологических препаратов на биологических моделях лабораторных животных // Вятский медицинский вестник. 2020. № 4(68). С. 74–81. DOI: [10.24411/2220-7880-2020-10135](https://doi.org/10.24411/2220-7880-2020-10135).
 4. Hau J., Schapiro S.J., Van Hoosier Jr G.L. Handbook of laboratory animal science: Animal Models, Volume II. 3rd ed. CRC press. 2011. P. 2. DOI: [10.1201/9781420040920](https://doi.org/10.1201/9781420040920).
 5. Tazetdinov A.M., Takhirova Z.R. et al. Model Animals Used in Biomedical Research // Opera Medica et Physiologica. 2023. Vol. 10. N. 2. P. 103–125. DOI: [10.24412/2500-2295-2023-2-103-125](https://doi.org/10.24412/2500-2295-2023-2-103-125).
 6. Oh S.S., Narver H.L. Mouse and rat anesthesia and analgesia // Current protocols. 2024. Vol. 4. N. 2. P. e995. DOI: [10.1002/cpz1.995](https://doi.org/10.1002/cpz1.995).
 7. Cicero L., Fazzotta S. et al. Anesthesia protocols in laboratory animals used for scientific purposes // Acta Bio Medica: Atenei Parmensis. 2018. Vol. 89. N. 3. P. 337. DOI: [10.23750/abm.v89i3.5824](https://doi.org/10.23750/abm.v89i3.5824).
 8. Brammer D.W., Doerning B.J. et al. Anesthetic and nephrotoxic effects of Telazol in New Zealand white rabbits // Laboratory animal science. 1991. Vol. 41. N. 5. P. 432–435.
 9. Кукушкина Е.С., Макарова М.Н., Матичин А.А. Объемы и пути введения лекарственных средств в разные структуры глаза у лабораторных животных // Лабораторные животные для научных исследований. 2025. № 1. С. 82–92. DOI: [10.57034/2618723X-2025-01-06](https://doi.org/10.57034/2618723X-2025-01-06).

Доклинические аспекты фармацевтической разработки препаратов генной и клеточной терапии

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-s3>

К.Л. Крышень¹, В.П. Баклашев², О.А. Григорьева³, А.В. Дейкин⁴, М.Н. Егорихина⁵, Н.И. Енукашвили^{6,7}, М.А. Зайцева⁸, П.И. Макаревич³, А.О. Монакова³, В.В. Мун⁹, Я.Г. Муразов¹, В.О. Небогатиков¹⁰, Д.А. Рождественский¹¹, А.А. Таубэ¹², А.А. Устюгов¹⁰

¹ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

² ФГБУ «ФЦМН» ФМБА России,

³ МГУ им. М.В. Ломоносова,

⁴ Объединенный центр генетических технологий НИУ «БелГУ»,

⁵ ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России,

⁶ Центр клеточных технологий «Покровский»,

⁷ ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России,

⁸ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,

⁹ ИБР РАН,

¹⁰ ФИЦ ПХФ и МХ РАН (ИФАВ РАН),

¹¹ Департамент технического регулирования и аккредитации Евразийской экономической комиссии,

¹² ИПО ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)

Введение

Современные биомедицинские технологии развиваются с неудержимой скоростью. Уровень организации «живой материи» в исследованиях механизмов возникновения и прогрессирования болезней, изучении перспективных методов их лечения расширился от органов и тканей до клеточного и генетического уровней, затрагивая саму суть человеческой жизни. За последние 30 лет благодаря развитию молекулярно-биологических методов, расшифровке генома и способов его редактирования, исследованию потенциала использования соматических клеток человека, роли отдельных генов в патогенезе заболеваний мы стали свидетелями новой эры в медицине.

Препараты генной и клеточной терапии представляют собой принципиально новый класс биомедицинских продуктов, разработка которых является сложной научной задачей. В отличие от традиционных лекарственных средств эти препараты характеризуются не только уникальными свойствами и механизмами действия, но и осо-

быми рисками клинического применения (например, риск инсерционного мутагенеза, активации протоонкогенов и др.), что обуславливает необходимость создания специализированных методологических подходов к их доклиническому изучению.

Настоящая глава посвящена рассмотрению ключевых аспектов фармацевтической разработки препаратов генной и клеточной терапии, включая оценку их безопасности, эффективности и качества. Особое внимание уделяется методологическим особенностям изучения этих инновационных лекарственных средств, а также специфике оценки их терапевтического потенциала.

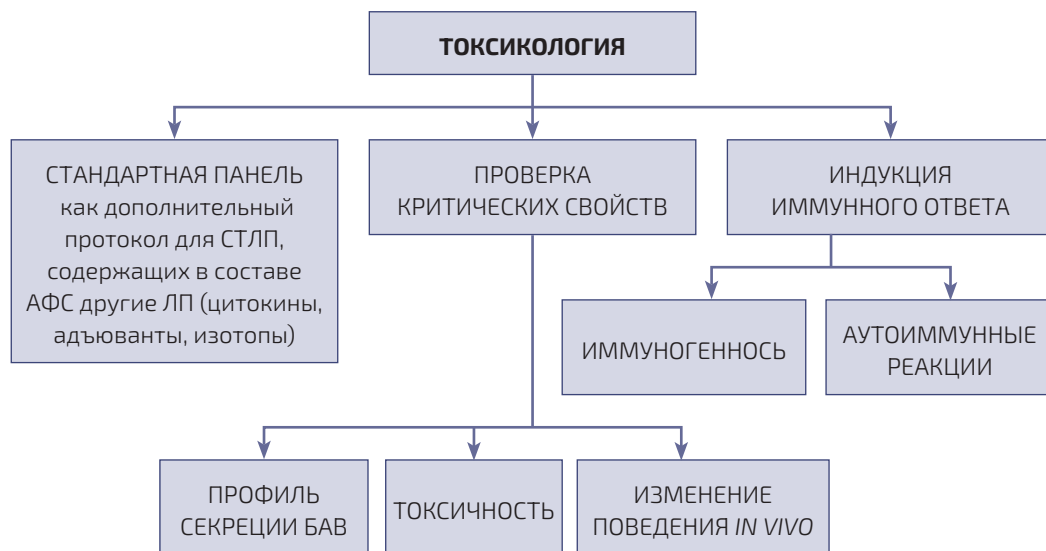
Цели и задачи доклинических исследований. Программа исследований безопасности

Законодательная система регулирования разработки и доклинических исследований препаратов генной и клеточной терапии в рамках Евразийского экономического союза находится на стадии формирования и на сегодняшний день ограничена двумя главами 89-го решения совета ЕЭК¹, посвященных качеству, доклиническим и клиническим аспектам разработки и изучения лекарственных препаратов на основе соматических клеток человека (Глава 31), а также лекарственных препаратов, содержащих генетически модифицированные клетки (Глава 32).

По мере развития и становления генной и клеточной терапии становится очевидной необходимость более детального изучения специфических особенностей этих препаратов. Как отметил в своем докладе «[Регулирование фармацевтической разработки высокотехнологичных лекарственных препаратов: доклинические аспекты](#)» Дмитрий Анатольевич Рождественский, в отличие от классических лекарственных средств на основе низкомолекулярных субстанций доклиническая оценка безопасности препаратов генной и клеточной терапии направлена не на поиск токсических доз и органов-мишеней токсического воздействия, а на подтверждение сохранения исходных свойств и характеристик качества лекарственного средства. При этом если качество традиционных препаратов обеспечивается в первую очередь контролем известных примесей в готовой лекарственной форме, то для этих классов препаратов критически важна постоянная верификация функциональных свойств на всех этапах жизненного цикла.

Стандартная токсикологическая панель исследований для препаратов генной и клеточной терапии применяется ограниченно. В частности, для препаратов генной терапии допустимо исследование токсичности только при однократном введении, если такой режим применения планируется в клинической практике. Особое внимание уделяется характеристике профиля секреции биологически активных веществ клеточных продуктов и изменений в поведении клеточной системы. Значительное место в программе изучения безопасности препаратов генной терапии занимает оценка рисков инсерционного мутагенеза, мобилизации и рекомбинации вектора. В исследование безопасности необходимо также включать отдельный блок изучения иммунного ответа, который в отличие от подходов к биотехнологическим пре-

¹ Решение Совета ЕЭК от 03.11.16 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».



СТЛП — лекарственный препарат на основе соматических клеток;

АФС — активная фармацевтическая субстанция;

ЛП — лекарственные препараты; БАВ — биологически активные вещества.

Рис. 1. Объем токсикологических исследований для препаратов генной и клеточной терапии. Прочие виды изучения безопасности включают оценку местной переносимости, туморогенности и онкогенности, репродуктивной и онтогенетической токсичности (при персистенции вектора/трансгена в гонадах) (по материалам доклада Д.А. Рождественского)

паратам включает не только анализ иммуногенности, но и оценку потенциальной способности вызывать аутоиммунные реакции (рис. 1).

Характерной особенностью изучения первичной фармакодинамики препаратов генной или клеточной терапии является изначальная предопределенность механизма действия. Если для традиционных лекарственных средств процесс разработки характеризуется необходимостью скрининга молекул с целью идентификации их взаимодействия с основной биологической мишенью, то в случае генотерапевтических лекарственных препаратов (ГТЛП) первичная фармакодинамическая реакция уже определена на этапе проектирования — она опосредована встроенным генетическим конструктом или специфическим тропизмом к определенным клеточным популяциям. Данное фундаментальное различие исключает классический этап поиска первичной фармакологической мишени, смещая фокус исследований на подтверждение специфичности доставки и экспрессии трансгена.

Учитывая сложность и разнообразие препаратов генной и клеточной терапии, разработка универсальных требований к их доклиническому изучению представляется невыполнимой задачей. Как отметила в своем докладе Александра Альбертовна Таубэ **«Регуляторные аспекты доклинических исследований генотерапев-**

тических лекарственных препаратов», для высокотехнологичных лекарственных препаратов требуется индивидуальный подход к формированию программы доклинических исследований. Дизайн доклинических исследований должен учитывать уникальные свойства каждого препарата, включая его векторную основу, лекарственную форму, потенциальные риски клинического применения.

Исследования онкогенности и туморогенности

Для доклинической оценки рисков онкогенного потенциала разработан ряд специализированных моделей, включая тест иммортализации *in vitro* (IVIM, *in vitro* immortalization assay) на мышинных клетках костного мозга, анализирующий трансформирующий потенциал векторов, а также различные *in vivo* подходы: трансплантацию генетически модифицированных гемопоэтических клеток мышам дикого типа, использование линий с генетической предрасположенностью к онкогенезу. В частности, применяются мыши с нокаутом гена *Cdkn2a*^{-/-}, в норме кодирующего ключевые супрессоры опухолевого роста, у которых инактивация этого гена значительно ускоряет развитие опухолей и повышает частоту выявления вектор-индуцированных онкогенных событий по сравнению с обычными моделями².

Изучение онкогенного потенциала проводят также и для клеточных продуктов. Онкогенная активность клеточного субстрата может быть обусловлена онкогенными компонентами, присутствующими в клетке (клеточной или вирусной ДНК, РНК или трансформирующими белками). Согласно ОФС.1.7.2.0011.15³, изучение онкогенности проводят в системе *in vivo*, вводя экспериментальным животным клеточный лизат. В качестве тест-системы используют различные модели, например, новорожденных бестимусных мышей (генотип Nu/Nu) не старше 24 ч, новорожденных крыс или хомячков не старше 24 ч; новорожденных мышей линии NIH Swiss.

Еще одним потенциальным риском для клеточных продуктов (препаратов на основе соматических клеток млекопитающих) является их злокачественная трансформация при введении в организм.

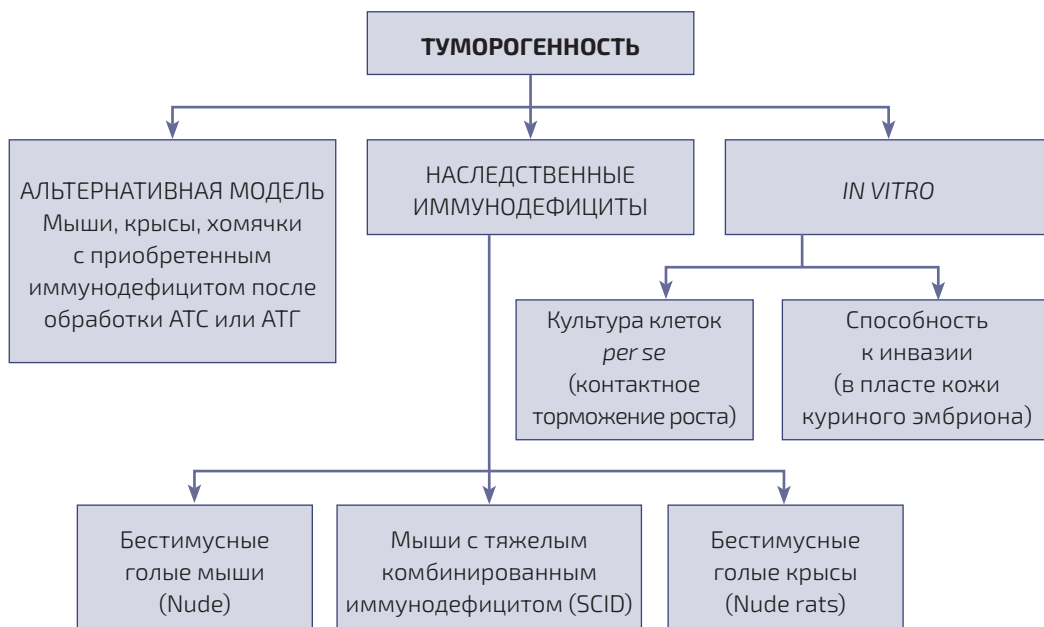
Как отметил в своем докладе Д.А. Рождественский, требуется четко понимать разницу между такими терминами, как «онкогенность» и «туморогенность». Под онкогенностью подразумевается способность клеток или другого ДНК-содержащего материала вызывать опухолевую трансформацию клеток реципиента вследствие переноса онкогенов; туморогенность — потенциал клеток или тканей подвергаться опухолевой трансформации при их введении непосредственно в организм.

Для оценки туморогенной активности клеток применяются как *in vivo*, так и *in vitro* подходы (рис. 2).

Исследования *in vitro* включают два основных метода, основанных на характерных особенностях злокачественно трансформированных клеток — их способности

² Reflection paper on management of clinical risks deriving from insertional mutagenesis EMA/CAT/GTWP/190186/2012.

³ ОФС.1.7.2.0011.15. Общая фармакопейная статья. «Требования к клеточным культурам — субстратам производства биологических лекарственных препаратов» (утв. и введена в действие Приказом Минздрава России от 31.10.18 № 749. («Государственная фармакопея Российской Федерации», 14-е изд. Т. 2).



АТС — антиtimoцитарная сыворотка; АТГ — антиtimoцитарный глобулин;
SCID — severe combined immunodeficiency.

Рис. 2. Методы исследований туморогенности (по материалам доклада Д.А. Рождественского)

к инвазии и отсутствию контактного торможения роста. Однако считается, что эти методы не обладают достаточной прогностической ценностью и могут быть использованы как предварительные перед дальнейшей оценкой туморогенности на животных (Михайлова Л.М. и соавт., 2010).

Наиболее простым и объективным методом оценки туморогенности считается трансплантация клеток под кожу мышей с наследственным иммунодефицитом (мыши Nude, SCID, или бестимусные крысы) и последующим наблюдением за развитием новообразований как в месте введения, так и в окружающих тканях на предмет потенциального метастазирования. С помощью этого метода можно выявлять не только наличие опухолей, но и оценивать их размер, скорость роста и другие морфологические характеристики. Дополнительно проводится гистологическое исследование для определения природы опухолевых клеток и выявления возможных механизмов их образования. Альтернативные модели с индуцированными иммунодефицитами, создаваемые с помощью антиtimoцитарных или антиглобулиновых сывороток, в настоящее время считаются неоптимальными из-за трудности стандартизации и низкой воспроизводимости результатов.

О методических особенностях проведения исследования туморогенных свойств клеточных продуктов поделилась в своем сообщении «Возможные подходы к оценке биобезопасности клеточных продуктов на примере содержащего фибробласты

геля» Н.И. Енукашвили. Еще 2–3 года назад единственным регуляторным документом, в котором подробно описывалась методика испытания туморогенности, являлась общая фармакопейная статья ОФС № 1.7.2.0011.15 «Требования к клеточным культурам — субстратам производства биологических лекарственных препаратов»⁴. Согласно этому документу, мышам линии Balb/c nude массой 19–20 г (не менее 30 голов) подкожно или внутримышечно вводят 10^6 клеток. Контрольной группе мышей (30 животных) вводят аналогичное количество заведомо туморогенных клеток (например, HeLa как позитивный контроль). На протяжении 21 дня оценивают общее состояние мышей, фиксируют гибель животных, ежедневно пальпируют место инокуляции клеток и лимфатических узлов.

Представленная в ОФС.1.7.2.0011.15 методика содержит ряд критических недостатков, например, избыточное с точки зрения 3R количество животных в группе (30 мышей), недостаточное количество клеток для введения, короткий период наблюдения. Например, в методических рекомендациях ВОЗ испытание проводят на 10 мышах⁵. Срок наблюдения, равный 21 дню, очевидно, недостаточен, поскольку латентный период образования опухолей для многих клеточных линий может быть более продолжительным. Так, например, для некоторых человеческих опухолевых линий (фибросаркома, липосаркома, хондросаркома, рак молочной железы) латентный период опухолевого роста на бестимусных мышах составляет 22–38 дней, а отдельные линии трансформированных мышинных фибробластов при сингенной трансплантации могут иметь латентный период до 3–5 мес (Михайлова Л.М. и соавт., 2010). Как продемонстрировано в некоторых публикациях, развитие опухолевого узла напрямую зависит от введенной дозы (туморогенная доза) и степени иммунодефицита мышей. Например, в работе S. Kusakawa ингрфтмент подкожной трансплантации клеток HeLa в дозе 10^6 клеток мышам Nude составил всего 70% (у мышей NOG 100% ингрфтмент наблюдался уже в дозе 10^5 клеток), что не удовлетворяет условиям для позитивного контроля (не менее 90%) (Kusakawa S. и соавт., 2015).

В январе 2025 г. на основании решения Совета ЕЭК № 13 от 22.01.25 уточнены требования к качеству и производству соматотерапевтических лекарственных препаратов, где указано о необходимости организации исследований туморогенности в соответствии с фармакопеей союза по клеточным субстратам для производства вакцин для медицинского применения. Как отметила Н.И. Енукашвили, проект фармакопейной статьи Евразийского союза в текущей редакции полностью соответствует международным рекомендациям⁶ и уже учитывает перечисленные выше недостатки.

Стоит отметить, что тестирование онкогенных и туморогенных свойств препаратов генной или клеточной терапии является критически важным этапом доклини-

⁴ ОФС.1.7.2.0011.15. Общая фармакопейная статья. «Требования к клеточным культурам — субстратам производства биологических лекарственных препаратов» (утв. и введена в действие Приказом Минздрава России от 31.10.18 № 749) («Государственная фармакопея Российской Федерации», 14-е изд. Т. 2).

⁵ Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks Replacement of Annex 1 of WHO Technical Report Series, No. 878 WHO Technical Report Series No. 978. URL: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/documents/trs_978_annex_3.pdf?sfvrsn=fe61af77_3&download=true (дата обращения: 08.2025).

⁶ Там же.

ческих исследований, обеспечивающим безопасность их будущего применения. Современные методические подходы, разработанные в соответствии с международными стандартами, позволяют получить достоверную оценку этих рисков и принять обоснованное решение о возможности дальнейшего клинического использования.

Исследования биораспределения

Отдельное внимание на сессии, посвященной ГТЛП, было уделено оценке их биораспределения (БР) как важнейшего компонента программы доклинической разработки. Так, Д.А. Рождественский отметил, что исследование БР составляет до 50% всего объема доклинических исследований высокотехнологичных лекарственных препаратов.

Под БР понимается распределение *in vivo*, персистенция и клиренс ГТЛП в месте введения, в тканях-мишенях и внемишеневых тканях, включая биологические жидкости (например, кровь, спинно-мозговую жидкость, стекловидное тело).

Доклинические исследования для оценки БР могут проводиться в качестве самостоятельных исследований или в сочетании с доклиническими фармакологическими и токсикологическими исследованиями.

Основные требования к дизайну исследования БР представлены на рис. 3.

- Проводят на финишном составе высокотехнологичного лекарственного препарата
- Способ введения адекватен клиническому
- Биологически релевантная модель животных
- 5/3* животных на каждую временную точку, пол, группу
- Уровни доз должны обеспечить характеристику биораспределения:
 - максимальная доза терапевтического применения;
 - максимальная доза токсикологических исследований;
 - нулевая доза (носитель в контрольной группе);
 - группы с повышением дозы.
- Временные точки:
 - период, полностью характеризующий ФК-кривую;
 - точки «стационарного состояния»;
 - точки повторной репликации вектора**.
- Соблюдение GLP:
 - необязательно при фармакологических исследованиях;
 - обязательно при токсикологических исследованиях (прижизненные оценки и отбор образцов);
 - необязательно при токсикологических исследованиях (post mortem)

* Грызуны/негрызуны.

** В отношении генотерапевтических лекарственных препаратов.

Рис. 3. Общие требования к дизайну доклинических исследований биораспределения (по материалам доклада Д.А. Рождественского)

Принципиальным и важнейшим требованием к планированию изучения БР является проведение исследований исключительно на финишном составе продукта в отличие от химических препаратов, где БР может изучаться на уровне активной фармацевтической субстанции еще до разработки готовой лекарственной формы. Любые изменения коммерческого состава препарата в дальнейшем потребуют повторного проведения исследований БР, что определяет важность проведения этих исследований на финальных стадиях разработки.

Оценка БР должна проводиться на биологически релевантных видах животных или животных моделях, которые поддерживают перенос и экспрессию генетического материала. Факторы выбора могут включать видовые различия в тканевом тропизме ГТЛП, эффективности переноса генов и экспрессии трансгена в тканях, или клетках-мишенях и во внемишеневых тканях (клетках). При работе с репликационно-компетентным вирусным вектором важно, чтобы вид животного или животная модель позволяла вектору реплицироваться. Влияние вида, пола, возраста, физиологического состояния (например, здоровое животное или модель заболевания) на профиль БР также может быть важен. Кроме того, следует учитывать возможность иммунного ответа определенного вида животного на введенный вектор и/или продукт экспрессии.

В целом на каждую временную точку необходимо использовать 5 грызунов или 3 негрызуна каждого пола на группу. Исследуются как минимум 2 дозы вещества и 1 доза носителя с возможностью включения группы с повышением дозы для обоснования режима дозирования. Временные точки должны полностью характеризовать фармакокинетическую кривую, учитывая специальные точки для оценки репликации векторов у генотерапевтических препаратов.

Временные точки взятия образцов в ходе доклинического исследования БР должны быть выбраны таким образом, чтобы в достаточной степени охарактеризовать изменения содержания ГТЛП в динамике в соответствующих временных точках. При необходимости можно включить дополнительные временные точки, чтобы всесторонне отразить продолжительность периода стационарного состояния или оценить персистенцию. Если применимо, следует рассмотреть включение временных точек, позволяющих оценить содержание ГТЛП после повторного введения. В случае репликационно-компетентных векторов временные точки взятия образцов должны также охватывать обнаружение второй пиковой концентрации, обусловленной репликацией вектора, и последующую фазу клиренса в соответствующем образце (образцах)⁷.

На рис. 4 представлена рекомендуемая панель изучаемых органов для БР.

Стоит отметить, что эта панель может быть расширена в зависимости от дополнительных соображений, таких как тип вектора или тканевый тропизм, продукт экспрессии, путь введения, патофизиология заболевания, пол и возраст животного. Например, дополнительные ткани и биожидкости могут включать периферические нервы, дорсальные спинальные ганглии, спинно-мозговую жидкость, стекловидное тело, дренирующие лимфатические узлы, костный мозг или глаза и зрительный нерв. Решение о выборе окончательного набора образцов должно основываться

⁷ ICH S12. Nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products, 2021.

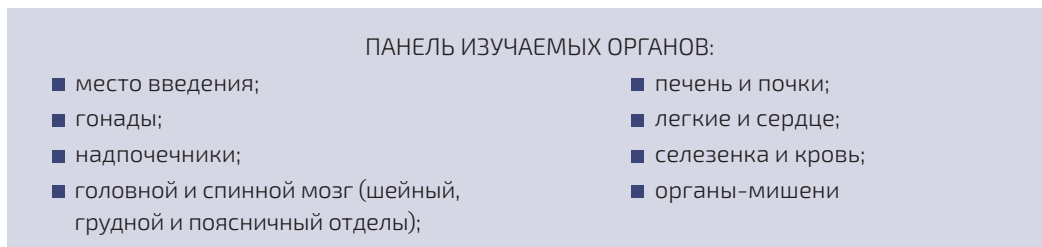
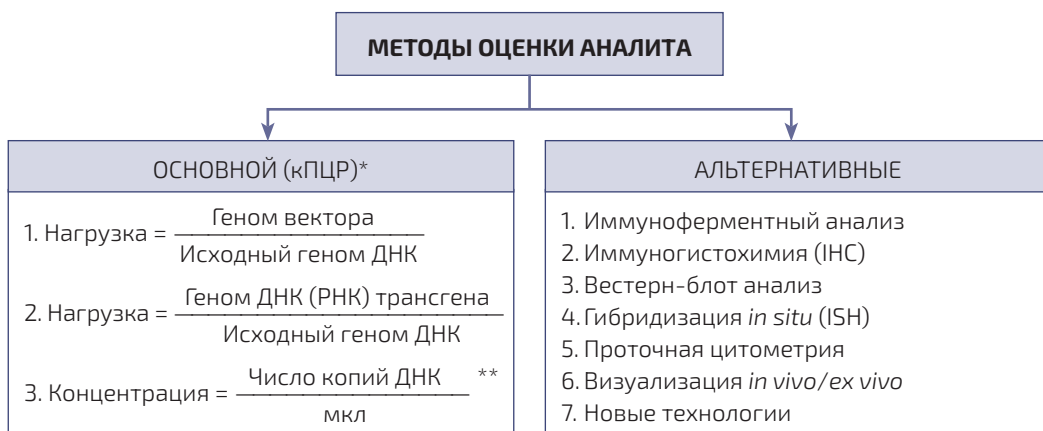


Рис. 4. Рекомендуемая панель изучаемых в исследовании биораспределения органов (по материалам доклада Д.А. Рождественского)



* Анализ в 3 повторностях; QC (контроль качества) — в один образец каждой ткани вводится контрольная ДНК с известным количеством векторной последовательности; НПКО ≤ 50 копий/пг при достоверности 95% и более.

** Допустимо исключительно при непостоянном клеточном составе.

Рис. 5. Методы оценки биораспределения ГТЛП (по материалам доклада Д.А. Рождественского)

на понимании ГТЛП, целевой клинической популяции, пути введения и существующих доклинических данных⁸.

В настоящее время стандартом обнаружения ГТЛП в тканях и биожидкостях во времени считается количественное определение ДНК или РНК векторного генома и/или трансгена с помощью методов полимеразной цепной реакции (ПЦР). Однако могут быть использованы также альтернативные методы, такие как иммуноферментный анализ (ИФА), иммуногистохимия (ИГХ), вестерн-блот, гибридизация *in situ* (ISH), проточная цитометрия, различные методы визуализации *in vivo* и *ex vivo* и др. (рис. 5).

⁸ Reflection paper on management of clinical risks deriving from insertional mutagenesis EMA/CAT/GTWP/190186/2012.

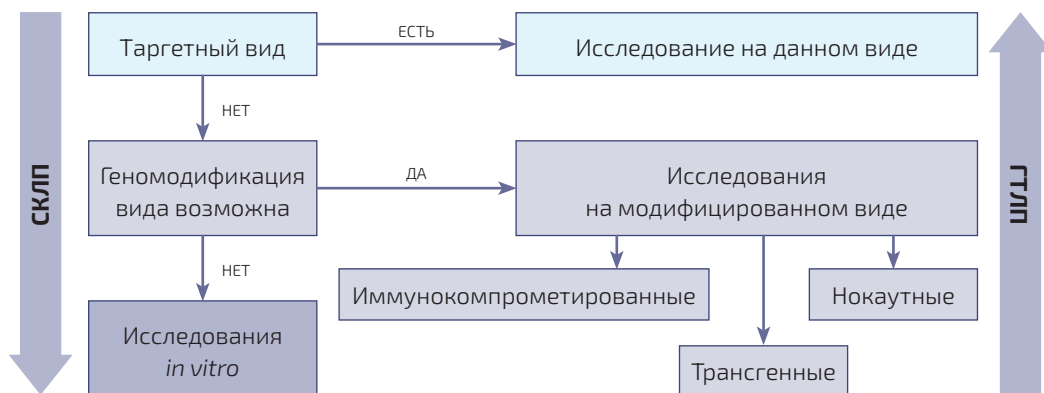
Таким образом, исследование биораспределения является критически важным этапом доклинической разработки ГТЛП, требующим использования исключительно финальной лекарственной формы и биологически релевантных животных моделей. Программа включает обоснованный дизайн исследований с адекватным количеством животных, доз и временных точек для оценки персистенции и потенциальной репликации вектора. Расширенная панель исследуемых тканей в сочетании с современными аналитическими методами позволяет получить исчерпывающие данные о распределении препарата, необходимые для оценки рисков и обоснования перехода к клиническим исследованиям.

Выбор биологических тест-систем

Разработка препаратов генной и клеточной терапии требует использования модельных тест-систем, адекватно воспроизводящих патогенез заболеваний человека и позволяющих оценить как эффективность, так и безопасность новых лекарственных средств. Современный арсенал тест-систем включает несколько взаимодополняющих уровней от клеточных моделей *in vitro*, выделенных тканей или органов *ex vivo* до сложных генетически модифицированных организмов *in vivo*.

Однако нужно понимать, что каждый из уровней тест-систем *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo* обладает различной трансляционной ценностью. Так, простые модели *in vitro*, обеспечивая высокую воспроизводимость и скорость скрининга, обладают ограниченной способностью предсказать эффекты в целостном организме. Более сложные *ex vivo*-системы (например, органоиды или культуры срезов тканей) сохраняют часть нативной тканевой архитектуры и клеточных взаимодействий, приближая моделирование к физиологическим условиям. Однако наивысшей трансляционной ценностью отличаются исследования *in vivo*, поскольку только они позволяют учесть комплексное влияние всех систем организма (иммунной, эндокринной, нервной и метаболической) на эффективность и безопасность препарата. В идеальном случае стратегия доклинических исследований должна выстраиваться как восхождение по этой пирамиде, где данные, полученные на простых системах, последовательно проверяются и верифицируются в более сложных и релевантных физиологических моделях, что, в конечном итоге, и позволяет сформировать надежные прогнозы для клинических исследований с участием человека.

Именно такой подход, как показала в своем сообщении А.А. Таубэ, был реализован при доклиническом изучении препарата Vyjuvek (Беремаген геперпавек) — первого генотерапевтического лекарственного средства местного применения, одобренного FDA для лечения дистрофического буллезного эпидермолиза. Программа доклинических исследований включала как *in vitro*-модели (клеточные культуры кератиноцитов и фибробластов пациентов), трехмерные кожные эквиваленты, так и исследования *in vivo* на генетически модифицированных мышах и даже карликовых свиньях, что позволило комплексно оценить способность нереплицирующегося вектора на основе ВПГ-1 индуцировать функциональную экспрессию коллагена VII типа и подтвердить профиль его безопасности (Gurevich I. и соавт., 2022).



СКЛП — соматоклеточный лекарственный препарат;
ГТЛП — генотерапевтический лекарственный препарат.

Рис. 6. Стратегия выбора биологической модели для исследований эффективности и безопасности (по материалам доклада Д.А. Рождественского)

Тем не менее в некоторых случаях предпочтительным может оказаться один из подходов. Например, для препаратов клеточной терапии приоритетной системой оценки является целостный организм, а для генотерапевтических лекарственных препаратов предпочтение можно отдать исследованиям *in vitro* (рис. 6). Это методологическое различие обусловлено механизмом действия и биологическими особенностями данных продуктов. Так, клетка как функциональная единица клеточной терапии требует сложного супрамолекулярного окружения живого организма для адекватного функционирования. Например, для миграции, дифференцировки, пролиферации мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в зоне терапии необходимо наличие системных факторов, таких как кровоснабжение, иннервация, иммунный ответ, факторов межклеточной коммуникации и других, которые невозможно воспроизвести в упрощенных *in vitro*-системах. В то же самое время трансген как действующая единица препаратов генной терапии может быть оценен *in vitro*, например, в культурах клеток-мишеней, где можно проанализировать эффективность доставки, уровень экспрессии целевого белка.

Выбор адекватных тест-систем *in vivo* для оценки клеточных продуктов требует тщательного анализа их морфофункциональной релевантности. Например, крысы демонстрируют высокую степень спонтанной регенерации при контузионной травме спинного мозга, что существенно ограничивает их прогностическую ценность, в частности, в исследованиях эффективности МСК. Несмотря на это, модели на грызунах сохраняют свою значимость в исследованиях proof-of-concept, а также для отработки критериев и методик оценки эффективности клеточного продукта (например, кинематического анализа локомоции).

Как подчеркивает в докладе «Доклинические исследования клеточного продукта на основе стволовых клеток — ключевые проблемы на основе собственного опыта» Владимир Павлович Баклаушев, для регистрационных доклинических исследований

необходимы более подходящие (релевантные) тест-системы. В частности, карликовые свиньи демонстрируют исключительную прогностическую ценность для моделирования патологического процесса спинальной травмы, подобного таковому у человека. Для карликовых свиней характерно развитие выраженного фиброза, устойчивого нейровоспаления и минимальной спонтанной регенерации после контузионной травмы, что патогенетически близко спинальной травме у человека. Эти особенности позволяют не только оценивать эффективность клеточного продукта в условиях, максимально приближенных к клиническим, но и изучать его влияние на ключевые патологические механизмы: модуляцию воспалительного ответа, торможение процесса фиброобразования и стимуляцию аксональной регенерации. На данной модели была успешно проведена комплексная оценка эффективности и безопасности клеточного продукта на основе аллогенных МСК, включая анализ их влияния на гистопатологические изменения, показатели нейровоспаления и характеристики формирующегося рубца.

Как продемонстрировано в докладе «Разработка и доклинические исследования препаратов генной терапии: применение в регенеративной медицине» Павлом Игоревичем Макаревичем, в исследованиях регенерации роговицы, корректный подход предполагает не просто воспроизведение патологии, но и создание условий для управления исходами повреждения (фиброз против регенерации). Это позволяет выявлять ключевые физиологические «переключатели» патологического процесса, такие как ангиогенез, которые становятся мишенями для генной или клеточной терапии.

Как отметил в своем докладе «Эффекты введения препарата на основе глиальных прогениторных клеток и их секретом на животной модели болезни Альцгеймера» Владимир Олегович Небогатиков, важно правильно выбирать не только тест-систему, но и ключевые оцениваемые параметры, по которым будет проводиться анализ эффективности терапии или механизмов действия. В докладе был представлен комплексный методологический подход к оценке биологической активности секрета глиальных прогениторных клеток в контексте терапии болезни Альцгеймера. Для всесторонней характеристики терапевтического потенциала продукта была разработана система взаимодополняющих методов оценки физиологических, поведенческих и биохимических параметров у мышей с модельной патологией, включающая суточный мониторинг спонтанной двигательной активности, поведенческие тесты (лабиринт Морриса и приподнятый крестообразный лабиринт) для анализа когнитивных функций и тревожности, иммуногистохимический анализ отложения бета-амилоида, активации микроглии, функционального состояния митохондрий и др.

Еще одним примером научно обоснованного подхода к выбору тест-систем служит представленная в докладе Марии Анатольевны Зайцевой «Особенности доклинического изучения индивидуального биомедицинского клеточного продукта (БМКП)» специально разработанная для тестирования дендритно-клеточной вакцины CaTeVac (ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России) *in vivo*-модель перевиваемой веретенклеточной саркомы мыши линии 164 MSar FE⁹. Ключ-

⁹ Патент RU2796351C1 «Клеточная линия саркомы веретенообразной клетки мыши 164 MSar FE». URL: <https://patents.google.com/patent/RU2796351C1/en?q=%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BD%D1%82+RU+2796351> (дата обращения: 09.2025).

чевым преимуществом данной модели перед существующими аналогами, такими как саркома S37, является ее 100% перевиваемость, предсказуемый линейный рост и значительно сокращенный латентный период формирования опухоли, что позволяет достигать оптимальных для исследований объемов новообразования уже на 18–21-й день, а не через несколько месяцев. Модель сохраняет гистологическое и иммуногистохимическое подобие с исходной низкодифференцированной веретенноклеточной саркомой, включая паттерн васкуляризации, что подтверждает ее биологическую релевантность. Как отметила М.А. Зайцева, важной особенностью проведенного доклинического исследования было использование гомологичного клеточного продукта, который был получен по технологии, полностью аналогичной той, что применяется для производства БМКП для человека, с соблюдением всех процедур забора материала, характеристик и состава готового продукта. Данный гомологичный продукт был произведен в строгом соответствии с требованиями надлежащей производственной практики (GMP), а его действие было направлено на ту же терапевтическую мишень, что и у человека, что обеспечило максимальную релевантность доклинических данных.

Конечно, незаменимым инструментом в доклинических исследованиях как клеточных продуктов, так и генотерапевтических лекарственных средств по-прежнему остаются генетически модифицированные животные. Современные технологии, в частности методы геномного редактирования (такие как CRISPR/Cas9) в сочетании с системами сайт-специфической рекомбинацией, позволяют получать модели для широкого спектра моногенных заболеваний. Для таких заболеваний, как гемофилия или спинальная мышечная атрофия (SMA), создаются целевые генетические модели методами нокаута (knock-out) или knock-in соответствующих генов. Например, модели гемофилии A и B были получены путем нокаута генов факторов свертывания F8 и F9 соответственно. Для более сложных заболеваний, таких как SMA, требуются комплексные подходы: нокаут мышинового гена *SMN1* сочетается с введением человеческого аналога *SMN2* с переменным числом копий, что позволяет моделировать различную тяжесть заболевания.

Как подчеркнул в своем докладе «Создание животных моделей заболеваний человека и их использование для доклинических исследований терапевтических субстанций на примере хронического воспаления» Алексей Васильевич Дейкин, разработка репрезентативных трансгенных моделей, воспроизводящих ключевые аспекты патологии человека, представляет собой сложный многоэтапный процесс, занимающий от 1 года до 3 лет. Столь продолжительный цикл обусловлен не только необходимостью внесения целевых генетических модификаций с применением современных методов, таких как CRISPR/Cas9 и микроинъекции в пронуклеусы зигот, но и последующей тщательной фенотипической и молекулярной валидацией полученных линий для подтверждения их релевантности человеческому заболеванию.

При этом животные модели, будучи неотъемлемым элементом, являются лишь одним из 7 этапов полного цикла разработки персонализированной генной терапии. Проактивный подход, предусматривающий параллельную разработку препарата и модели для его тестирования, позволяет значительно сократить сроки доклинических исследований в рамках общего проекта и служит необходимым условием для своевременного предоставления персонализированной терапии пациенту.

Убедительным примером успешной реализации данной стратегии служат работы, выполненные НИУ «БелГУ» в коллаборации с Институтом биологии гена РАН и компанией «Марлин Биотех». В рамках этих исследований была создана и валидирована уникальная линия мышей с делецией экзонов 8–34 в гене дистрофина, которая стала высокорелевантной моделью мышечной дистрофии Дюшенна. Использование данной модели на доклинической стадии позволило собрать исчерпывающие данные по эффективности и переносимости генотерапевтического препарата, что в значительной степени способствовало успешному прохождению регуляторных процедур и получению компанией АО «ГЕНЕРИУМ» разрешения на проведение клинических исследований препарата GNR-097.

Тем не менее, как подчеркивает в своем докладе «**Особенности доклинических исследований эффективности лекарственных средств с использованием трансгенных животных**» Алексей Анатольевич Устюгов, ключевым элементом надежности доклинических исследований является не только создание генетически модифицированных тест-систем, но и поддержание и контроль их генетической чистоты. Как иллюстрирует пример с линией мышей 5XFAD, широко применяемой для моделирования болезни Альцгеймера, даже хорошо зарекомендовавшие себя и распространенные модели могут нести скрытые генетические артефакты, способные кардинально повлиять на результаты экспериментов. Так, в результате проведенного полногеномного секвенирования мышей линии 5XFAD выяснилось, что после перевода этой линии со смешанного на чистый генетический бэкграунд, выявлено наличие спонтанной мутации в гене *PDE6B*, унаследованной от исходного генетического фона SGL. Эта мутация, не выявляемая стандартным ПЦР-генотипированием на наличие трансгеной кассеты, приводила к дегенерации сетчатки и слепоте у части животных-носителей мутации в гене *PDE6B*. Попытки оценить когнитивные функции с помощью поведенческих тестов (например, водного лабиринта Морриса) на мышах с мутацией в гене, которая приводит к дегенерации сетчатки, были заведомо некорректны и вели к ложным выводам об отсутствии патологии или эффекта терапии.

Таким образом, правильный выбор модельных систем для доклинических исследований является определяющим фактором успешности всего процесса разработки лекарственного препарата и возможности перехода к клиническим испытаниям. При формировании стратегии исследований необходимо тщательно обосновывать выбор каждой тест-системы, учитывая целый комплекс факторов: особенности исследуемого продукта, его механизм действия, специфику целевой патологии, а также физиологические и патофизиологические характеристики используемых видов животных, включая генетическую чистоту и стабильность.

Доклинические аспекты изучения качества

Особое внимание на прошедшей конференции было уделено вопросам изучения качества клеточных продуктов как отдельной научно-методологической проблеме, связанной с относительной новизной данной категории терапевтических средств и со значительным разнообразием продуктов от клеточных суспензий до слож-



Рис. 7. Схема доклинической оценки качества фармразработки препаратов на основе соматических клеток и препаратов тканевой инженерии

ных тканеинженерных конструкторов, состоящих из клеток в культуральной среде или включенных в трехмерные скаффолды, матриксы, гели и др. Для таких сложных конструкций доклинические исследования качества предполагают отдельную оценку клеточного и неклеточного компонентов, каждый из которых требует различных программ исследований (рис. 7).

При оценке клеточного компонента требуется подтверждение таких характеристик качества, как жизнеспособность клеток, идентичность или подлинность (морфология, экспрессия специфических маркеров, генов), активность, чистота и др. Как отметила в своем докладе Марфа Николаевна Егорихина *«In vitro методы исследования при разработке и оценке качества БМКП и высокотехнологичных лекарственных препаратов на основе соматических клеток»*, не существует универсальных методов для подтверждения качества биомедицинских клеточных продуктов, и это часто становится актуальной темой для дискуссии.

С одной стороны, в случае с монослойными культурами ситуация относительно проста, поскольку для них применимы классические методы подсчета от каме-

ры Горяева до автоматических счетчиков клеток с применением исключающего окрашивания, с другой — при работе с тканеинженерными конструктами, такими как клетки в матриксе, возникает принципиальная сложность. Инкапсуляция клеток в трехмерный скаффолд кардинально меняет методологию их анализа.

Традиционные косвенные методы, например, метаболический МТТ-тест или прямой подсчет клеток после их выделения из матрикса, часто дают артефактные результаты, искажая реальную картину жизнеспособности и количества клеток. Это связано, в частности, с неоднородностью метаболической активности клеток на разных стадиях клеточного цикла. Методы, основанные на прямом подсчете клеток, выделенных из каркаса, также характеризуются высокой погрешностью из-за неизбежной потери клеточного материала при разрушении скаффолда.

Эти методологические проблемы становятся серьезным препятствием для стандартизации сложных клеточных продуктов. Решение было найдено в разработке инновационной авторской методики, позволяющей проводить прямой количественный анализ клеточной популяции непосредственно в трехмерной структуре скаффолда¹⁰.

Принцип метода основан на одновременном окрашивании ядер всех клеток в тканеинженерном конструкте ДНК-специфичным красителем (например, Hoechst 33342) и применении красителя, проникающего исключительно через поврежденные мембраны мертвых клеток (например, TO-PRO™-3). Окрашенные образцы без фиксации подвергаются микроскопии с функцией Z-stack не менее чем в 10 полях зрения и последующей программной сшивкой изображений. Количественный анализ включает обработку полученных данных фильтрацией по интенсивности флюоресценции и площади объектов, подсчет общего числа клеток в каждом поле зрения, определение среднего значения и последующий пересчет количества клеток на 1 мм³ объема скаффолда.

При характеристике клеточного компонента обязательным этапом является верификация функциональной активности входящих в состав клеток в условиях *in vitro*. Например, как отметила в докладе «*In vitro* методы исследования при разработке и оценке качества БМКП и высокотехнологичных лекарственных препаратов на основе соматических клеток» М.Н. Егорихина, одной из ключевых функций МСК является секреция факторов роста (таких как фактор роста сосудов VEGF, стромальный фактор SDF-1, фактор роста гепатоцитов HGF и др.), обеспечивающих паракринный регенеративный эффект. Для оценки сохранения этой функции *in vitro* проводят количественное определение концентрации биологически активных молекул в кондиционной среде культивирования клеток на разных временных точках с помощью иммуноферментного анализа (Aleynik D.Ya. и соавт., 2024).

Данный подход позволяет подтвердить секрецию конкретных факторов, однако для полной характеристики функциональной активности продукта требуется анализ его специфического биологического действия на релевантных *in vitro* и/или *in vivo* моделях.

В докладах Ольги Александровны Григорьевой и Анны Олеговны Монаковой на примере секреторма МСК и его везикулярной фракции было хорошо продемон-

¹⁰ Патент RU2675376C1 «Способ количественного анализа клеточной составляющей скаффолда». URL: <https://patents.google.com/patent/RU2675376C1/ru> (дата обращения: 09.2025).

стрировано, что универсальных подходов к оценке специфической активности сложных многокомпонентных биологических лекарственных препаратов не существует. Для каждого конкретного препарата необходима разработка собственных методик оценки биологической активности, основанных на понимании клеточных мишеней и механизмов действия. Это в полной мере применимо и к разработке методов контроля качества клеточных продуктов и тканеинженерных конструкций. Иллюстрацией этого принципа служит тот факт, что даже для препаратов, полученных из одного источника (МСК), но предназначенных для лечения различных заболеваний, требуются принципиально различные методы оценки. Так, в докладе «Доклинические исследования препарата на основе везикулярной фракции секрета мезенхимных стволовых/стромальных клеток человека для лечения фиброза легких» О.А. Григорьевой был представлен подход к оценке биологической активности препарата для терапии фиброза легких, тогда как в работе А.О. Монаковой «Разработка и валидация тест-системы для оценки биологической активности оригинального препарата на основе секрета мезенхимных стромальных клеток» — для лечения мужского бесплодия.

Для препарата, предназначенного для лечения фиброза легких, были разработаны свои соответствующие тест-системы, отражающие ключевые механизмы действия. Антифибротическая активность оценивалась на модели TGF β -индуцированной дифференцировки фибробластов в миофибробласты. Ключевым показателем эффективности в данной модели служило снижение уровня α -гладкомышечного актина (α -SMA) — маркера активированных миофибробластов, основных клеток, ответственных за фиброз, не менее чем в 2,5 раза по сравнению с положительным контролем. Это демонстрирует способность препарата ингибировать ключевой клеточный процесс, лежащий в основе образования рубцовой ткани. Для оценки противовоспалительной и иммуномодулирующей активности применялась модель поляризации макрофагов. Критерием эффективности являлось снижение экспрессии генов провоспалительных цитокинов (IL-12p35, IL-6, TNF α) в M1-макрофагах не менее чем в 2 раза. Это подтверждает способность препарата смещать поляризацию макрофагов от провоспалительного (M1) к репаративному (M2) фенотипу, что критически важно для купирования хронического воспаления, лежащего в основе фиброза (Дьячкова У.Д., Басалова Н.А. и соавт., 2025).

Для оценки специфической активности биологического препарата на основе секрета МСК, нацеленного на восстановление мужской репродуктивной функции, была разработана методика, основанная на его способности стимулировать секреторную активность клеток Лейдига¹¹. Выбор данной модели был обусловлен установленным механизмом действия: секретом МСК восстанавливается функция тестостеронпродуцирующих клеток Лейдига, что важно для нормального сперматогенеза. Критерием специфической активности в этой модели служило дозозависимое увеличение секреции тестостерона не менее чем на 15% по сравнению с отрицательным контролем.

¹¹ Патент RU2775839C1 «Способ нагнетания смеси в нефтегазовую скважину и комплекс оборудования — флот ГПП по этому способу». URL: <https://patents.google.com/patent/RU2775839C1/ru> (дата обращения: 09.2025).

Для моделирования нарушений сперматогенеза была также предложена методика селективной абляции клеток Сертоли с применением детергента хлорида бензалкония. Модель, представленная в докладе Валерия Владимировича Муна «Исследование регенеративного потенциала клеток эпителия Сети семенника для коррекции патологий мужской половой системы», в отличие от традиционных подходов с солями тяжелых металлов позволяет в ходе одноэтапной процедуры селективно элиминировать клетки Сертоли при полном сохранении интерстициальных клеток Лейдига и перитубулярных миоидных клеток. Обработка модели включала определение оптимальной концентрации бензалкония хлорида, которая составила 0,1%, приводящей практически к полному удалению клеток Сертоли. Дальнейшая трансплантация в поврежденные каналы неонатальных клеток Сертоли, меченных GFP, подтвердила релевантность данной модели для изучения регенеративных процессов — трансплантированные клетки не только успешно приживались, но и формировали каналцеподобные структуры, поддерживающие развитие половых клеток.

Приведенные выше примеры подчеркивают, что выбор метода оценки биологической активности напрямую зависит от целевой патологии и предполагаемого механизма действия препарата. Основной трудностью, по мнению участников конференции, является валидация таких методик, в том числе установление пределов нормирования биологической активности и критериев приемлемости, учитывая сложность и высокую гетерогенность клеток как источника биологически активных молекул. Актуальность этих проблем лишь возрастает в свете активного развития исследований в области клеточной терапии, при поиске медицинского применения не только самих клеток, но и их секретомов, клеточных везикул. Например, как показывает недавний обзор в журнале *Signal Transduction and Targeted Therapy*, можно ожидать, что в ближайшем будущем инновационные препараты на основе внеклеточных везикул будут получать все большее одобрение, что потребует четких стратегий их доклинической оценки и контроля качества (Xu G., Jin J. и соавт., 2025).

Как отметила в своем выступлении М.Н. Егорихина, оценка иммунофенотипа также представляет собой критически важный аспект характеристики клеточных продуктов. Однако существующие подходы, в частности проточная цитометрия, требуют обязательного выделения клеток из культуральной подложки или трехмерного скаффолда, что может существенно влиять на экспрессию поверхностных маркеров. Так, в ходе проведенных исследований выявлено значимое снижение доли CD90-позитивных клеток (ключевого маркера, определяющего фенотип популяции МСК). Для верификации природы этого явления был применен метод рекультивирования изолированных клеток в стандартных условиях. Как подчеркнула Марфа Николаевна, последующее восстановление экспрессии CD90 до базового уровня (95–96%) доказало обратимость изменений и отсутствие истинной потери иммунофенотипа. Эти данные свидетельствуют, что микроокружение трехмерного скаффолда модулирует экспрессию поверхностных маркеров, не затрагивая фундаментальные характеристики клеток.

После комплексной характеристики клеточного компонента ключевое внимание уделяется оценке поведения скаффолда-носителя и его взаимодействия с клетками в составе тканеинженерного конструкта. Неклеточный компонент, представленный молекулами, окружающими клеточную систему, подразделяется на две категории.

К первой относятся вещества, являющиеся частью активной фармацевтической субстанции (цитокины, адъюванты, радионуклиды), которые оцениваются по трем параметрам: отсутствию токсических метаболитов, исследуемым физико-химическим характеристикам и биосовместимости. Все остальные молекулы рассматриваются как вспомогательные вещества и проходят соответствующую трехкомпонентную оценку в соответствии с представленной выше схемой (см. рис. 7).

Центральным параметром качества неклеточного компонента является свойство биodeградации, для оценки которой применяются два основных подхода: определение продуктов деградации в модельной среде (чаще всего используют для скаффолдов, структурным компонентом которых являются белки) и измерение остаточной массы образца, инкубируемого в растворе, имитирующем жидкость организма (может быть использован для большинства скаффолдов). Параллельно с изучением биodeградации необходимо оценивать структурные изменения скаффолда в процессе культивирования, например, его пористость. Для количественной характеристики динамики пористости разработан авторский метод с использованием трансмиссионной электронной микроскопии¹². Интегральный анализ этих параметров позволяет оценить способность скаффолда выполнять функцию искусственной ниши для МСК. Критически важным представляется наличие обратной динамической связи между клетками и матрицей, когда клетки не просто пассивно населяют носитель, но активно ремоделируют свое микроокружение. Установление таких динамических взаимоотношений является прогностическим маркером эффективности тканеинженерного конструкта в отличие от простых конструктов, выполняющих лишь функцию временного носителя.

Таким образом, оценка качества препаратов на основе клеток требует комплексного подхода с разработкой специализированных методов анализа для каждого конкретного продукта. Ключевыми аспектами являются не только разработка адекватных методов оценки клеточного компонента в трехмерных структурах, но и специфических моделей или тест-систем для определения биологической активности, а также изучение биodeградации и функциональных характеристик скаффолдов.

Заключение

Фармацевтическая разработка препаратов генной и клеточной терапии требует индивидуального подхода, учитывающего их уникальные характеристики и природу. В отличие от традиционных лекарственных средств доклинические исследования сфокусированы не на поиске токсичных доз или органов-мишеней токсического воздействия, а на подтверждении сохранения функциональных свойств и профиля безопасности на протяжении всего жизненного цикла препарата. Особое значение приобретают специализированные исследования онкогенности и биораспределения, требующие применения современных молекулярно-биологических методов и моделей. Для успешной реализации этой задачи критически важным является

¹² Патент RU2695061C1 «Метод определения пористости каркасов и/или структур для клеточной инженерии». URL: <https://patents.google.com/patent/RU2695061C1/en> (дата обращения: 09.2025).

заблаговременное и детальное планирование программы доклинических исследований, основанное на глубоком научном обосновании выбора видов исследований, адекватных тест-систем, определяемых параметров и методологии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aleynik D.Ya., Charykova I.N., Rubtsova Yu.P. et al. Specific Features of the Functional Activity of Human Adipose Stromal Cells in the Structure of a Partial Skin-Equivalent // *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25. N. 12. P. 6290. DOI: [10.3390/ijms25126290](https://doi.org/10.3390/ijms25126290).
2. Egorikhina M.N., Aleynik D.Y., Rubtsova Y.P. et al. Quantitative analysis of cells encapsulated in a scaffold // *MethodsX*. 2020. Vol. 24. N. 7. P. 101146. DOI: [10.1016/j.mex.2020.101146](https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.101146).
3. Gurevich I., Agarwal P., Zhang P. et al. In vivo topical gene therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa: a phase 1 and 2 trial // *Nat. Med.* 2022. Vol. 28. P. 780–788. DOI: [10.1038/s41591-022-01737-y](https://doi.org/10.1038/s41591-022-01737-y).
4. Kusakawa S., Machida K., Yasuda S. et al. Characterization of in vivo tumorigenicity tests using severe immunodeficient NOD/Shi-scid IL2R γ null mice for detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products // *Regen Ther.* 2015. Vol. 19. N. 1. P. 30–37. DOI: [10.1016/j.reth.2014.12.001](https://doi.org/10.1016/j.reth.2014.12.001).
5. Monakova A., Sagaradze G., Basalova N. et al. Novel Potency Assay for MSC Secretome-Based Treatment of Idiopathic Male Infertility Employed Leydig Cells and Revealed Vascular Endothelial Growth Factor as a Promising Potency Marker // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23. N. 16. P. 9414. DOI: [10.3390/ijms23169414](https://doi.org/10.3390/ijms23169414).
6. Xu G., Jin J., Fu Z. et al. Extracellular vesicle-based drug overview: research landscape, quality control and nonclinical evaluation strategies // *Signal Transduct. Target. Ther.* 2025. Vol. 10. N. 1. P. 255. DOI: [10.1038/s41392-025-02312-w](https://doi.org/10.1038/s41392-025-02312-w).
7. Дьячкова У.Д., Басалова Н.А., Виговский М.А. и др. Создание клеточных моделей для оценки специфической активности биологических препаратов для лечения фибротических заболеваний // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025. Т. 14. № 3. С. 168–176. DOI: [10.33380/2305-2066-2025-14-3-2095](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-3-2095).
8. Крышень К.Л., Андреев С.В., Дейкин А.В. и др. Особенности доклинических исследований высокотехнологичных лекарственных препаратов. В книге: «Консультант GLP-Planet 2024. Мнение фармацевтической отрасли. Санкт-Петербург», 2024. С. 69–96.
9. Мельникова Е.В., Хорольский М.Д., Рачинская О.А. и др. Общие рекомендации по проведению доклинических исследований биомедицинских клеточных продуктов // *Методические рекомендации по проведению доклинических исследований биомедицинских клеточных продуктов*. 2017. Т. 65. С. 6–29. DOI: [10.37489/0235-2990-2020-65-9-10-51-63](https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-9-10-51-63).
10. Михайлова Л.М., Меркулова И.Б., Ермакова Н.П. и др. Методические подходы к исследованию туморогенности клеточных линий и биопрепаратов на их основе при доклинической оценке безопасности // *Российский биотерапевтический журнал*. 2010. № 2. С. 13–18.

11. Проект Общей фармакопейной статьи «Требования к клеточным культурам субстратам производства БЛП». Фармакопея Евразийского экономического союза. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/cf3/hul36448iliwy7c4x1drahzxu000jyjt/OFS-Trebovaniya-k-kletochnym-kulturam-substratam-proizvodstva-BLP.pdf> (дата обращения: 09.09.2025).
12. Требования к клеточным культурам — субстратам производства биологических лекарственных препаратов. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/cf3/hul36448iliwy7c4x1drahzxu000jyjt/OFS-Trebovaniya-k-kletochnym-kulturam-substratam-proizvodstva-BLP.pdf> (дата обращения: 09.09.2025).

Доклинические исследования вакцин

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-s4>

А.Е. Кательникова¹, И.В. Гордейчук², О.В. Денисова², Ю.А. Дешева³, И.Н. Исакова-Сивак³, М.Д. Ладыгина⁴, Н.А. Лычева², В.А. Матюшенко³, А.З. Матуа⁵, А.Ю. Медкова⁶, М.М. Сазонова², К.В. Сивак⁴, К.И. Стосман⁴, А.Н. Суворов³, А.Л. Суханова⁷, А.И. Тухватулин⁶, А.А. Штро⁴, А-П.С. Шурыгина⁴

¹ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

² ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита),

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,

⁴ ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России,

⁵ ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии»,

⁶ ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России,

⁷ ООО «Мабскейл»

В XVIII веке английский врач Эдвард Дженнер заложил основу современной вакцинации, обеспечив защиту от натуральной оспы. Его наблюдения привели к разработке многих широко используемых вакцин, что стало важной вехой в истории медицины. С тех пор был пройден долгий путь, включая глобальную ликвидацию оспы посредством вакцинации в 1980 г. После этого выдающегося достижения в области общественного здравоохранения двигаться вперед стало сложнее из-за новых правил, развивающихся этических принципов и распространения дезинформации. Инфекционные заболевания постоянно бросают человечеству новые вызовы, и в этой борьбе вакцины служат главным щитом и источником надежды. Ученые по всему миру посвящают себя решению этих проблем, разрабатывая средства профилактики и защиты. Как подчеркивает ВОЗ, «иммунизация является ключевым компонентом первичной медико-санитарной помощи и неоспоримым правом человека. Это также одна из лучших инвестиций в здравоохранение, которую можно купить за деньги» (Conceicao S.F., De Luca P.M., Lima-Junior J.D.C., 2023).

Только столетие назад инфекционные заболевания были основной причиной смерти во всем мире. Например, в 1900 г. средняя продолжительность жизни при рождении в Соединенных Штатах составляла около 47 лет, у детей в возрасте до 5 лет — 30,4% всех смертей. Выжившие после инфекционных заболеваний часто страдали от тяжелых осложнений и инвалидности, таких как паралитический поли-

омиелит, остеомиелит, натуральная оспа, а также от неврологических и зрительных нарушений и др. Однако в течение XX века наблюдалось значительное снижение уровня смертности от инфекционных заболеваний: с 797 смертей на 100 000 населения в 1900 г. до 59 смертей на 100 000 в 1996 г. К концу 1990-х годов хронические заболевания, такие как сердечно-сосудистые, инсульт и рак, стали основными причинами смерти (Montero D.A., Vidal R.M. и соавт., 2024).

Как уже было сказано, вакцинация берет свое начало в XVIII веке. В то же время у Э. Дженнера появляется понимание о существенной роли животных в вакцинологии. Это предположение, действительно, опередило свое время, предсказывая будущее использование коров, морских свинок, кроликов и куриных яиц для разработки вакцин (Stern A.M., Markel H., 2005). В период с 1885 по 1965 г. приготовление вакцин из мозговой ткани взрослых и новорожденных животных, таких как кролики, овцы и козы, являлось стандартным методом производства вакцин против бешенства. Эти ранние эксперименты продемонстрировали, что прохождение вирусов через ткани животных может ослабить вирулентность, сохраняя при этом иммуногенность, что привело к успешной иммунизации собак, а затем и людей. Исторические данные также подтверждают, что животные служили важнейшим биологическим субстратом, позволившим перейти от производства вакцин на основе тканей к производству вакцин на основе клеточных культур. Эта эволюция связана с использованием эмбриональных тканей птиц и первичных клеточных культур, полученных из почек новорожденных животных, что, в конечном итоге, проложило путь к более безопасной и стандартизированной разработке вакцин. Эти достижения заложили основу для применения высокоиммуногенных вакцин как в ветеринарии, так и в здравоохранении, тем самым подтвердив основополагающую роль животных в зарождении и развитии современной вакцинологии.

Последнее 10-летие XIX века ознаменовало начало эпохи, в которой разработка вакцин поддерживалась более прочными научными принципами. Основные достижения этого 10-летия включали методы инактивации целых бактерий и их использование в качестве вакцин, открытие бактериальных токсинов и иммунной сыворотки, содержащей антитела, способные нейтрализовать токсины, называемые антитоксинами (Plotkin S.A., Plotkin S.L., 2011). В 1923 г. Александр Гленни и Барбара Хопкинс совершили значительный научный прорыв, продемонстрировав, что дифтерийный токсин можно инактивировать в анатоксин с помощью формалина (Cavaillon J.M., 2022; Ebisawa I., 1996; Ramon G., Descombey P.A., 1925). Работа Перл Кендрик и Грейс Элдеринг в 1930-х годах, наконец, предоставила эффективную вакцину против коклюша (Ramon G., Descombey P.A., 1925). В 1948 г. вакцины против дифтерии, столбняка и коклюша были объединены в вакцину АКДС, что привело к значительному снижению соответствующих заболеваний и смертности (Cherry J.D., 2013; Guiso N., Meade B.D., 2020; Montero D.A., Vidal R.M. и соавт., 2024). В 1921 г. Альбер Кальметт и Камиль Герен разработали вакцину *Bacille Calmette-Guérin* (BCG) на основе ослабленного штамма *Mycobacterium bovis*, бактерии, тесно связанной с *M. Tuberculosis* (Calmette A., Guerin C. и соавт., 1926). Эта вакцина была разработана в результате выдающихся усилий с помощью 230 последовательных пассажей *M. bovis* в среде, содержащей желчь, в течение 13 лет. Эта многостадийная процедура позволила отобрать авирулентные штаммы, не способные вызывать заболевание.

До 80-х годов XX века вакцины получали на основе инактивированных микроорганизмов, живых аттенуированных микроорганизмов и инактивированных токсинов (анатоксинов). Данные вакцины в своем составе содержали антигены, которые стимулировали как врожденный, так и адаптивный иммунитет. Во второй половине XX века вакцинология достигла значительных успехов в основном за счет внедрения новых методов разработки. Среди них методы культивирования тканей, которые позволили контролировать рост бактерий и репликацию вирусов в лабораторных условиях. Это достижение значительно ускорило крупномасштабное производство вакцин (D'Amelio E., Salemi S. и соавт., 2016). Отличительным достижением в этот период быстрой научной эволюции стал успешный контроль и почти полное искоренение полиомиелита. Двумя значительными участниками этих усилий были Джонас Солк и Альберт Сэйбин. В 1955 г. Д. Солк разработал первую инактивированную вакцину против полиомиелита (ИПВ), созданную с использованием химически инактивированных вирусных частиц, охватывающих все три типа полиовируса (Salk J.E., 1959). Однако ИПВ имела присущие ей ограничения, такие как инъекционный путь введения и необходимость дополнительных бустерных доз (Melnick J., 2011). Более того, при внедрении ИПВ столкнулись и с некоторыми первоначальными неудачами, включая заражение двух производственных партий жизнеспособными вирусными частицами, что привело к серьезным проблемам со здоровьем среди вакцинированных и отзывам продукции, а также вызвало значительные сомнения общественности относительно ее использования. Разработанные А. Сэйбином штаммы легли в основу живой оральной полиовирусной вакцины (ОПВ). Широкомасштабное внедрение живой полиомиелитной вакцины из штамма Сэйбина на территории СССР связано с двумя выдающимися отечественными вирусологами — академиками РАМН П.М. Чумаковым и А.А. Смородинцевым. Крупномасштабные клинические исследования в СССР под руководством М.П. Чумакова, позволили убедиться в безопасном профиле, эффективности и легкости введения ОПВ.

В 2016 г. произошел глобальный скоординированный переход от трехвалентной вакцины, содержащей штаммы Сэйбина типов 1, 2 и 3, к двухвалентной вакцине, содержащей штаммы Сэйбина типов 1 и 3. Примечательно, что частота выявления клинических случаев полиомиелита, вызванного дикими типами полиовируса, сократилась более чем на 99% с 1988 г., с 350 000 случаев более чем в 125 эндемичных странах до всего лишь 6 случаев, зарегистрированных в 2021 г. (Bigouette J.P., Wilkinson A.L. и соавт., 2021; Yeh M., Smith M. и соавт., 2023). Успех вакцин против полиомиелита является примером триумфа и проблем современной вакцинологии, отражая сохраняющуюся важность технологических, логистических и этических соображений в стремлении к улучшению глобального здравоохранения. Однако одной из главных проблем остается обеспечение оптимального охвата вакцинами особенно после пандемии COVID-19, в ходе которой объем снизился во многих регионах планеты (Din M., Ali H. и соавт., 2021). Стоит отметить, что процесс снижения уровня вакцинации связан не только с причинами добровольного отказа или экономического барьера, но и с таким важным фактором, как адаптация возбудителя в условиях массовой иммунизации. Как отмечается в докладе Алисы Юрьевны Медковой «Доклинические исследования безопасности, иммуногенности и защитной активности препарата "ГамЖВК", живой вакцины интраназального применения

для профилактики коклюша», ключевым ограничением существующих клеточных и бесклеточных вакцин для лечения коклюшной инфекции является их неспособность формировать полноценный противобактериальный иммунитет и эффективно препятствовать передаче инфекции. Этот аспект критически важен, учитывая, что коклюш — строго антропонозное заболевание, резервуар которого существует исключительно в человеческой популяции, а не в окружающей среде. И на сегодняшний день коклюш продолжает оставаться лидером детской смертности среди инфекций, управляемых средствами вакцинопрофилактики, как и до начала массовой вакцинации в середине XX века. В России в 2023 г. на фоне отмены неспецифических противозидемических мер после пандемии COVID-19 был зафиксирован взрывной рост заболеваемости коклюшем до рекордного за 22 года показателя 36,1 случая на 100 000 населения. Прогнозы на 2024 г. были неутешительными, и хотя заболеваемость снизилась, система здравоохранения столкнулась с новой суровой реальностью: после более чем 10-летнего периода без летальных исходов, только за 2023–2024 гг. зарегистрирован 21 смертельный случай среди детей в возрасте до 1 года. В связи с этим существует значительный интерес к разработке новых мукозальных вакцин, которые вызывают локальный иммунный ответ, обеспечивая лучшую защиту и ответ в месте проникновения вируса, в отличие от традиционных подходов к вакцинации, которые фокусируются на системном иммунитете. Например, учитывая естественный путь заражения туберкулезом, многие исследователи активно используют мукозальное введение, в частности, интраназальное, поскольку оно обладает потенциалом для обеспечения физиологических и иммунологических преимуществ против инфекции. Об этом в своем докладе говорит Кира Иосифовна Стосман «Оценка иммунотоксичности и аллергенности интраназальной векторной вакцины против туберкулеза». Одним из наиболее важных показателей иммунитета слизистых оболочек является продукция иммуноглобулина (Ig) A в слизистой оболочке. Вкратце, плазматические клетки продуцируют секреторный IgA, который затем выделяется секреторными эпителиальными клетками. Однако IgA, продуцируемый системно, не транспортируется в секреты слизистых оболочек. Это различие важно, поскольку некоторые вакцины могут вызывать измеримый уровень сывороточного IgA, однако при этом клетки слизистой оболочки не вырабатывают IgA. Важны подходы, основанные на материалах, которые эффективно генерируют оба иммунных ответа, поскольку патогены проникают в организм человека через слизистую оболочку и могут распространяться системно. Хотя механизмы преимущественной продукции IgA требуют дальнейшего изучения, характеристики антиген-презентирующих клеток слизистой оболочки и локальные профили цитокинов в слизистой среде могут быть использованы для создания иммунитета слизистой оболочки. Не менее важно, что эффективная защита от патогенов требует скоординированного участия как системного, так и мукозального иммунного ответа, задействующего выработку как IgG, так и IgA (Eshaghi B., Schudel A. и соавт., 2024). Различия в иммунных результатах парентерального и мукозального введения вакцин представлены на рис. 1 (Pilapitiya D., Wheatley A.K. и соавт., 2023). Так, внутримышечное введение вакцин вызывает преимущественно системный ответ, включающий высокий уровень циркулирующих противовирусных Т- и В-клеток памяти и антител с небольшой долей секреторного IgA слизистой оболочки, обнаружи-

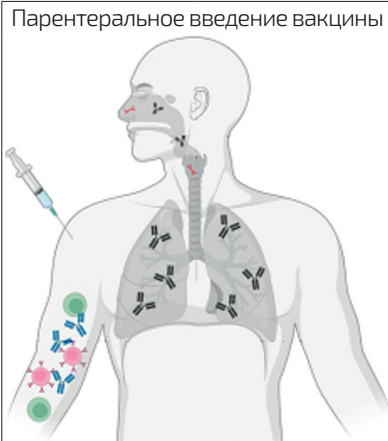
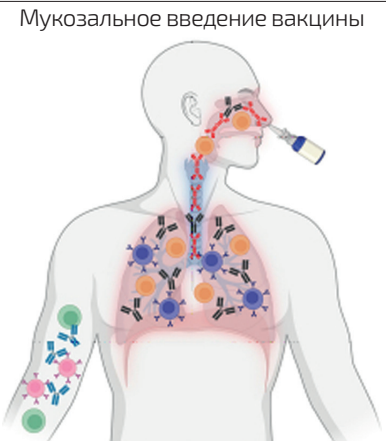


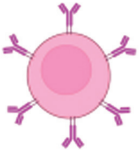
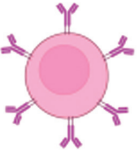








| | Парентеральное введение вакцины | | Мукозальное введение вакцины | | |
|--------------------------------------|---|---------------------------------|---|---------------------------------|----------------------------|
| |  | |  | | |
| Циркулирующие антитела |  | Циркулируют |  | Циркулируют | Системный иммунный ответ |
| В-клетки памяти |  | Циркулируют |  | Циркулируют | |
| T-киллеры |  | Циркулируют |  | Циркулируют | |
| Мукозальные IgA |  | Верхние дыхательные пути |  | Верхние/нижние дыхательные пути | Мукозальный иммунный ответ |
| Тканевые резидентные T-клетки памяти | | |  | Верхние/нижние дыхательные пути | |
| Тканевые | | |  | Нижние дыхательные пути | |
| Мукозальные IgG |  | Верхние/нижние дыхательные пути |  | Верхние/нижние дыхательные пути | |

Рис. 1. Различия в иммунных реакциях на парентеральное и мукозальное введение вакцин

ваемого благодаря транспорту через эпителий слизистой оболочки. Мукозальная вакцинация вызывает как системный, так и мукозальный гуморальный ответ. Мукозальная вакцинация способствует сохранению В- и Т-клеток памяти в лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой, в верхних и нижних дыхательных путях, создавая ниши для локального контакта с антигеном и быстрого ответа на иммунный ответ (Pilapitiya D., Wheatley A.K. и соавт., 2023).

Кроме того, использование вакцин при мукозальном пути введения позволяет проводить повторные ревакцинации в течение года. Возможность многократной повторной иммунизации важна в условиях, когда такая повторная иммунизация требуется, например, при острых респираторных вирусных инфекциях. Говоря о вакцинах против COVID-19 первого поколения, необходимо отметить, что они оказались высокоэффективными в облегчении тяжелого течения заболевания, что в дальнейшем могло позволить отказаться от госпитализации и избежать смертельного исхода. Считается, что нейтрализующие антитела, направленные против вирусного шипа, механистически лежат в основе наблюдаемой защиты вакцины от заражения SARS-CoV-2 или развития тяжелого заболевания COVID-19. Однако после вакцинации наблюдалось быстрое ослабление иммунитета, что потребовало введения бустеров для поддержания или повышения иммунного ответа. В дополнение к этому появление новых проблемных вариантов штаммов, которые обладают повышенной контагиозностью и способностью к уклонению от иммунного ответа, привело к значительному снижению эффективности в настоящее время лицензированных вакцин для сдерживания передачи вируса. На примере ситуации по коклюшной инфекции в ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России разработана новая вакцина для интраназального применения «ГамЖВК». Противококлюшная вакцина имеет в своем составе генетически аттенуированные бактерии возбудителя коклюша — кандидатного вакцинного штамма (*B. pertussis* 4MK5). За счет внесения мутаций в гены коклюшного и дермoneкротического токсинов вакцинный штамм продуцирует иммуногенный нетоксичный коклюшный токсин и не вырабатывает дермoneкротический токсин. Это позволяет индуцировать иммунный ответ, исключая токсические эффекты, ассоциированные с активностью коклюшного токсина, и локальное повреждение слизистых оболочек, опосредованное дермoneкротическим токсином. В настоящей публикации мукозальным вакцинам уделено большое внимание как с точки зрения «удобного» пути введения, так и использования новых технологий для реализации комплексного иммунного ответа.

Возвращаясь к истории разработки вакцин и вакцинации, прорывом в вакцинологии в XX веке стала профилактика онкологических заболеваний, связанных с инфекцией, для которой вакцина против гепатита В стала новаторской в этой области (Chang M-H., 2011). В 1982 г. с помощью методов молекулярной биологии была разработана первая субъединичная вакцина против гепатита В. Эта вакцина основана на производстве и очистке поверхностного белка из вируса и сыграла важную роль в снижении передачи этой гепатотропной инфекции и профилактике гепатоцеллюлярных карцином (Montero D.A., Vidal R.M. и соавт., 2024). В 1980-х годах с появлением новых биотехнологических методов начиналась разработка вакцин следующего поколения. Ключевой задачей на данном этапе стало снижение побочных эффектов и повышение безопасности уже используемых вакцин. Исследования в этой области

позволили не только значительно улучшить степень очистки вакцинных препаратов, но и создать вакцины, основанные на инновационных технологических платформах, таких как конъюгированные, субъединичные вакцины, вакцины на основе рекомбинантных белков и синтетических пептидов. Однако при создании подобных препаратов часто происходит потеря иммуностимулирующих факторов, характерных для живых аттенуированных вакцин, что обуславливает необходимость добавления адъювантов для стимуляции иммунного ответа на вакцинные антигены.

Развитие вакцинологии в XXI веке ознаменовалось созданием препаратов против ротавируса и вируса папилломы человека (ВПЧ). В 2006 г. были одобрены две вакцины против ротавируса, одна из которых основана на ослаблении вируса, а другая — на новой технологии реассортации вируса, позволяющей экспрессировать определенный ген в выбранном штамме ротавируса животных в качестве основы (Montero D.A., Vidal R.M. и соавт., 2024).

В последние годы были разработаны вакцины нового поколения на основе мРНК, вирусных векторов, вирусоподобных частиц и др. Эти вакцины являются недавним прорывом в вакцинологии, основанном на использовании непатогенных микроорганизмов, известных как векторы, действующих как «троянский конь». Сюда, например, относится работа Института экспериментальной медицины, которую представила Юлия Андреевна Дешева в докладе «Доклиническое изучение мукозальных вакцин против вирусных и бактериальных инфекций на основе пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3». В работе описана разработка вакцины против SARS-CoV-2 и бивалентной вакцины против гриппа и пневмококковой инфекции с использованием пробиотического вектора (штамм *E. faecium* L3). Путем введения генов SARS-CoV-2, вируса гриппа или *S. Pneumoniae* в хромосомную ДНК в области, кодирующей ген пилей пробиотического штамма *E. faecium* L3, на поверхности бактерии-пробиотика экспрессированы белковые факторы патогенности вирусов и бактерий (рис. 2, 3). Для конструирования вакцин были выбраны консервативные эпитопы. *E. faecium* L3 обладает рядом уникальных биологических свойств:

- высокой антагонистической активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий;
 - способностью восстанавливать микробиоту кишечника на фоне дисбактериоза;
 - иммуномодулирующим действием на организм хозяина;
- кроме того,
- *E. faecium* синтезирует множество бактериоцинов, которые не только оказывают антибактериальное действие, но и проявляют противовирусные свойства *in vitro*.

По результатам изучения иммуногенности бивалентной вакцины против гриппа при пероральном введении мышам увеличивались титры сывороточного IgG, локальные IgA в дыхательных путях, а также формировался клеточный иммунный ответ (CD4+, CD8+). Содержащиеся в бивалентной вакцине консервативные эпитопы вируса гриппа приводили к увеличению выживаемости мышей на 30% в модели летальной гриппозной инфекции и снижению репродукции вируса в легких. При оценке защиты против сочетанной гриппозной и пневмококковой инфекции на мышах вакцина показала хороший уровень защиты, 80% мышей были защищены от гибели,

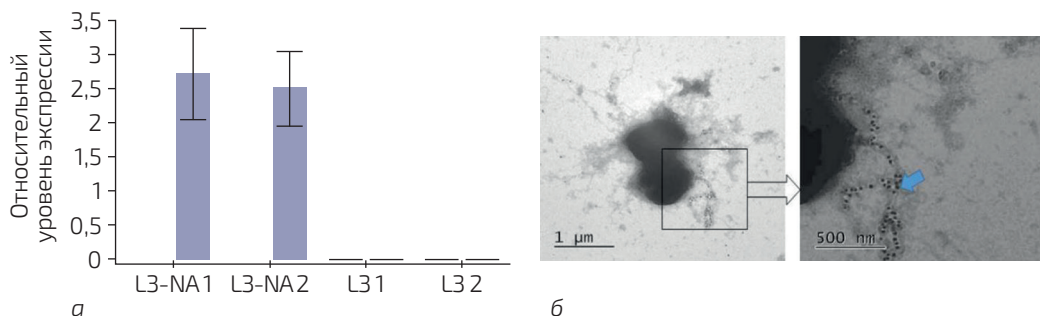


Рис. 2. Экспрессия целевого антигена в пиллях *E. faecium* L3: а — экспрессия м-РНК целевого антигена в бактериальной культуре (РТ-ПЦР-РВ); б — иммуноэлектронная микроскопия. *E. faecium* с экспрессией NA, обработанный первичными антителами к NA и вторичными конъюгированными IgG человека

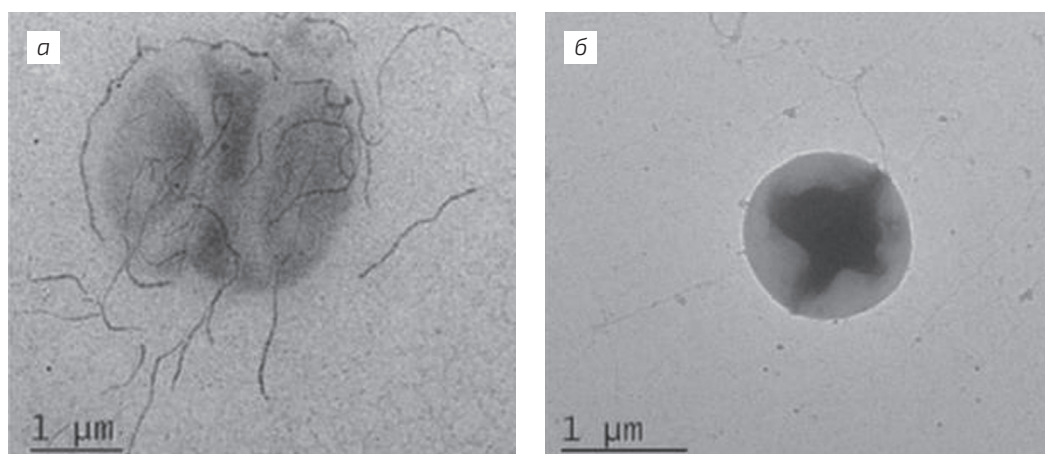


Рис. 3. Иммуноэлектронная микроскопия модифицированного штамма (а — L3-SARS) и исходного (б — *E. faecium* L3) после выявления с помощью поликлональной сыворотки от пациентов с COVID-19 с последующей обработкой IgG, конъюгированными с частицами золота размером 18 нм

в легких достоверно снижались не только титры вируса гриппа, но также и выделение *S. pneumoniae*, хотя различия не были статистически значимы. Как и в случае вакцины против гриппа, введение вакцины против SARS-CoV-2 мышам вызывало формирование гуморального, местного и клеточного иммунных ответов. При изучении протективности данной вакцины на сирийских хомяках пероральная иммунизация приводила к значительному снижению инфекционного процесса и улучшению морфологической картины в легких. Токсикологические исследования показали, что вакцины безопасны. Таким образом, разработанная технология введения целевых антигенов пилей энтерококка может использоваться для «конструирования» вакцинных препаратов.

Итак, современные методы генной инженерии предусматривают создание рекомбинантных векторов, содержащих последовательность ДНК или мРНК, кодиру-

ющую целевой антиген патогена. Такой вектор обеспечивает экспрессию данного антигена в клетках хозяина, что приводит к его презентации и последующей активации иммунного ответа (Deng S., Liang Y. и соавт., 2022; Sakurai F., Tachibana M. и соавт., 2022). Известные вирусные векторы, используемые в настоящее время, включают аденовирус, вирус кори, гриппа и поксвирус. Эти векторы могут быть репликативными (ослабленными) или генетически модифицированными, чтобы стать нерепликативными (инактивированными), что повышает профиль безопасности этих вакцин (Горенков Д.В., Комаровская Е.И. и соавт., 2023).

До пандемии COVID-19 лицензирование вакцин на основе векторов ограничивалось вирусом Эбола (Kieh M., 2022). Однако пандемия потребовала быстрого реагирования, что привело к разработке нескольких вакцин на основе вирусных векторов, которые экспрессируют шиповидный белок SARS-CoV-2. К ним относятся вакцина ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca/Oxford), которая использует модифицированный аденовирус шимпанзе; вакцина Ad26. COV2-S (Johnson & Johnson совместно с Janssen-Cilag International N. V.), где применяется аденовирус типа 26; вакцина Спутник V (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России), содержит два аденовирусных вектора тип 26 (первичный) и тип 5 (бустер) и вакцина Ad5-nCOV (CanSino Biologics), в которой используется аденовирус тип 5 (Montero D.A., Vidal R.M. и соавт., 2024).

Механизм действия этих вакцин является, действительно, инновационным. Если взять в качестве примера вакцину ChAdOx1, то генетически модифицированный аденовирус (вектор) проникает в клетку, перенося ген белка Spike в ядро клетки различных клеток-хозяев. Затем этот ген транскрибируется в мРНК, которая впоследствии мигрирует в цитоплазму. Внутри цитоплазмы рибосомы используют мРНК в качестве шаблона для производства белка Spike. После производства этот белок представляется иммунной системе, вызывая иммунный ответ против SARS-CoV-2 (Deng S., Liang H. и соавт., 2022).

Тем не менее, разработка вакцин на основе векторов сопряжена с трудностями, поскольку генетическая манипуляция с векторами требует высокой степени точности и контроля для обеспечения безопасности и эффективности вакцины. Кроме того, уже существующий иммунитет к вектору в популяции или полученный в результате первичной вакцинации может потенциально поставить под угрозу эффективность вакцины. Особенно это касается Т-клеточных вакцин, цель которых не выработка антител (гуморальный иммунитет), а активация специфических Т-лимфоцитов (клеточный иммунитет) для распознавания и уничтожения инфицированных или злокачественных клеток. Своим опытом в оценке эффективности подобных вакцин поделилась Ирина Николаевна Исакова-Сивак в докладе «Проблемы оценки иммуногенности Т-клеточных вакцин в доклинических исследованиях». Авторы столкнулись с явлением иммунодоминантности у трансгенных мышей CB6F1 при тестировании разработанной Т-клеточной вакцины против SARS-CoV-2 на основе гриппозного вектора. Явление заключается в том, что пока в качестве векторной платформы выступает вирус гриппа невозможно объективно оценить иммуногенность к человеческим Т-клеточным эпитопам у мышей. Отсюда и возникает проблема оценки Т-клеточных вакцин в доклинических исследованиях на животных, даже если они трансгенные, она не позволяет выбрать самый оптимальный вариант.

В качестве альтернативного подхода к решению данной проблемы рассматриваются методы *in vitro* на основе человеческих клеток. Группой под руководством Анки Хокриде были разработаны системы искусственных лимфатических узлов и «органы-на-чипе», однако их сложность и трудности стандартизации ограничивают применение для регуляторных целей (Tapia-Calle G., Born P.A. и соавт., 2019). Более простой подход предполагает использование цельной крови или выделение моноклеарных клеток периферической крови человека.

Следующим поворотным моментом в вакцинологии, вероятно, станут вакцины на основе нуклеиновых кислот. Как и векторные вакцины, вакцины на основе нуклеиновых кислот используют молекулы ДНК или РНК, которые кодируют патогенспецифические антигенные белки. Первые используют плазмиду в качестве носителя генетического материала, в то время как вторые — в основном инкапсуляцию в липидные наночастицы (Sette A., Crotty S., 2022).

Существует две категории вакцин на основе нуклеиновых кислот: ДНК и РНК. Когда вводится вакцина ДНК в основном посредством электропорации, ДНК проникает в клетки-хозяина и транспортируется в ядро, где транскрибируется в мРНК. мРНК далее транспортируется из ядра в рибосомы, ответственные за синтез желаемого антигена. Этот антиген подвергается процессингу и представлению иммунным клеткам, тем самым вызывая специфический иммунный ответ. В отличие от вакцин ДНК вакцины РНК допускают прямую трансляцию антигена в цитоплазме, то есть мРНК-вакцины используют клеточный аппарат хозяина для производства антигенов, предлагая более быструю и гибкую разработку. Кроме того, они значительно снижают риск геномной интеграции и вызывают высокий уровень иммунного ответа. Как и в случае с ДНК-вакцинами, результатом является специфический иммунный ответ против антигенов целевого патогена (Montero D.A., Vidal R.M. и соавт., 2024).

Недавние исследования выявили немутабельную область гемагглютинаина как перспективную цель для универсальной вакцины против гриппа. Режим праймер-буст с использованием вакцины мРНК на основе липидных наночастиц (30 мкг), нацеленной на консервативную часть гемагглютинаина из штамма Cal09 H1N1, вызвал выработку специфических антител у мышей, хорьков и кроликов. Эти защитные антитела обеспечили мышей гомологичным иммунитетом против Cal09 H1N1, гетерологичным иммунитетом против PR8 H1N1 и гетеросубтипичным иммунитетом против H5N1, в конечном итоге защитив их от летального вирусного заражения (Haghighi D., Eslami M. и соавт., 2025).

Ограничением вакцин на основе мРНК является их нестабильность, что обуславливает необходимость хранения при чрезвычайно низких температурах, что может представлять значительные логистические проблемы особенно в развивающихся регионах (Hogan M.J., Pardi N., 2022). Кроме того, хотя и редко, но сообщалось об аллергических реакциях на вакцины на основе мРНК (Moghimi S.M., 2021), а также о нетипичных тяжелых побочных эффектах, таких как паралич Белла (Poudel S., Nepali P. и соавт., 2022), синдром Гийена—Барре (Yu M., Nie S. и соавт., 2023) и миокардит/перикардит (Montero D.A., Vidal R.M. и соавт., 2024).

Помимо вакцин, технология мРНК внедряется во множество других медицинских отраслей, таких как генная терапия и иммунотерапия для лечения генетических заболеваний и рака соответственно. Результат достигается путем использования

синтетической мРНК, которая кодирует опухолеассоциированные или специфические антигены и может быть доставлена через аутологичные дендритные клетки или посредством прямых инъекций. Попав внутрь организма, мРНК транслируется, после чего полученный белок захватывается антигенпрезентирующей клеткой и представляется на молекулах МНС класса I и II с активацией CD8+ Т-клеток и CD4+ Т-клеток, последние из которых могут дополнительно способствовать активации В-клеток. Было показано, что TriMix, иммуностимулирующая мРНК-вакцина, которая экспрессирует CD70, CD40L и активную форму TLR4, вызывает выраженные ответы CD8+ Т-клеток у пациентов с меланомой стадии III или IV. Это привело к многообещающим показателям ответа, наблюдаемым в клиническом исследовании фазы II. В настоящее время компания Moderna проводит клиническое испытание (NCT03739931) мРНК-252, иммуностимулирующей вакцины, кодирующей человеческие OX40L, IL-23 и IL-36 для лечения лимфомы. Кроме того, мРНК-вакцина BNT111, кодирующая четыре опухолеассоциированных антигена (NY-ESO-1, MAGE-A3, тирозиназу и TPTE), продемонстрировала эффективность при лечении пациентов с меланомой (Sette A., Crotty S., 2022).

Как мы можем видеть, вакцины — это гетерогенная группа лекарственных средств, что затрудняет разработку универсального подхода к доклиническим исследованиям (ДИ). В отличие от лекарств, полученных химическим путем, вакцины обладают рядом специфических особенностей. Во-первых, вакцины являются биологическими препаратами, то есть их производство зависит от биологических источников, а для анализа используются биологические методы. Во-вторых, большинство вакцин создаются на основе живых организмов, что затрудняет определение их точного состава физико-химическими методами (исключение составляют синтетические вакцины). В-третьих, производственный процесс вакцин может приводить к образованию примесей, влияющих на безопасность и эффективность, что требует строгого контроля качества. В-четвертых, вакцины формируют специфический иммунный ответ, взаимодействуя с иммунной системой. В-пятых, вакцины вводятся здоровым людям, поэтому к их безопасности предъявляются особые требования. Производитель несет основную юридическую ответственность за качество, безопасность и эффективность вакцин. При изучении безопасности вакцин важно учитывать их воздействие на иммунную систему, поэтому оценка влияния вакцины на иммунные органы и функции должна быть обязательной частью токсикологических исследований.

Для вакцин установлены строгие нормативные критерии, направленные на проверку их качественных характеристик, эффективности и безопасности. Этой важной теме, а именно проработке нормативной базы в отношении ДИ вакцин, посвящен доклад Анастасии Евгеньевны Кательниковой [«Подготовка программы доклинических исследований вакцинных препаратов»](#). Согласно представленным данным, среди нормативных актов и рекомендаций в РФ, определяющих общие принципы доклинического изучения эффективности и безопасности вакцин, выделяют следующие:

- Федеральный закон от 12.04.10 № 61-ФЗ (ред. от 26.12.24) «Об обращении лекарственных средств» (с изменениями и дополнениями вступил в силу с 01.03.25);
- Национальный стандарт ГОСТ Р 56699–2015 «Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические исследования безопасности биотех-

нологических лекарственных препаратов. Общие рекомендации». Дата вступления в действие: 01.07.16 [перевод ICH S6 (R1): 2011. Addendum to Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals, IDT];

- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Иммунобиологические лекарственные препараты). Часть вторая. Москва: Гриф и К, 2012. 536 с.

В Федеральном законе № 61 и ГОСТе P56699–2015 прописано, что «Доклиническое исследование лекарственного средства для медицинского применения проводится в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики, утвержденными Евразийской экономической комиссией (ЕЭК)».

К документам ЕЭК, регулирующим доклинические и клинические изучения иммунобиологических препаратов, куда входят вакцинные препараты, относят:

- Решение Совета ЕЭК от 3 ноября 2016 г. № 78 (ред. от 22.01.25) «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения»;
- Решение Совета ЕЭК от 03.11.16 № 89 (ред. от 22.01.25) «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»;
- Решение Совета ЕЭК от 04.07.23 № 77 «О внесении изменений в Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»;
- Решение Совета ЕЭК от 14.06.18 № 55 «О внесении изменений в Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 78»;
- Решение Совета ЕЭК от 19.05.22 № 81 «О внесении изменений в Правила надлежащей практики фармаконадзора Евразийского экономического союза»;
- Решение Совета ЕЭК от 22.01.25 № 13 «О внесении изменения в Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»;
- Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.19 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов» (ред. от 11.10.22).

Соответственно при разработке программы ДИ новой вакцины следует руководствоваться вышеупомянутыми нормативными документами (табл. 1).

Табл. 1 составлена в основном по Решению Совета ЕЭК от 03.11.16 № 89, где изложены краткие общие рекомендации, касающиеся ДИ биотехнологических препаратов, включая доклиническую оценку вакцинных адъювантов. По описанию ДИ конкретных вакцин представлен только один документ — Решение Совета ЕЭК от 04.07.23 № 77. В документе изложены рекомендации по оценке качества, доклиническим и клиническим исследованиям вакцин против гриппа и оспы.

В РФ действует Руководство под ред. А.Н. Миронова (ч. 2, 2012), где подробно описаны и представлены дизайны ДИ вакцинных препаратов. Говоря об оценке безопасности, в руководстве рекомендовано проводить оценку острой и хронической токсичности на двух видах животных (грызуны и негрызуны). Для оценки фармакологической безопасности вакцин необходимо проводить тест «коразоловые судороги» (оценка влияния на центральную нервную систему), помимо клинического

Объем ДИ для вакцинных препаратов в соответствии с требованиями ЕЭК

| Объем доклинических исследований | Требуется (+)/ не требуется (-) |
|---|------------------------------------|
| Фармакодинамика | |
| Исследования <i>in vitro</i> | + |
| Исследования <i>in vivo</i> | + |
| Иммуногенность | + |
| Общетоксические свойства | |
| Токсичность при однократном введении (допустимо в рамках токсичности при повторном введении по Решению Совета ЕЭК № 77) | + |
| Токсичность при повторном (многократном) введении | + |
| Местная переносимость | + |
| Фармакокинетика | - |
| Фармакологическая безопасность | + |
| Специфическая токсичность | |
| Иммунотоксичность (допустимо включение в изучение при повторном введении по Решению Совета ЕЭК № 77) | + |
| Аллергизирующие свойства (допустимо включение в изучение при повторном введении по Решению Совета ЕЭК № 77) | + |
| Мутагенность | - |
| Канцерогенность | - |
| Репродуктивная токсичность (генеративная функция) | +/- |
| Репродуктивная токсичность (эмбрио-, фето- и тератогенное действие) | +/- |

Примечание. «+/-» — расхождения в нормативных документах между требованиями к данному виду исследования.

способа применения тестируемой вакцины у животных, использовать при изучении острой токсичности внутривенный путь введения. Это касается и определения аллергизирующих свойств, если в документах ЕЭК говорилось об изучении иммуногенных и аллергизирующих свойств в рамках оценки токсичности при многократном введении, то в руководстве речь идет об отдельных исследованиях. Иммунологическая токсичность должна оцениваться в тестах на мышах: клеточный и гуморальный иммунный ответ, оценка неспецифической резистентности, фагоцитарной активности и др. Аллергизирующее действие вакцин рекомендовано изучать в следующих тестах: реакция общей анафилаксии и активной кожной анафилаксии на морских свинках, а также реакция гиперчувствительности на мышах. В целом

вопрос оценки целесообразности изучения алергизирующих свойств новых лекарственных средств, в том числе иммунологических, носит дискуссионный характер. Если обращаться к международным рекомендациям, то в FDA рассматривают реакцию гиперчувствительности замедленного типа в рамках изучения иммуногенности. Проведение таких тестов, как активная или пассивная анафилаксия, реакция общей анафилаксии на морских свинках, не рекомендуется. Тем не менее в НИИ гриппа придерживаются Национального руководства. В работе «[Оценка иммунотоксичности и алергенности интраназальной векторной вакцины против туберкулеза](#)» Кира Иосифовна Стосман представила результаты оценки мукозальной вакцины в тестах «реакция общей анафилаксии» и «конъюнктивальная проба на морских свинках». Также оценивалось развитие потенциальных алергизирующих эффектов в реакции гиперчувствительности замедленного типа и реакции непрямого дегрануляции тучных клеток на мышах. Тестируемая вакцина является рекомбинантной векторной вакциной TB/FLU-05E, разработанной на основе аттенуированного штамма гриппа A/PR8/NS124-TB10.4-2A-HspX, экспрессирующего микобактериальные антигены TB10.4 и HspX. Вакцинный кандидат произведен на куриных эмбрионах. Во всех проведенных тестах никаких негативных эффектов новой кандидатной вакцины против туберкулеза не выявлено.

Следующий путь, по которому производители вакцин могут проводить ДИ для последующей регистрации, — это зарубежные рекомендации. Основные принципы доклинического исследования вакцин представлены в руководствах Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA), руководствах Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), руководствах Управления по контролю за продуктами и лекарствами США (Food and Drug Administration, FDA), а также в национальных сборниках (китайских, японских руководящих документах и т.д.). В настоящее время нормативные рекомендации для проведения ДИ вакцин в большинстве стран мира гармонизированы с рекомендациями EMA, FDA и ВОЗ.

Подробный анализ требований, касающийся выбора релевантного вида животных для оценки эффективности и безопасности вакцинного препарата, описан в Консультанте GLP-PLANET 2023 г. Однако вопрос выбора релевантного вида животных для ДИ, несмотря на его традиционную значимость, остается актуальным в свете развития новых технологий и получения новых данных, что подтверждается содержанием большинства докладов настоящей сессии. Выбор вида животных должен основываться на совокупности двух обстоятельств.

Во-первых, животные должны быть восприимчивы к соответствующей инфекции. Это необходимо для адекватной оценки протективных свойств.

Во-вторых, исследуемая вакцина должна быть иммуногенна у животных, то есть в ответ на введение вырабатываются нейтрализующие антитела в достаточном титре, и/или развивается Т-клеточный иммунный ответ в зависимости от механизма иммунологической защиты.

Как следует из доклада Анны Андреевны Штро «[Различные варианты моделирования гриппозной инфекции *in vivo*](#)», для моделирования патологии, вызванной штаммами вируса гриппа, а также для оценки безопасности препаратов могут быть использованы как линейные, так и нелинейные мыши. Коллектив лаборатории хи-

миотерапии вирусных инфекций НИИ гриппа разработал различные модели гриппозной инфекции в зависимости от целей исследования:

1. Летальная гриппозная пневмония у мышей. Данная модель применяется для оценки фармакодинамической активности противовирусных препаратов по таким показателям, как выживаемость, динамика массы тела животных, титры вируса в легочных тканях и носовых хрящах, гистология органов дыхательной системы. Важным методологическим аспектом является необходимость предварительной адаптации клинического изолята вируса к мыши путем серии последовательных пассажей, поскольку нативный штамм, выделенный от пациента, в большинстве случаев не обладает выраженной вирулентностью для данной биологической модели.
2. Нелетальная гриппозная инфекция у мышей. Достижение нелетального течения инфекции возможно двумя способами: использованием меньшей инфекционной дозы вируса или введение вируса в меньшем объеме. Последний подход представляет особый интерес для исследований, направленных на изучение тонких механизмов патогенеза гриппозной инфекции или влияния препаратов на клеточные факторы иммунного ответа, в отличие от грубой оценки общей эффективности терапии.
3. Сочетанная гриппозно-бактериальная пневмония у мышей является наиболее клинически релевантной, приближенной к условиям *in vivo* у человека, которая предусматривает заражение животных вирусом гриппа с последующей суперинфекцией вторичной бактериальной микрофлорой. Тяжесть течения патологии в данной модели напрямую зависит от временного интервала между введением вируса и бактериального патогена.
4. Нелетальная гриппозная инфекция у морских свинок. В этом случае возможно использование клинических изолятов вируса гриппа без предварительной адаптации. Модель часто используется для экспериментов по изучению трансмиссии гриппа.
5. Нелетальная гриппозная инфекция у хорьков. Также возможно заражение клиническими изолятами гриппа без предварительной адаптации. Формируется инфекционный процесс с такими же симптомами, как у и людей, — это кашель, насморк, лихорадка. Используется для оценки эффективности терапевтических средств.

Однако Илья Владимирович Гордейчук в докладе «[Применение приматов вида *Callithrix jacchus* для исследования долгосрочного созревания поствакцинального иммунного ответа](#)» в отношении мышей отметил, что данный вид животных может демонстрировать ограниченную релевантность в качестве модели для изучения долгосрочного созревания иммунного ответа, а также для ДИ интраназальных вакцин. Это связано с анатомо-физиологическими особенностями, в частности, с соотношением площади слизистых оболочек к объему лимфоидной ткани, которое значительно отличается от такового у человека. Это в целом к вопросу о морфофункциональной релевантности тест-систем, используемых для ДИ лекарственных средств (Derelanko M.J., Hollinger M.A., 2001).

Тем не менее мышинные модели остаются незаменимым инструментом для проведения базовых скрининговых исследований иммуногенности. Ярким примером

служит работа, представленная Натальей Александровной Лычевой «[Оценка напряженности иммунитета при введении комбинированной вакцины против гриппа и COVID-19 на мышах](#)», где на мышах линии Balb/c проводили подбор различного состава комбинированной вакцины против гриппа и COVID-19. В качестве тест-объектов использовали Ультрикс® Квадри (противогриппозная четырехвалентная вакцина), антиген коронавируса 3 и 6 мкг и гидроксид алюминия. Оценку иммунного ответа проводили с помощью реакции нейтрализации для вируса SARS-CoV-2 и реакции торможения гемагглютинации для вирусов гриппа. Результаты исследования показали, что увеличение дозы коронавирусного антигена с 3 до 6 мкг не приводило к статистически значимому росту титров нейтрализующих антител, что позволило сделать вывод об отсутствии необходимости повышения дозировки. Титр антител к четырем штаммам вируса гриппа статистически значимо увеличивался в группе животных, получивших комбинированную смесь, содержащую гидроксид алюминия, что требует необходимости включения в состав адъюванта. Таким образом, использование мышей допустимо для поисковых экспериментов, но для изучения тонких механизмов формирования протективного иммунитета и оценки эффективности требуются более сложные тест-системы, такие как хомяки, хорьки или приматы, что актуализирует поиск новых релевантных видов животных.

В частности, хорьки являются лучшей тест-системой для изучения гриппа у человека. В Решении Совета ЕЭК от 04.07.23 № 77 прописано: «Наиболее адекватной моделью для исследования защитных свойств вакцин для профилактики гриппа (при условии, что исследуемый штамм вируса гриппа хорошо реплицируется и вызывает симптоматическую инфекцию) являются хорьки, поскольку патогенез заболевания, клиническая симптоматика, включая лихорадку, и механизмы формирования иммунитета схожи с таковыми у человека. Оценка протективности вакцин для профилактики гриппа на мышах нецелесообразна, поскольку хорьки обладают наиболее высокой восприимчивостью к заражению вирулентными штаммами вируса гриппа». Сирийские хомяки (*Mesocricetus auratus*) являются стандартной моделью для изучения инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2 и соответственно широко применяются для доклинической оценки эффективности вакцин и противовирусных препаратов против COVID-19. В исследовании Маргариты Михайловны Сазоновой «[Оценка иммуногенных свойств холодоадаптированных штаммов SARS-CoV-2 на сирийских хомяках](#)» изучали иммуногенность холодоадаптированного штамма SARS-CoV-2ca-AYDAR-2 (вирус SARS-CoV-2, вариант Delta) в сравнении с вакцинным штаммом AYDAR-2. Хомяков интраназально заражали данными штаммами, после чего проводили ежедневное клиническое наблюдение; детекцию РНК вируса методом ПЦР в образцах из дыхательных путей, легочной ткани и носовых раковин; гистопатологический анализ легких; оценку иммуногенности. Результаты показали, что ни один из изучаемых штаммов не вызывал клинически значимых симптомов заболевания. Однако был выявлен выраженный дозозависимый эффект. При инокуляции холодоадаптированного штамма в дозе 3,0 lg ТЦД₅₀/мл вирусная РНК не обнаруживалась в образцах из дыхательных путей и легких. Введение вируса в более высокой дозе (4–5 lg ТЦД₅₀/мл) приводило к развитию незначительных морфологических изменений в легочной ткани, причем более высокая доза вызывала патологические изменения раньше — начиная с 4-х суток после заражения.

При этом использование хомяков в эксперименте как чувствительной тест-системы в отношении заболевания COVID-19 позволило зафиксировать эти изменения и провести оценку иммуногенности аттенуированных штаммов SARS-CoV-2.

Тем не менее для большинства разрабатываемых вакцинных препаратов отсутствуют адекватные биологические модели для ДИ. Значимым исключением являются модели на приматах, которые рассматриваются в качестве наиболее релевантных для оценки протективной эффективности, что, как известно, требует проведения исследований с заражением живыми культурами возбудителя, в частности, штаммами дикого типа.

Алиса Зауровна Матуа поделилась опытом работы ГНУ «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии» (доклад «[Доклинические исследования вакцинных препаратов на низших приматах разного вида и возраста](#)») на низших приматах различных видов и возрастных групп в ДИ. Этот опыт наглядно демонстрирует, почему в ряде случаев исследования на приматах являются незаменимым методом для всесторонней характеристики фармакологических и токсикологических свойств вакцинных препаратов. При создании биологических моделей инфекционных заболеваний человека исключительное значение приобретает правильный выбор экспериментального животного, то есть использование такого объекта исследования, на котором с достаточным постоянством и максимально приближенной к естественному заболеванию форме воспроизводятся основные клинические и патоморфологические проявления изучаемого процесса. У большинства лабораторных животных, несмотря на их ценность для экспериментальных исследований, редко можно воспроизвести инфекционную болезнь в целом. В первую очередь это касается антропонозных инфекций, возбудители которых исторически (эволюционно) приспособлены к паразитированию в организме человека. В связи с этим обезьяны, составляющие наряду с человеком единый отряд приматов, стали привлекать внимание исследователей. С середины XX столетия приматы особенно часто стали использоваться для решения самых разнообразных проблем медицины и биологии и в первую очередь для изучения проблем инфекционной патологии человека, что особенно важно для ее профилактики (Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., и соавт., 2011). Большинство современных достижений в области профилактики инфекционных заболеваний человека были получены благодаря исследованиям на четырех основных родах приматов: высших (шимпанзе) и низших (макаки, мартышки, павианы). Следует отметить, что макаки и павианы — низшие приматы (узконосые обезьяны) Старого Света входят в один инфраотряд с высшими обезьянами (человекообразные) и человеком. На этих видах выполнено более 70% всех экспериментальных исследований в области медицинской приматологии (Лапин Б.А., 2010). В Научно-исследовательском институте экспериментальной патологии и терапии (НИИЭПит, Абхазия) работали с различными моделями инфекционных заболеваний вирусной этиологии (табл. 2), включая корь, полиомиелит, геморрагическую лихорадку, энцефаломиокардит (штамм МК-70), аденовирус, энтеровирусы, гепатита А и коронавирусы обезьян (Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., и соавт., 2011). Существование модели коронавирусной инфекции у приматов, в частности, позволило провести доклинические испытания во время пандемии COVID-19.

Таблица 2

Некоторые модели вирусных инфекционных заболеваний, разработанные в НИИЭПит

| Год | Нозология | Объект исследования | Вид обезьян | Цель изучения |
|---------------|---|--|---|--|
| 1962– 1964 | Корь | Вирус кори человека | Макаки резус, макаки ассамские, павианы гамадрилы | Патогенез, вакцинальный процесс |
| 1954– 1957 | Полиомиелит | Полиовирус человека | Макаки резус, макаки яванские, зеленые мартышки, павианы гамадрилы | Патогенез, иммуногенез, эпидемиология, испытание вакцинных штаммов |
| 1974 | Геморрагическая лихорадка обезьян — ГЛО | Вирус ГЛО, штамм «Сухуми-64» | Макаки резус | Клинико-патоморфологическая характеристика, патогенез, танатогенез |
| 1976 | Энцефаломиокардит | Вирус энцефаломиокардита, штамм ЭМК-70 | Макаки резус, павианы гамадрилы, зеленые мартышки, красные обезьяны | Клинико-патоморфологическая характеристика |
| 1990 | Гепатит А | Вирус гепатит А (ВГА) человека | Макаки резус, макаки яванские, зеленые мартышки, павианы гамадрилы | Клинико-патоморфологическая характеристика, патогенез, испытание вакцины |

Отдельный интерес представляло моделирование с возбудителями бактериальных инфекций в НИИЭПит. Подробнее в докладе было представлено совместное с ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» исследование последних лет, посвященное моделированию коклюша на низших приматах разного вида и возраста и оценке безопасности, иммуногенности и защитной активности вакцинного препарата против коклюша «ГамЖВК» (Кубрава Д.Т., Медкова А.Б. и соавт., 2013). Несмотря на высокую релевантность приматов для оценки противокклюшных вакцин, авторы столкнулись с техническими сложностями, связанными с отбором достаточного объема биоматериала для исследований. Это ограничило возможность работы с месячными детенышами макак резусов. В результате был разработан метод забора крови из паха у месячных детенышей павианов гамадрилов (Кубрава Д.Т., Медкова А.Ю.

и соавт., 2024). Результаты совместной работы подробно представила А.Ю. Медкова, старший научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Исследование проводилось на 20 павианах гамадрилах (7 детенышей в возрасте 1–1,5 мес, 7 матерей в возрасте 6–10 лет; 2 контрольные группы по 3 особи). Первичную иммунизацию (V1) проводили детенышам в возрасте 1–1,5 мес с последующими реиммунизациями (V2 и V3) с интервалом 2 мес. Через 12 мес после второй реиммунизации животных заражали вирулентными бактериями возбудителя коклюша *B. pertussis* 475. В исследовании оценивали безопасность, переносимость, иммуногенность (уровень специфических антител после каждой вакцинации) и защитную активность. Важным аспектом исследования стала оценка трансмиссии вакцинного штамма в парах мать—дитя. Полученные данные свидетельствуют о пассивной иммунизации матерей при тесном контакте с вакцинированным потомством, что подтверждается обнаружением специфических антител в сыворотке крови самок. Авторы рассматривают данный феномен как положительный дополнительный эффект вакцинации (Кубрава Д.Т., Медкова А.Ю. и соавт., 2024). Таким образом, исследования на приматах позволяют получить комплексные данные, необходимые для формирования доклинического досье новых вакцинных препаратов.

В качестве релевантной модели для изучения долгосрочного созревания поствакцинального иммунного ответа представляет интерес работа, предложенная И.В. Гордейчуком [ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)] и А.И. Тухватулиным (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России) с использованием приматов вида *Callithrix jacchus* (обыкновенная игрунка). Авторы установили, что данный вид изначально невосприимчив к SARS-CoV-2, что позволило в течение 2,5 лет изучать формирование поствакцинального иммунитета после введения вакцины «Спутник V». Исходная резистентность данного вида обеспечивает стабильность экспериментальных условий: отсутствие естественной циркуляции вируса и дополнительных иммунных стимулов даже при возможном контакте с инфицированным персоналом. На данной модели удалось провести сравнительную оценку динамики формирования мукозального, системного и Т-клеточного иммунного ответа после внутримышечного и интраназального введения вакцины, а также продемонстрировать долгосрочное созревание аффинности специфических антител и доли нейтрализующих антител в общем пуле иммуноглобулинов (рис. 4, 5).

Таким образом, при работе с приматами в долгосрочных исследованиях тоже есть свои нюансы, а также нужно учитывать еще такие факторы, как доступность, особенности содержания, экономические возможности. Если говорить о других видах животных, не мышах, то здесь есть ограничение — доступность наборов специфических реагентов касательно таких видов животных, как хомяки, морские свинки, хорьки и те же приматы. Поэтому возвращаясь к мышам, использование данной тест-системы возможно в альтернативных долгосрочных исследованиях, экспериментах при многократном введении. Так, в НИИ гриппа разработана экспериментальная модель на мышах линии BALB/c для изучения эффектов повторной иммунизации против гриппа (доклад Марии Дмитриевны Ладыгиной «[Моделирование повторных иммунизаций гриппозными вакцинами в экспериментах *in vivo* на мышах Balb/c](#)»). Необходимость такой модели обусловлена данными о снижении эффективности вакцинации у лиц, многократно прививавшихся в течение

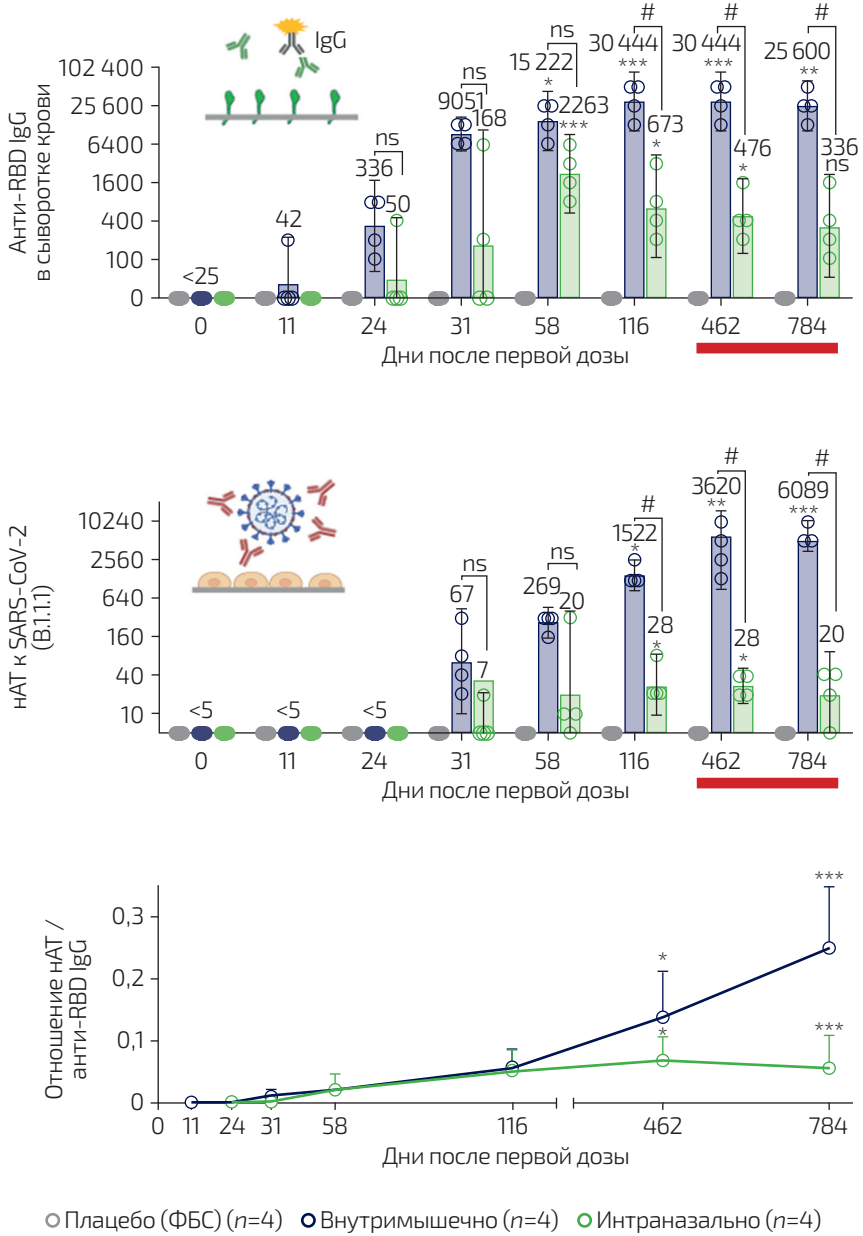


Рис. 4. Долгосрочное созревание центрального гуморального ответа после интраназального или внутримышечного введения аденовирусной векторной вакцины (Tukhvatulin A.I., Gordeyuchuk I.V. и соавт., 2025): * $p < 0,05$, ** $p < 0,005$, *** $p < 0,001$ — непараметрический тест Фридмана; # $p < 0,05$, двухфакторный дисперсионный анализ с апостериорным тестом Тьюки; ns — статистически незначимо

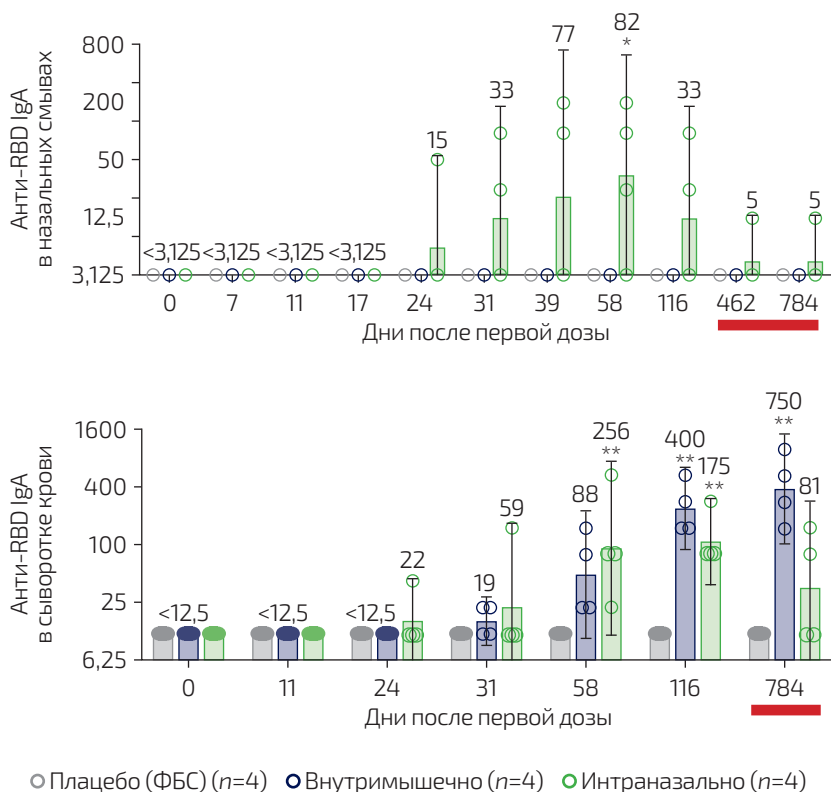


Рис. 5. Созревание локального гуморального ответа после интраназального или внутримышечного введения аденовирусной векторной вакцины (Tukhvatulin A.I., Gordeychuk I.V. и соавт., 2025): * $p < 0,05$, ** $p < 0,005$ — непараметрический тест Фридмана

нескольких сезонов, по сравнению с впервые вакцинированными. При повторных иммунизациях сезонными инактивированными гриппозными вакцинами (ИГВ) может наблюдаться снижение гуморального и В-клеточного ответа на вакцинацию. Авторы использовали прототипы живой гриппозной вакцины (ЖГВ, аттенуированная векторная вакцина на основе вируса гриппа A/H1N1 с укороченным NS1-белком A/H1N1Guandong-Maonan NS124) и ИГВ (инактивированный вирус гриппа, штамм A/H1N1/Guandong-Maonan). Для определения оптимального времени ревакцинации оценивали временную динамику иммунного ответа: пик антител наблюдался к 63-му дню эксперимента (42 дня после двукратной иммунизации), а достоверное снижение уровня антител — к 105-му дню. Третья иммунизация, проведенная на этом фоне, вызывала значительный прирост антител в обеих группах. Гистологическое исследование селезенки мышей подтвердило формирование герминативных центров после трехкратной иммунизации как ЖГВ, так и ИГВ. Таким образом, разработанная модель может использоваться для дальнейшего изучения иммуногенности и протективной эффективности при многократной вакцинации против гриппа.

В контексте обсуждения возможных экспериментальных моделей для изучения поствакцинального иммунного ответа заслуживает внимания исследование «Оценка иммуногенности живого аттенуированного вируса гриппа А с укороченным NS1-белком при внутрикожном введении на модели карликовых свиней», представленное Анной-Полиной Сергеевной Шурыгиной. Авторы работы предприняли поиск новой релевантной биологической модели, впервые используя карликовых свиней в качестве тест-системы при внутрикожном способе введения нового вакцинного препарата. Выбор карликовых свиней был обусловлен рядом факторов. Во-первых, анатомо-гистологическое строение кожи карликовых свиней демонстрирует высокую степень сходства с человеческой, что особенно значимо для исследований внутрикожной иммунизации. Во-вторых, отмечается высокая степень схожести механизмов развития иммунного ответа между свиньями и человеком. Кроме того, карликовые свиньи уже используются в качестве модели для изучения различных заболеваний, включая грипп и туберкулез, что подтверждает их релевантность для изучения вакцинных препаратов. В ходе исследования было зафиксировано формирование специфических антител, а также выраженный бустер-эффект после повторной иммунизации, что свидетельствует о перспективности данной модели (рис. 6–8). Работа сотрудников НИИ гриппа расширяет перечень релевантных лабораторных животных для ДИ вакцинных препаратов, предлагая альтернативу традиционным моделям.

Вопрос использования трансгенных животных при разработке вакцинных препаратов, в частности, для исследования специфических механизмов иммунного от-

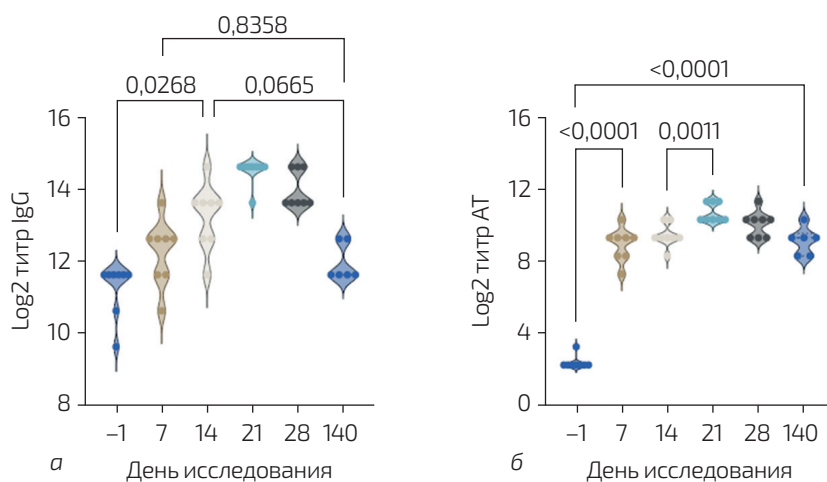


Рис. 6. Гуморальный ответ к вектору вируса гриппа: а — титры общих IgG к А/PR/8/34 (H1N1) методом ИФА; б — титры антиагглютинирующих антител к А/PR/8/34 (H1N1) методом РТГА. Здесь и на рис. 7 и 8: достоверные различия между группами при $p < 0,05$ (ANOVA, множественные сравнения с использованием критерия Тьюки)

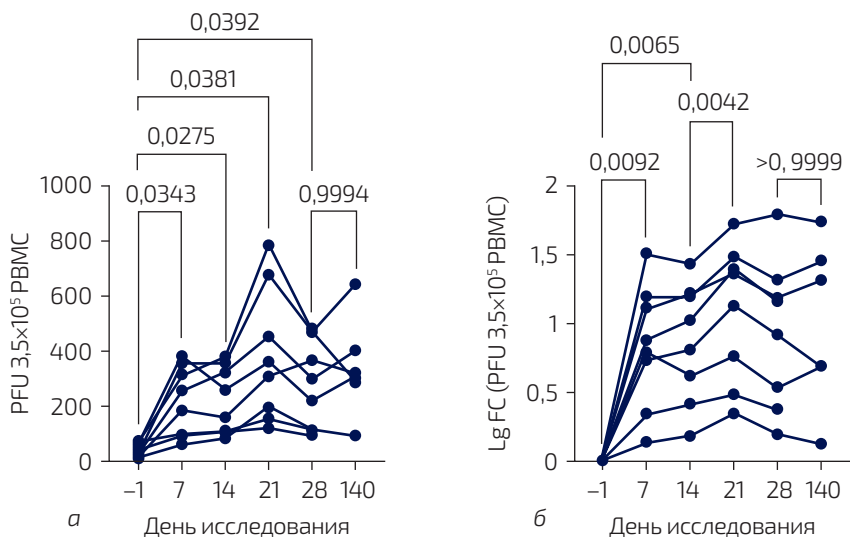


Рис. 7. NP-специфический Т-клеточный ответ на внутрикожную иммунизацию 7Flu14/N21S28124_ESAT6. Стимуляция PepTivator A/H1N1 NP: а — динамика количества спотов (SFU/3,5×10⁵ МПК); б — динамика индивидуальных значений нормализованных данных кратности изменений числа спотов (Lg FC) относительно -1 дня исследования

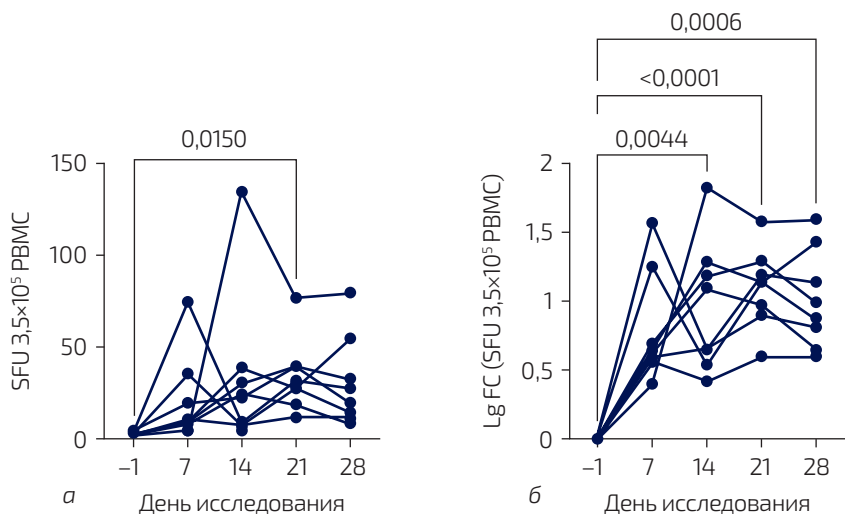


Рис. 8. ESAT6-специфический Т-клеточный ответ на внутрикожную иммунизацию Flu/NS124_ESAT6. Стимуляция PepTivator M. tuberculosis ESAT-6: а — динамика количества спотов (SFU/3,5×10⁵ МПК); б — динамика индивидуальных значений нормализованных данных кратности изменений числа спотов (Lg FC) относительно -1 дня исследования

вета, уже был затронут. В работе Ирины Николаевны Исаковой-Сивак «Проблемы оценки иммуногенности Т-клеточных вакцин в доклинических исследованиях» проводилась оценка иммуногенности на мышах, экспрессирующих человеческий главный комплекс гистосовместимости HLA-A2.1. Авторами разработана Т-клеточная вакцина от SARS-CoV-2 на основе гриппозного вектора (Stepanova E., Matyushenko V. и соавт., 2024). Эта работа вносит вклад в решение масштабной задачи по созданию нового поколения Т-клеточных вакцин, необходимость которых обусловлена ключевой ролью Т-клеток памяти в защите от респираторных вирусных патогенов, включая различных возбудителей ОРВИ. Стратегии создания Т-клеточных вакцин против любых вирусов можно разделить на две категории. Первая, когда используется целый вирусный белок, который обогащен Т-клеточными эпитопами и доставляет их в клетку, либо это вирусный вектор или мРНК и ДНК. При этом векторная система должна обладать высокой емкостью генома, что не всегда удобно. Вторая стратегия, когда используются небольшие пептиды, эпитопы, на которые формируются Т-клетки памяти. Соответственно, используя эту стратегию, можно включать большое разнообразие Т-клеточных эпитопов разных вирусов, то есть делать комбинированные кассеты без высокой емкости генома. Однако требуется углубленный биоинформатический анализ итоговых комбинаций Т-клеточных эпитопов, но главная проблема — это то как оценивать эффективность Т-клеточных вакцин. Доклиническая оценка иммуногенности Т-клеточных вакцин осложнена различиями в иммунной системе человека и лабораторных животных, поскольку презентация целевых пептидов на комплексах МНСI и МНСII происходит по-разному (Isakova-Sivak I., Stepanova E. и соавт., 2021).

В представленной авторами работе в качестве тест-системы использовали мышей СВ6F1. При использовании стандартной схемы иммунизации регистрировали выраженный Т-клеточный ответ к вирусу гриппа. Однако при оценке ответа к человеческим эпитомам коронавируса значимого иммунного ответа не зафиксировано. Последующий анализ показал, что, несмотря на подтвержденную экспрессию человеческого HLA-A2.1 и способность мышей продуцировать Т-клетки против человеческих пептидов, наблюдался феномен иммунодоминантности. По данным литературы, действительно, есть абсолютно иммунодоминантные эпитопы, пептиды, NP-366 и M1, то есть пока в качестве векторной платформы выступает вирус гриппа, невозможно оценить иммунный ответ к человеческим эпитопам. Отсюда и возникает проблема оценки Т-клеточных вакцин в ДИ на животных, даже если они трансгенны, это не позволяет выбрать самый оптимальный вариант. Для разработанной бивалентной COVID-19-вакцины для оценки Т-клеточного иммунного ответа использовали клетки периферической крови реконвалесцентов, то есть людей, которые перенесли COVID-19. Метод внутриклеточного окрашивания и оценки продукции цитокинов позволил идентифицировать наиболее перспективный кандидатный препарат, который в дальнейшем изучали в ДИ на хомяках и макаках-резус (доклад Матюшенко В.А. «Особенности оценки безопасности живой интраназальной вакцины»). Оценка безопасности включала мониторинг состояния животных, анализ репликации вакцинного вируса, клинические и биохимические показатели крови, гистологическое исследование органов, а также изучение биораспределения препарата и нейровирулентности. Таким образом, несмотря на ограничения тради-

ционных доклинических моделей, современные методики *in vitro* на человеческих клетках представляют перспективный инструмент для оценки иммуногенности вакцин нового поколения.

Если для вакцинных препаратов для реализации фармакологического эффекта (иммуногенность, протективность) необходим скрупулезный поиск релевантного вида животных, то для оценки анатоксинов, например ботулинического, подходят мыши и кролики, поскольку это определение эффекта миорелаксации, кроме того, здесь возможна реализация принципов 3R за счет возможности совмещения с оценкой безопасности. При этом есть нюанс, например, для сравнения препаратов до начала экспериментальной работы на животных необходимо на этапе *in vitro* провести оценку активности препаратов. Так, в работе Ольги Витальевны Денисовой «[Оценка специфической активности ботулинического токсина типа А](#)» соотношение активности препарата сравнения и тестируемого объекта составило 2:1, что далее учитывалось при проведении сравнительной фармакодинамической оценки. В результате исследования был продемонстрирован сопоставимый фармакодинамический эффект препаратов ботулотоксина типа А на мышах и кроликах.

При переходе от оценки иммуногенности и протективной эффективности к изучению безопасности вакцинных препаратов общепринятой практикой является использование двух видов животных: грызунов и негрызунов. Проведение исследований безопасности на релевантных видах животных, как уже говорилось, представляет собой обязательное требование ДИ. Несмотря на кажущуюся простоту и устоявшуюся методологию оценки безопасности, существуют отдельные классы вакцинных препаратов, для которых разработка адекватных дизайнов исследований сопряжена со значительными трудностями. Эти сложности возникают уже на этапе планирования экспериментов по оценке безопасности, например, онколитических препаратов, и требуют особого методического подхода — одновременно как для биотехнологических препаратов, так и живых вирусных вакцин и противоопухолевых средств. Это касается онколитических вирусов (ОЛВ). Своим опытом работы с данной группой препаратов поделился Константин Владимирович Сивак, заведующий отделом доклинических исследований ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева», в докладе «[Результаты доклинического изучения безопасности противоопухолевых препаратов на основе живых непатогенных энтеровирусов](#)». Препараты на основе непатогенных энтеровирусов, обладающих онкотропными и онколитическими свойствами, представляют инновационный подход к терапии онкологических заболеваний и профилактике метастазирования. В процессе проникновения онкологических вирусов в организм пациента происходит взаимодействие, проникновение (заражение опухолевых клеток) внутрь клетки за счет рецепторов, находящихся в этой клетке, чувствительность к которым заложена в геноме энтеровирусов. Далее они реплицируются и в процессе выхода из клетки (цитолитического действия на опухолевые клетки) активируют взаимодействие иммунной системы и улучшают распознавание иммунной системой опухолевых антигенов, что вторично усиливает противоопухолевый иммунитет. Целью работы являлось проведение ДИ безопасности с изучением общетоксического действия при однократном и многократном введении, местно-раздражающего действия, фармакологической безопасности и пирогенности препаратов. Это соответствует этапу регистрационных ДИ ОЛВ-пре-

паратов на основе непатогенных штаммов энтеровирусов: ЖЭВ4, ЖЭВ7, ЖЭВ8, ЖЭВ14 и Russo, полученных А.В. Липатовой, С. П. Чумаковым, П.М. Чумаковым. Первоначальный дизайн экспериментов не содержал полной программы тестирования, потому что за основу брали изучение безопасности вакцинных штаммов и кандидатов, так как нет требований к онкологическим вирусам в нормативной документации РФ. Авторам пришлось дорабатывать дизайн исследования с обоснованием выбора кратности и путей введения, тест-систем, учитывая сочетание требований международных руководств ICH S6 [ICH guideline S6 (R1) — preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals. EMA/CHMP/ICH/731268/1998. 2011] и рекомендаций EMA по онколитическим вирусам [гармонизированное трехстороннее руководство ICH «Доклиническая оценка противоопухолевых лекарств S9»; ONCOLYTIC VIRUSES (EMA/CHMP/ICH/607698/2008)]. Исследования проводились на мышах Balb/c, крысах Wistar и кроликах породы шиншилла с использованием доз 10^5 и 10^6 ЦПД₅₀/животное при различных режимах введения. ДИ было выполнено в соответствии с принципами GLP: процедуры планирования, сбора, обработки, документирования, оценки достоверности материалов, а предоставление полученных результатов доклинического исследования соответствовало требованиям законодательства РФ в сфере обращения лекарственных средств. В результате ДИ показано отсутствие летальности, патологических проявлений в состоянии и поведении животных, изменений со стороны величин массовых коэффициентов органов и морфологических изменений при однократном внутривенном введении ОЛВ в дозах 10^5 и 10^6 ЦПД₅₀/животное; показано отсутствие летальности, патологических проявлений в состоянии и поведении, изменений интегральных показателей жизнедеятельности, нарушений системы терморегуляции и изменений со стороны величин массовых коэффициентов органов у опытных животных, иммунизированных препаратами в дозах 10^5 и 10^6 ЦПД₅₀/животное внутривенно (с интервалом в 7 дней) в течение 90 дней; отсутствие повреждающего воздействия ОЛВ в отношении органов и систем, функции которых могут быть временно нарушены вследствие неблагоприятных фармакодинамических эффектов без причинения необратимого вреда (мочевыделительная система, системы крови и обмена веществ), органов и систем, функции которых остро критичны для жизни (дыхательная, сердечно-сосудистая и центральная нервная системы), а также на репродуктивную систему самцов и самок; отсутствие генотоксичности ОЛВ-препаратов. Тем не менее остается вопрос для некоторых высокотехнологичных лекарственных препаратов, в частности на основе соматоклеточных продуктов, допустимо/необходимо ли проводить исследование безопасности в рамках исследования модельной патологии. По мнению К.В. Сивак, важным методологическим аспектом является необходимость комплексного подхода, включающего исследования как на здоровых животных (для выявления необратимых токсических эффектов), так и на животных с опухолевыми моделями (для оценки эффективности и специфической безопасности в условиях патологии).

Исследования на релевантных видах животных, безусловно, играют важную роль в предварительном тестировании вакцин, но они не являются гарантией безопасности для людей. Относительно печального опыта вакцины против COVID-19, разработанной Pfizer/BioNTech и Moderna, это утверждение подразумевает,

что некоторые побочные эффекты, хотя и редки, были обнаружены только после широкого применения вакцины (Faksova K., Walsh D. и соавт., 2024; Rancourt D.G., Baudin M. и соавт., 2023). Чем вызваны эти эффекты? Это недостаточная оценка безопасности на животных или недостаточный постмаркетинговый контроль? При всех условиях риски нужно минимизировать, иначе есть опасность не только навредить здоровью людей, но и подорвать доверие к вакцинации в долгосрочной перспективе.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bigouette J.P., Wilkinson A.L., Tallis G. et al. Progress Toward Polio Eradication — Worldwide, January 2019–June 2021 // *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2021. Vol. 70. N. 34. P. 1129–1135. DOI: [10.15585/mmwr.mm7034a1](https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7034a1).
2. Calmette A., Guérin C., Nègre L.B.A. Prémunition des nouveaux-nés contre la tuberculose par le vaccin BCG (1921–1926) // *Ann. Inst. Pasteur.* 1926. Vol. 40. N. 2. P. 89–120.
3. Cavaillon J.M. From Bacterial Poisons to Toxins: The Early Works of Pasteurians // *Toxins (Basel).* 2022. Vol. 14. N. 11. P. 759. DOI: [10.3390/toxins14110759](https://doi.org/10.3390/toxins14110759).
4. Chang M-H. Cancer prevention by vaccination against hepatitis B // In: *Cancer Prevention II.* 2011. P. 85–94. DOI: [10.1007/978-3-540-69297-3](https://doi.org/10.1007/978-3-540-69297-3).
5. Cherry J.D. Pertussis: challenges today and for the future // *PLoS Pathog.* 2013. Vol. 9. N. 3. P. e1003418. DOI: [10.1371/journal.ppat.1003418](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003418).
6. Conceição S.F., De Luca P.M., Lima-Junior J.D.C. Vaccine Development against Infectious Diseases: State of the Art, New Insights, and Future Directions // *Vaccines (Basel).* 2023. Vol. 11. N. 11. P. 1632. DOI: [10.3390/vaccines11111632](https://doi.org/10.3390/vaccines11111632).
7. D'Amelio E., Salemi S., D'Amelio R. Anti-infectious human vaccination in historical perspective // *Int. Rev. Immunol.* 2016. Vol. 35. N. 3. P. 260–290. DOI: [10.3109/08830185.2015.1082177](https://doi.org/10.3109/08830185.2015.1082177).
8. Deng S., Liang H., Chen P. et al. Viral vector vaccine development and application during the COVID-19 pandemic // *Microorganisms.* 2022. Vol. 10. N. 7. P. 1450. DOI: [10.3390/microorganisms10071450](https://doi.org/10.3390/microorganisms10071450).
9. Derelanko M.J., Hollinger M.A. *Handbook of toxicology.* CRC press, 2001.
10. Din M., Ali H., Khan M. et al. Impact of COVID-19 on polio vaccination in Pakistan: a concise overview // *Rev. Med. Virol.* 2021. Vol. 31. P. e2190. DOI: [10.1002/rmv.2190](https://doi.org/10.1002/rmv.2190).
11. Ebisawa I. Three to four instead of one millilitre of formalin // *Vaccine.* 1996. Vol. 14. N. 3. P. 247. DOI: [10.1016/0264-410X\(95\)00188-7](https://doi.org/10.1016/0264-410X(95)00188-7).
12. Eshaghi B., Schudel A., Sadeghi I. et al. The role of engineered materials in mucosal vaccination strategies // *Nature Reviews Materials.* 2024. Vol. 9. N. 1. P. 29–45. DOI: [10.1038/s41578-023-00625-2](https://doi.org/10.1038/s41578-023-00625-2).
13. Faksova K., Walsh D., Jiang Y. et al. COVID-19 vaccines and adverse events of special interest: A multinational Global Vaccine Data Network (GVDN) cohort study of 99 million vaccinated individuals // *Vaccine.* 2024. Vol. 42. N. 9. P. 2200–2211. DOI: [10.1016/j.vaccine.2024.01.100](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2024.01.100).
14. Guiso N., Meade B.D., Wirsing von König C.H. Pertussis vaccines: The first hundred years // *Vaccine.* 2020. Vol. 38. N. 5. P. 1271–1276. DOI: [10.1016/j.vaccine.2019.11.022](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.11.022).

15. Haghmorad D., Eslami M., Orooji N. et al. mRNA vaccine platforms: linking infectious disease prevention and cancer immunotherapy // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2025. Vol. 13. P. 1547025. DOI: [10.3389/fbioe.2025.1547025](https://doi.org/10.3389/fbioe.2025.1547025).
16. Hogan M.J., Pardi N. mRNA vaccines in the COVID-19 pandemic and beyond // *Annu. Rev. Med.* 2022. Vol. 73. P. 17–39. DOI: [10.1146/annurev-med-042420-112725](https://doi.org/10.1146/annurev-med-042420-112725).
17. Isakova-Sivak I., Stepanova E., Mezhenskaya D. et al. Influenza vaccine: Progress in a vaccine that elicits a broad immune response // *Expert Review of Vaccines*. 2021. Vol. 20. N. 9. P. 1097–1112. DOI: [10.1080/14760584.2021.1964961](https://doi.org/10.1080/14760584.2021.1964961).
18. Kieh M. Randomized trial of vaccines for zaire ebola virus disease // *N. Engl. J. Med.* 2022. Vol. 387. P. 2411–2424. DOI: [10.1056/NEJMoa2200072](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2200072).
19. Melnick J. Oral polio vaccine and the results of its use // *History of Vaccine Development*. 2011. P. 167–177. DOI: [10.1007/978-1-4419-1339-5_19](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1339-5_19).
20. Moghimi S.M. Allergic reactions and anaphylaxis to LNP-based COVID-19 vaccines // *Mol. Ther.* 2021. Vol. 29. P. 898–900. DOI: [10.1016/j.yymthe.2021.01.030](https://doi.org/10.1016/j.yymthe.2021.01.030).
21. Montero D.A., Vidal R.M., Velasco J. et al. Two centuries of vaccination: historical and conceptual approach and future perspectives // *Front Public Health*. 2024. Vol. 11. P. 1326154. DOI: [10.3389/fpubh.2023.1326154](https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1326154).
22. Pilapitiya D., Wheatley A.K., Tan H.X. Mucosal vaccines for SARS-CoV-2: triumph of hope over experience // *EBioMedicine*. 2023. Vol. 92. P. 104585. DOI: [10.1016/j.ebiom.2023.104585](https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104585).
23. Plotkin S.A., Plotkin S.L. The development of vaccines: how the past led to the future // *Nat. Rev. Microbiol.* 2011. Vol. 9. P. 889–893. DOI: [10.1038/nrmicro2668](https://doi.org/10.1038/nrmicro2668).
24. Poudel S., Nepali P., Baniya S. et al. Bell's palsy as a possible complication of mRNA-1273 (Moderna) vaccine against COVID-19 // *Ann. Med. Surg.* 2022. Vol. 78. P. 103897. DOI: [10.1016/j.amsu.2022.103897](https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.103897).
25. Ramon G., Descombey P. A. Sur l'immunisation antitétanique et sur la production de l'antitoxine tétanique // *CR Soc Biol.* 1925. Vol. 93. P. 508–598.
26. Rancourt D.G., Baudin M., Hickey J. et al. COVID-19 vaccine-associated mortality in the Southern Hemisphere // *Correlation Research in the Public Interest*. Ontario, Canada. 2023. DOI: [10.13140/RG.2.2.24720.79366](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.24720.79366).
27. Sakurai F., Tachibana M., Mizuguchi H. Adenovirus vector-based vaccine for infectious diseases // *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2022. Vol. 42. P. 100432. DOI: [10.1016/j.dmpk.2021.100432](https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2021.100432).
28. Salk J.E. Poliomyelitis vaccine preparation and administration // *J. Am. Med. Assoc.* 1959. Vol. 169. N. 16. P. 1829–1838. DOI: [10.1001/jama.1959.03000330001001](https://doi.org/10.1001/jama.1959.03000330001001).
29. Sette A., Crotty S. Immunological memory to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 vaccines // *Immunol. Rev.* 2022. Vol. 310. P. 27–46. DOI: [10.1111/imr.13089](https://doi.org/10.1111/imr.13089).
30. Stepanova E., Matyushenko V., Mezhenskaya D. et al. Safety, Immunogenicity and Protective Activity of a Modified Trivalent Live Attenuated Influenza Vaccine for Combined Protection Against Seasonal Influenza and COVID-19 in Golden Syrian Hamsters // *Vaccines (Basel)*. 2024. Vol. 12. N. 12. P. 1300. DOI: [10.3390/vaccines12121300](https://doi.org/10.3390/vaccines12121300).
31. Stern A.M., Markel H. The history of vaccines and immunization: familiar patterns, new challenges // *Health Aff (Millwood)*. 2005. Vol. 24. N. 3. P. 611–621. DOI: [10.1377/hlthaff.24.3.611](https://doi.org/10.1377/hlthaff.24.3.611).

32. Tapia-Calle G., Born P.A., Koutsoumpli G. et al. A PBMC-based system to assess human T cell responses to influenza vaccine candidates *in vitro* // *Vaccines*. 2019. Vol. 7. N. 4. P. 181. DOI: [10.3390/vaccines7040181](https://doi.org/10.3390/vaccines7040181).
33. Tikhvatulin A.I., Gordeychuk I.V. et al. Immunization route-mediated differences in long-term maturation of humoral immune response induced by adenovirus vector-based COVID-19 vaccine Sputnik V in nonhuman primates // *Frontiers in Immunology*. 2025. Vol. 16. P. 1634187. DOI: [10.3389/fimmu.2025.1634187](https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1634187).
34. Yeh M., Smith M., Carlyle S. et al. Genetic stabilization of attenuated oral vaccines against poliovirus types 1 and 3 // *Nature*. 2023 Vol. 619. P. 135–142. DOI: [10.1038/s41586-023-06212-3](https://doi.org/10.1038/s41586-023-06212-3).
35. Yu M., Nie S., Qiao Y. et al. Guillain-Barre syndrome following COVID-19 vaccines: a review of literature // *Front. Immunol.* 2023. Vol. 14. P. 1078197. DOI: [10.3389/fimmu.2023.1078197](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1078197).
36. Горенков Д.В., Комаровская Е.И., Солдатов А.А. и др. Современные нормативные требования к проведению доклинических исследований профилактических вакцин // *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023. Т. 23. № 1. С. 7–25. DOI: [10.30895/2221-996X-2023-23-1-7-25](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-1-7-25).
37. Кубрава Д.Т., Медкова А.Ю., Матуа А.З. и др. Безопасность, иммуногенность и защитная активность препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели детенышей обезьян *Papio hamadryas* // *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2024. Т. 24. № 4. С. 363–376. DOI: [10.30895/2221-996X-2024-24-4-363-376](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-4-363-376).
38. Кубрава Д.Т., Медкова А.Ю., Сияяшина Л.Н. и др. Экспериментальный коклюш у обезьян // *Вестник Российской академии наук*. 2013. Т. 68. № 8. С. 28–33. DOI: [10.15690/vramn.v68i8.720](https://doi.org/10.15690/vramn.v68i8.720).
39. Лапин Б.А. К вопросу об использовании в медицинских экспериментах лабораторных приматов // *Патологич. физиол. и эксперимент. терапия*. 2010. № 2. С. 3–6.
40. Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Шевцова З.В., Стасилевич З.Н. Моделирование инфекционных заболеваний человека на лабораторных приматах. Сочи: Стрех. 2011. 225 с.
41. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Иммунобиологические лекарственные препараты). Часть вторая. Москва: Гриф и К, 2012. 536 с.

Нейробиология *in vivo*

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-s5>

М.Л. Ловать¹, Н.А. Бондаренко², А.Н. Ваганова³, А.Б. Вольнова³, Р.Р. Гайнетдинов³,
Н.Ю. Глазова¹, Е.А. Диффинэ¹, Е.Д. Ивлев⁴, И.А. Кабиольский¹, Д.М. Манченко¹,
Д.Д. Масленникова⁵, А.А. Моничева¹, К.В. Онохин^{6,7}, Н.Ю. Сарычева¹, А.Г. Солодовников⁸,
А.А. Стаханова⁹

¹ МГУ им. М.В. Ломоносова,

² ООО «НПК Открытая наука»,

³ Институт трансляционной биомедицины СПбГУ,

⁴ ФГБНУ «МГНЦ»,

⁵ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет),

⁶ ООО «Экселлена»,

⁷ ПАО «Фармсинтез»,

⁸ ООО «Статэндокс»,

⁹ ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»

Появление новых методов интегральной оценки работы нейронных сетей совместно с изучением поведения животных позволяют все дальше продвинуться в вопросах понимания механизмов работы мозга (Zlomuzica A., Dere E., 2022). Опираясь на системный подход, становятся возможны разработка психотропных препаратов с принципиально новым механизмом действия, а также увеличение скорости и надежности получаемых данных. В этом контексте особенно важной опорой становится стандартизация и унификация условий проведения экспериментов, а также адекватная и однозначная трактовка их результатов (Lang B., Kahnau P. и соавт., 2023). Особую важность для получения новых знаний приобретает и выбор биомодели. Так, пол, возраст, генетический и микробиологический фон могут решительным образом повлиять не только на выраженность, но и на знак наблюдаемого эффекта фармакологического препарата. Поэтому, помимо информации о новых фармакологических агентах, спецификой данной сессии был детальный анализ ключевых этапов поведенческих и нейробиологических экспериментов, а также тонкостей в методике их проведения, обычно выходящих за рамки научных конференций и методических описаний в научных публикациях, однако часто дела-

ющих результаты невозпроизводимыми (Leite-Almeida H., Castelhana-Carlos M.J. и соавт, 2022).

Сессию «Нейробиология *in vivo*» открыл директор Института трансляционной биомедицины СПбГУ Рауль Радикович Гайнетдинов. Доклад «Новое в фармакологии: от гормона радости к следовым аминам» он начал с сообщения о подходах к постановке поведенческого эксперимента, об истории изучения болезни Паркинсона и о классических методах моделирования данной патологии. Далее были представлены данные о роли следовых аминов, ранее считавшихся неактивными метаболитами аминокислот. В настоящее время благодаря открытию собственных рецепторов и внутриклеточных каскадов ими запускаемых следовым аминам, в частности, тирамину (воспринимаемому человеком и животными как запах гниения), отводится важная роль в обеспечении сложных поведенческих реакций, таких как реакция на повреждение части тела и даже гибель соплеменника. Так, показано, что тирамин является одним из аттрактантов для лейкоцитов при хроническом воспалении, стимулятором роста и дифференцировки нейронов и астроцитов после инсульта и других повреждений нейрональной ткани. Кроме того, градиент концентрации данного амина — это механизм навигации для сперматозоидов, движущихся к яйцеклетке, окруженной разрушающимся желтым телом. С другой стороны, показано, что антагонисты данных рецепторов (TAAR5) обладают запахом хвои или мирры, анксиолитической активностью, а также способностью запускать антиоксидантные и противовоспалительные реакции. Блокаторы (антагонисты) TAAR5 могут стать принципиально новым классом лекарственных средств для лечения депрессии, тревожности, болезни Паркинсона и других нейродегенеративных заболеваний. Кроме поиска новых мишеней и каскадов реализации патологических процессов, перспективным представляется моделирование патогенеза путем комбинирования нескольких факторов, каждый из которых не приводит к значительной патологии ввиду наличия множественных компенсаторных механизмов.

Так, Александр Геннадьевич Солодовников, директор по управлению качеством ООО «Статэндокс», доцент кафедры биохимии МИ РУДН, в докладе «Особенности доклинических исследований препаратов для лечения когнитивных расстройств» рассмотрел причины значительного трансляционного разрыва в терапии когнитивных расстройств. Согласно современным представлениям, низкая (менее 1%) успешность трансляции эффектов лекарственных препаратов для лечения болезни Альцгеймера в регистрацию и клиническое применение связана с разнообразием морфологических, биохимических и генетических причин когнитивных нарушений, а также определяется анатомическими и физиологическими различиями между мозгом человека и животных, отсутствием учета особенностей когнитивных процессов у разных видов, а также ограничениями в оценке аналогов высших психических функций у животных. Среди генетических, фармакологических, физических и естественных моделей автор отдает предпочтение комбинированным (комплексным) моделям. Например, скрещивание мышей с предрасположенностью к болезни Альцгеймера с мышами db/db¹

¹ Мышь линии db/db несет инактивирующую мутацию в гене рецептора лептина, что вызывает гиперфагию (повышенное потребление пищи), тяжелое ожирение, нарушение толерантности к глюкозе и стойкую гипергликемию.

приводит к выраженным когнитивным нарушениям, усиленному отложению амилоида и нейровоспалению к 12-му месяцу жизни. Комбинация трансгена APP23 с ожирением (*ob/ob*) ускоряет развитие амилоидной ангиопатии, нейровоспаления и атрофии мозга у потомства. Сочетание физической модели (окклюзия сосудов мозга) с острым введением β -амилоида позволяет оценить развитие болезни Альцгеймера при наличии выраженного сосудистого компонента. Также важны комплексная автоматизированная оценка поведенческих нарушений у животных, а также сочетание поведенческих тестов с молекулярными и морфологическими исследованиями. Такой подход может способствовать более комплексной и достоверной оценке эффективности новых препаратов и методов терапии болезни Альцгеймера.

Возможность пересечения путей патогенеза подтверждает и наличие перекрестной симптоматики, на первый взгляд, у разных по этиологии заболеваний. Анастасия Николаевна Ваганова, старший научный сотрудник Института трансляционной биомедицины СПбГУ, в докладе «[Применение животных моделей для исследования коморбидности нейropsychических и метаболических заболеваний](#)» показала, что различные генетические модели мышей, склонные к развитию метаболического синдрома (линии *LepRdb/db*, *TALLYHO/JngJ*), а также модели ожирения, вызванного диетой DIO, обладают признаками депрессивно-подобного поведения. С другой стороны, показано, что крысы, у которых фармакологически или генетически моделируются нейropsychиатрические заболевания, обладают признаками диабета 2-го типа (наблюдаются изменения метаболизма глюкозы). В ходе собственных исследований автором показано повышение уровня глюкозы у крыс с нокаутом гена дофаминового транспортера *DAT* в гетерозиготном состоянии и снижение данного показателя у крыс-гомозигот с нокаутом данного гена. Отмечены также изменения динамики концентрации глюкозы у этих животных после введения инсулина или глюкозы парентерально. Данные изменения на фоне коррекции нарушений поведения и/или диеты могут быть предметом для дальнейших исследований, а также поиска новых методов терапии как метаболических, так нейropsychических заболеваний.

Новые возможности для моделирования и изучения патогенеза открывает использование хемогенетики. Анна Борисовна Вольнова, ведущий научный сотрудник Института трансляционной биомедицины СПбГУ, в докладе «[Хемогенетический подход к исследованию поведения нокаутных крыс](#)» рассказала о новом, хемогенетическом подходе к исследованию поведения нокаутных крыс. Хемогенетика — метод, позволяющий неинвазивно и избирательно модулировать поведение свободно перемещающихся грызунов за счет дистанционного контроля активности целевых групп нейронов путем системного введения специфических препаратов. Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADDs) — это белки-рецепторы, как правило, запускающие цАМФ-опосредованный каскад в нейронах, способные специфически реагировать с небольшими молекулами, действующими как химические активаторы, но ранее не распознававшиеся этими белками. Анна Борисовна поделилась опытом использования хемогенетики для модуляции поведения крыс. Доставка осуществлялась вирусными векторами, специфичными для нейронов определенной эргичности, активатором служил hM3Dq — клозапин-N-оксид (CNO) — фармакологически инертный метаболит антипсихотика клозапина. Было проведе-

но сравнение данной технологии на генетической модели крыс без транспортера дофамина DAT-KO с препаратами с известным механизмом действия: гуанфацин, атомоксетин и йохимбин. Показано, что клозапин в данных концентрациях может вызывать эффекты, выходящие за рамки тех, которые опосредуются действием CNO на DREADD, через воздействие на эндогенные рецепторы, поскольку проявляет некоторое сродство к рецепторам дофамина и серотонина. Это следует принимать во внимание при использовании данной технологии при разработке DREADD-терапии.

Отдельную важность представляет использование адекватного вида, пола, возраста животного, а также грамотное составление протокола эксперимента, как и трактовка его результатов. Оригинальную концепцию моделирования одного из симптомов психических заболеваний — нарушения когнитивного контроля текущей деятельности — представила Нина Анатольевна Бондаренко, научный консультант ООО «НПК Открытая наука», в докладе «[Батарея тестов для оценки когнитивных функций крыс на базе теста "Экстраполяционное избавление"](#)». Моделирование основано на концепции RDoC (критерии доменов исследования), которая заключается в том, чтобы при воспроизведении патологии не пытаться создать комплексную модель, обладающую всеми признаками заболевания человека в соответствии с критериями МКБ, а сформировать на животных эндофенотип данной патологии. Важным эндофенотипом поздней дискинезии (лекарственного паркинсонизма) является нарушение когнитивного контроля, функция которого — избирательное торможение поведения, не приводящего к желаемому результату. Для создания этологически валидной для грызунов поведенческой модели когнитивного контроля человека использовали модифицированную установку известного теста «экстраполяционное избавление» (ТЭИ). В ней пластиковый колокол, прикрепляемый к подводной части цилиндра, препятствовал выходу животного из воды за пределы цилиндра, делая поведение подныривания неэффективным для спасения из острой стресс-ситуации. В тесте регистрировали число попыток подныривания и латентный период последнего подныривания (отражающие скорость угашения неэффективного поведения), а также латентный период принятия решения (отражающий реактивность животных на стрессогенную ситуацию), длительность импульсивного прыжкового поведения и реакцию «встряхивания ушами» (маркер антидепрессантного эффекта исследуемых препаратов). Обнаружено, что вещества, способствующие развитию поздней дискинезии при терапии антипсихотиками, избирательно нарушали способность крыс к угашению неэффективного поведения, индуцируя у них персеверативное поведение подныривания. Данный эффект не соотносился с другими свойствами препаратов, проявляющимися в данном тесте. Таким образом, была продемонстрирована фармакологическая валидность показателей угашения поведения подныривания в тесте ТЭИ-колокол для оценки состояния функции когнитивного контроля у крыс.

Селективность требуется и при моделировании когнитивных расстройств. Доклад Дарьи Дмитриевны Масленниковой, студентки Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, «[Моделирование слабой ассоциативной памяти у мышей: фармакологические и поведенческие подходы к ее усилению](#)» был посвящен феномену слабой памяти. Память, которая способна сохраняться и проявляется в поведении лишь на огра-

ниченное время, а затем спонтанно угасает, называется «слабая». Слабая память формируется в норме у здоровых людей и животных, но может ослабевать в результате когнитивных нарушений (возрастные изменения; неврологические заболевания; заболевания, влияющие на работу сосудов; депрессия и тревожные расстройства; дефицит витаминов). Дарья Дмитриевна предложила два новых метода дифференциальной оценки данного вида памяти — «слабое обучение на условный сигнал» и «усиление памяти при короткой предэкспозиции к обстановке». Было показано, что слабая ассоциативная память может быть смоделирована разными способами, такими как изменение параметров обучения (интенсивность стимулов и/или их длительность), введение временного разрыва между этапами обучения, использование обучения на разные условные сигналы (обстановка или дискретные стимулы). Важно, что не было обнаружено универсального способа усилить любую слабую память, поскольку эффективность фармакологических и поведенческих интервенций зависит от нейрональных механизмов, лежащих в основе формирования конкретного типа слабой памяти. Фармакологические средства, такие как d-циклосерин и оксibuтират натрия, усиливают слабую память за счет воздействия на молекулярные механизмы пластичности (например, активация NMDA-рецепторов или повышение транскрипции генов), однако могут иметь и ограничения (седативный эффект, узкое окно эффективности). В методическом аспекте показано, что исключительную важность имеет продуманность дизайна и стандартизация протокола эксперимента. Так, смена транспортировки на этапе обучения нарушает совпадение контекстов между этапами, причем при короткой предэкспозиции это мешает сформировать устойчивую ассоциацию между обстановкой и током.

Проблему возрастной динамики поведения у крыс осветила Наталия Юрьевна Глазова, научный сотрудник МГУ им. М.В. Ломоносова, в докладе «**Оценка депрессивно-подобного поведения в модели непредсказуемого хронического стресса у крыс стока Вистар разного возраста**». Подростковый возраст у крыс, как и у других млекопитающих, сопровождается интенсивными изменениями в центральной нервной системе. Многие стимулы, не вызывающие стресс у взрослых особей, могут провоцировать выраженную стресс-реакцию у подростков. Поэтому при использовании крыс подросткового возраста следует с осторожностью применять методики, предназначенные для оценки депрессивного и тревожного поведения у взрослых животных. Так, при оценке депрессивно-подобного поведения с помощью теста «предпочтение сахарозы» одиночное содержание крыс в возрасте 33–40 дней во время эксперимента оказалось сильным стрессогенным фактором, что приводило к отсутствию предпочтения сахарозы у интактных животных. Предварительная адаптация к одиночному содержанию позволила снизить стрессогенность воздействия и в итоге получить эффект тестируемого препарата.

Анна Андреевна Стаханова, научный сотрудник Научного центра психического здоровья, в докладе «**Фетальный вальпроатный синдром: мост между поведением и воспалением**» рассказала о роли воспаления в формировании поведения у крысят. Автором показано, что введение крысятам вальпроата в раннем постнатальном периоде вызывает нарушения в социальном поведении, характерные для аутизма. Эти нарушения могут быть связаны с активацией воспалительных реакций в мозге и крови, индикатором которых может быть повышение активности нейтрофильной

эластазы — протеолитического фермента, характеризующего активацию нейтрофилов в ходе развертывания воспалительной реакции.

Анастасия Алексеевна Моничева, аспирантка МГУ им. М.В. Ломоносова, в докладе «[Моделирование симптомов расстройств аутистического спектра у крыс стока Вистар неонатальным и пренатальным введением антидепрессантов](#)» представила новые данные о наличии связи между РАС и уровнем пренатального серотонина, а также о возможности моделирования данной патологии на крысятах. Показано, что введение антидепрессанта флувоксамина беременным самкам крыс стока Вистар способно моделировать у потомства нарушения социального поведения, схожие с симптомами РАС у людей. Наиболее выраженный эффект наблюдался при воздействии флувоксамина в дозе 10 мг/кг с 8-го по 14-й день эмбрионального развития.

В докладе «[Методологический анализ применения ингаляций инертными газами как потенциального средства терапии в моделях перинатального стресса](#)» Ильей Алексеевичем Кабиольским, аспирантом МГУ им. М.В. Ломоносова, были продемонстрированы эффекты многократных ингаляций в неонатальном периоде у крысят в моделях пренатальной алкогольной (ПА) интоксикации, пренатального провоспалительного стресса (ППС) и перинатальной гипоксии (ПГ). При этом ингаляции в моделях ПА-интоксикации и ППС проводили с 7-го по 14-й постнатальный день (ПНД), а в модели ПГ — с 3-го по 10-й. Далее проводилась оценка становления рефлексов в раннем постнатальном периоде и далее поведения в классических тестах до 50-го ПНД. Было показано, что в моделях с поздними сроками ингаляций (7–14-й, ПНД) аргон оказал корректирующее действие в отношении реакции отрицательного геотаксиса, ориентировочной активности и способности к формированию пищедобывательного навыка. Ингаляции в более ранний период (3–10-й, ПНД) привели к ухудшению выполнения реакции отрицательного геотаксиса, а также снизили исследовательскую активность и затормозили реализацию пищедобывательного навыка в лабиринте. При этом в моделях патологии был обнаружен ряд характерных нарушений в соответствии с данными литературы. Предположительно, полученные различия связаны с избыточным подавлением активности каспазы-3, которая необходима в раннем периоде (до 7-го ПНД) для созревания нервной системы.

Наталья Юрьевна Сарычева, старший научный сотрудник МГУ им. М.В. Ломоносова, в докладе «[Пренатальная алкоголизация животных как трансляционная модель нарушений фетального алкогольного спектра](#)» рассказала о половом диморфизме эффектов этанола на поведение. Так, к тяжелым последствиям употребления алкоголя женщиной во время беременности относятся алкогольный синдром плода и комплекс физиологических, поведенческих, аффективных нарушений, объединяемых термином «нарушения фетального алкогольного спектра» (FASD — fetal alcohol spectrum disorder). Поскольку исследования на человеке имеют серьезные ограничения, особую актуальность для изучения молекулярных и клеточных основ патогенеза FASD приобретает использование адекватных экспериментальных моделей. Докладчиком представлены обзор и критический анализ существующих моделей с использованием различных видов животных, их преимущества, недостатки и ограничения. На примере собственных исследований на крысах Вистар показана высокая значимость фактора пола: тревожное поведение и высокое предпочтение

алкоголя характерны для пренатально алкоголизированных самцов, но не самок крыс; были рассмотрены биологические основы влияния фактора пола на эффекты пренатальной алкоголизации.

Дарья Михайловна Манченко, доцент МГУ им. М.В. Ломоносова, в докладе «**Модели неонатального воспаления у крыс стока Вистар разного возраста**» рассказала об исследовании сочетанного действия неонатального воспаления и субхронического переменного стресса (плавание, наклон клетки, иммобилизация, питьевая депривация). Дарья Михайловна показала, что оба воздействия по отдельности вызывают снижение массы тела, повышение спонтанной активности, ухудшение обучаемости, а также увеличение экспрессии провоспалительных факторов в гиппокампе у животных обоих полов, причем в большей степени нарушения были выражены у самцов. В то же время совместное действие двух факторов приводило к нивелированию данных изменений. Полученные данные демонстрируют важность стандартизации воспалительного профиля при выращивании крыс даже в случае изучения их поведенческих параметров в дальнейшем.

Таким образом, на сессии «Нейробиология *in vivo*» были освещены как фундаментальные и трансляционные аспекты моделирования процессов мышления, ставших уже классическими, так и продемонстрирован потенциал новых биомоделей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lang B., Kahnau P., Hohlbaum K. et al. Challenges and advanced concepts for the assessment of learning and memory function in mice // *Front. Behav. Neurosci.* 2023. Vol. 17. P. 1230082. DOI: [10.3389/fnbeh.2023.1230082](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2023.1230082).
2. Leite-Almeida H., Castelhana-Carlos M.J., Sousa N. New Horizons for Phenotyping Behavior in Rodents: The Example of Depressive-Like Behavior // *Front. Behav. Neurosci.* 2022. Vol. 15. P. 811987. DOI: [10.3389/fnbeh.2021.811987](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.811987).
3. Zlomuzica A., Dere E. Towards an animal model of consciousness based on the platform theory // *Behav. Brain Res.* 2022. Vol. 419. P. 113695. DOI: [10.1016/j.bbr.2021.113695](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113695).

Репродуктивные технологии и репродуктивная токсичность

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-s6>

М.А. Акимова¹, А.Н. Бабенко², Е.В. Вербицкая³, В.Д. Каранина¹, Е.А. Корочкина⁴,
Л.В. Крепкова², Е.И. Леонова⁵, М.Н. Макарова¹, А.В. Пастухова¹, А.Ю. Перебоева¹, Л.Н. Ротарь⁶,
А.С. Соломина⁷, Н.А. Филиппова¹, А.С. Хоцкина⁸

¹ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

² ФГБНУ ВИЛАР,

³ ФГБОУ ВО СПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России,

⁴ ФГБОУ ВО СПбГУВМ,

⁵ Институт трансляционной биомедицины СПбГУ,

⁶ ФГБОУ ВО СПбГАУ,

⁷ ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,

⁸ ИЦиГ СО РАН

Репродуктивная токсичность определяется как неблагоприятное воздействие вещества на любую часть репродуктивного цикла, включая нарушение репродуктивной функции у мужчин и женщин, а также воздействие на плод или потомство. Более 20 лет назад Международный совет по гармонизации технических требований к фармацевтическим препаратам для медицинского применения (ICH) выпустил руководство S5 по репродуктивной токсичности. Учитывая научно-технический прогресс и последующие изменения в технологических и нормативных знаниях, а также непрерывное накопление опыта в области методов тестирования репродуктивной токсичности, документ неоднократно пересматривался, и в феврале 2020 г. была выпущена последняя обновленная версия S5 (R3)¹.

¹ ICH S5 (R3) Guideline on detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-s5-r3-guideline-detection-reproductive-developmental-toxicity-human-pharmaceuticals-scientific-guideline> (дата обращения: 09.2025).

Цель исследований по репродуктивной и онтогенетической токсичности

Цель исследований по изучению репродуктивной и онтогенетической токсичности (DART) состоит в том, чтобы выявить влияние лекарственного препарата на репродуктивную функцию, плод и потомство. При необходимости комплекс выполненных исследований должен охватывать наблюдения в течение одного полного жизненного цикла (то есть от зачатия в одном поколении до зачатия в следующем поколении) и позволять обнаруживать непосредственные и скрытые неблагоприятные эффекты. Оцениваемые стадии воспроизводства при изучении репродуктивной и онтогенетической токсичности и их описание представлены в табл. 1.

Большинство разрабатываемых фармацевтических препаратов следует оценивать на всех стадиях репродуктивного цикла, указанных в табл. 1, хотя могут быть некоторые исключения. Для обоснования клинической разработки эти стадии обычно оцениваются с использованием трех типов исследований *in vivo*.

1. Исследование фертильности и раннего эмбрионального развития (FEED — стадии А и В).
2. Исследования эмбрионально-фетального развития у двух видов животных (EFD — стадии С и D).
3. Исследование пренатального и постнатального развития (PPND — стадии С–F).

Таблица 1

Оцениваемые стадии воспроизводства при проведении DART-исследований

| Этап репродуктивного цикла | Период | Оцениваемые функции/процессы |
|----------------------------|---|--|
| А | От предварительного спаривания до зачатия | Репродуктивные функции половозрелых самцов и самок, развитие и созревание гамет, брачное поведение, оплодотворение |
| В | От зачатия до имплантации | Репродуктивные функции половозрелых самок, предимплантационное развитие, имплантация |
| С | От имплантации до закрытия у плода твердого нёба | Репродуктивные функции половозрелых самок, эмбриональное развитие, формирование основных органов |
| Д | От закрытия твердого нёба у плода до конца беременности | Репродуктивные функции половозрелых самок, развитие и рост плода, развитие и рост органов |
| Е | От рождения до завершения вскармливания | Роды и лактация, адаптация новорожденных к внеутробной жизни, развитие и рост до завершения вскармливания |
| F | От завершения вскармливания до половой зрелости | Развитие и рост после отлучения от груди, адаптация к самостоятельной жизни, начало полового созревания и достижение полной половой функции, а также влияние на второе поколение |

Ключевыми факторами, позволяющими определить стадии репродуктивного цикла для конкретного препарата, являются:

- Целевая популяция пациентов и условия использования. Например, изучать все стадии необязательно, если лекарство предназначено только для женщин в постменопаузу или для детей до начала полового созревания.
- Молекулярная структура изучаемого препарата, клинический путь введения.
- Определение предполагаемых фармакологических эффектов фармацевтического препарата как несовместимых с фертильностью, нормальным эмбрионально-фетальным развитием.
- Данные о токсичности лекарства при длительном применении у взрослых животных.
- Изучение фармакокинетики препарата, особенно влияние его действия в период беременности, количество препарата, попадающего в организм плода. Для этого в спорных ситуациях можно измерить концентрацию препарата в эмбрионе/плоде, но прямое сравнение полученных данных с таковыми у человека нецелесообразно. Также при необходимости следует оценить, выделяется ли препарат с молоком.

Сам по себе метод сбора молока у лабораторных животных трудоемкий и требующий определенных навыков. В своем докладе «[Физиология лактации и методы получения молока у лабораторных животных](#)» Алина Васильевна Пастухова рассказала о методах получения молока у морских свинок, кроликов, хорьков, кошек, собак, карликовых свиней и нечеловекообразных приматов.

Алина Васильевна рассказала об объемах и особенностях лактации, условиях сохранения и повышения удойности, а также продемонстрировала необходимое оборудование и препараты для сбора максимально возможного количества молока за один раз от одной особи.

Дизайн и оценка в исследованиях *in vivo* на млекопитающих

Стратегия оценки потенциального репродуктивного и онтогенетического риска фармацевтического препарата обычно включает несколько исследований *in vivo*. Ключевым фактором является то, что в целом эти исследования должны охватывать все этапы репродуктивного процесса, хотя у некоторых видов [например, нечеловекообразных приматов (NHP)] все этапы оценить невозможно. Для большинства фармацевтических препаратов обычно подходит дизайн из 3 исследований, но в зависимости от конкретного препарата, а также с целью сокращения использования животных могут проводиться и различные комбинации этих дизайнов.

Стратегия изучения фертильности и раннего эмбрионального развития (FEED)

Целью исследования FEED является проверка побочных эффектов, возникающих в результате лечения, начатого до спаривания самцов и/или самок и продолженного во время спаривания и имплантации, что включает оценку стадий А и В репродуктивного процесса.

Таблица 2

Длительность сперматогенеза у человека и лабораторных животных

| Вид | Длительность сперматогенеза, дни |
|-----------------------|----------------------------------|
| Человек | 72 |
| Яванский макак | 42 |
| Карликовая свинья | 35–41 |
| Собака (порода бигль) | 54 |
| Кошка | 46,8 |
| Хорек | 52–58,5 |
| Кролик | 44 |
| Крыса | 52 |
| Мышь | 35 |
| Хомяк | 35 |
| Песчанка | 47,5 |
| Морская свинка | 33,8 |

Дизайн FEED — исследования на самках грызунов позволяет обнаружить воздействие на эстральный цикл, транспорт яйцеклетки по маточным трубам, имплантацию и развитие эмбриона в предимплантационный период. При этом при оценке эстральных/менструальных циклов важно получить исходные данные цикла (минимум за 2 или 3 цикла), чтобы различать эффекты, связанные с лечением, и межвнутривидовую изменчивость. Мониторинг эстральной цикличности должен продолжаться до момента подтверждения спаривания. Для самцов грызунов данный дизайн, включающий 2–4 нед введения препарата до совместного содержания, позволяет обнаружить влияние на сперматогенез и эпидидимальный транспорт. В работе (Изьюрова Е.А., Гушин Я.А., 2025) были представлены данные о длительности сперматогенеза у человека и разных видов лабораторных животных (табл. 2).

Факторы, рассматриваемые при использовании биопрепаратов

Если биопрепарат фармакологически активен на грызунах или кроликах, рекомендуется провести FEED-исследование на одном из этих видов животных. Как известно, у таких негрызунов, как собаки и приматы, проведение оценки спаривания является трудоемким процессом из-за продолжительного репродуктивного цикла у этих животных, что значительно увеличивает время на проведение оценки, но при этом приматы иногда являются единственным релевантным видом (например, для многих моноклональных антител), в этом случае заменой оценок фертильности могут служить гистопатологические исследования репродуктивных тканей

из исследований токсичности повторных доз продолжительностью не менее 3 мес. Такой подход должен включать комплексное гистопатологическое исследование репродуктивных органов как у самцов, так и самок животных. Если только биопрепарат не предназначен для лечения распространенного рака, в случае которого исследования FEED не оправданы. Эти данные предоставляют информацию только о структуре репродуктивных тканей, поскольку функциональная оценка фертильности невозможна, а полученные предиктивные эффекты в отношении фертильности и раннего эмбрионального развития не всегда могут основываться исключительно на результатах гистопатологических оценок.

Пример дизайна исследования FEED представлен в табл. 3.

Прижизненное получение эякулята от лабораторных животных может представлять собой ряд трудностей. В своем докладе «Кролики. Методы получения спермы. Спермограмма» Варвара Дмитриевна Каранина поделилась собственным опытом, данные отражены в табл. 4.

Стратегии решения проблемы эмбрионально-фетального развития (EFD)

Целью EFD-исследований является выявление неблагоприятных эффектов, влияющих на беременную самку и развитие эмбриона и плода после введения тестируемого препарата (стадия С). Данное исследование включает оценку развития и выживаемости плода (стадии С–D).

Для большинства низкомолекулярных соединений влияние на EFD обычно оценивается на двух видах животных — это грызуны и негрызуны (обычно кролики). Подразумевается, что у одного из видов животных должен быть отмечен желаемый фармакодинамический ответ. Однако в случае если тестируемый препарат фармакодинамически неактивен у какого-либо рутинно используемого вида животных, то можно рассмотреть нерутинные виды, например, генетически модифицированные линии животных, или использовать видоспецифичную суррогатную молекулу при условии, что модель в достаточной степени охарактеризована, чтобы обеспечить фармакологическую релевантность.

Для оценки риска могут быть использованы однозначно положительные результаты в отношении индукции пороков развития или эмбрионально-фетальной летальности (MEFL) на одном виде животных при экспозициях, схожих с таковой при ожидаемой клинической экспозиции в максимально рекомендуемой для человека дозе (MRHD).

Факторы, рассматриваемые при использовании биопрепаратов

Влияние биофармацевтических препаратов на EFD следует оценивать на двух видах (грызуны и негрызуны), если оба являются релевантными. Однако грызун — это часто нерелевантный вид, в этом случае можно провести оценку EFD на одном фармакологически значимом виде животных, негрызунах. В случае, когда единственным релевантным видом является нечеловекообразный примат (НЧП), вместо исследования EFD можно провести расширенное исследование пре- и постнатального развития (ePPND). Биопрепараты, предназначенные для лечения рака, обыч-

Таблица 3

Дизайн исследования FEED: грызуны,
комбинированное исследование самцов и самок

| Параметр | Описание |
|------------------------------------|--|
| Размер группы | Не менее 16 особей каждого пола |
| Число дозовых групп | 4 (включая 1 контрольную) |
| Период введения* | Самцы — не менее 2 нед до совместного содержания или до подтверждения спаривания. Самки — не менее 2 нед до совместного содержания и до имплантации |
| Половое соотношение при спаривании | 1:1 |
| Период спаривания** | Не менее 2 нед |
| Оценка эстрального цикла | Ежедневно, начиная за 2 нед до совместного содержания и до подтверждения спаривания |
| Клинические наблюдения/смертность | Ежедневно |
| Масса тела | Не менее 2 раз в нед |
| Потребление корма | Не менее 1 раза в неделю (за исключением периода спаривания) |
| Некропсия самцов*** | Сохранить семенники и их придатки для возможной гистологической оценки в индивидуальном порядке. Проведение макроскопической оценки органов с выявленными изменениями и их сохранение для возможного гистологического изучения |
| Анализ спермы ^{4*} | Необязателен |
| Некропсия самок ^{5*} | Сохранить яичники и матку для возможной гистологической оценки. Проведение макроскопической оценки органов с выявленными изменениями и их сохранение для возможного гистологического изучения |
| Запланированное кесарево сечение | Выполняется в середине гестации |

| Параметр | Описание |
|----------------------------|--|
| Данные имплантации в матку | Подсчет числа желтых тел, участков имплантации, количества живых и мертвых эмбрионов |

Примечание.

* Продолжительность дозирования лекарственного средства, в частности, для оценки его влияния на сперматогенез, следует обосновывать, опираясь на ранее полученные результаты исследований токсичности при многократном введении и генотоксичности. В случае если ранее в исследованиях токсичности повторных доз продолжительностью не менее 2 нед не были выявлены негативные эффекты, может быть использован период введения 2 нед как для самцов, так и для самок. При этом введение для самцов должно осуществляться до подтверждения спаривания, а для самок — до имплантации. Это позволит оценить функциональное влияние на фертильность, которое не может быть обнаружено при помощи гистопатологического изучения в исследованиях токсичности повторных доз, а также воздействие на брачное поведение.

** В связи с тем, что у крыс и мышей короткий эстральный цикл, большинство беременностей наступает в течение 5 дней периода спаривания.

*** Для проведения более точной оценки влияния препарата на мужскую репродуктивную систему необходимо его вводить на протяжении всех этапов сперматогенеза.

4* Анализ спермы может иметь решающее значение для оценки риска препаратов, влияющих на мужскую репродуктивную систему, если ранее в исследованиях были выявлены признаки негативного воздействия.

5* Для оценки влияния на фертильность и репродуктивную функцию достаточно, как правило, осуществлять эвтаназию самок примерно на 13–15-й день беременности (например, для дифференциации живых имплантаций и участков резорбции).

Таблица 4

Сравнительная характеристика методов сбора эякулята у кроликов

| Методика | Недостатки | Результативность |
|---|--|--|
| Электростимуляция простаты | Не достигали эрекции | Материал получить не удалось |
| Электростимуляция полового члена | Достигали эрекции, но не получали эякулят | То же |
| Орхиэктомия | На протяжении эксперимента можно делать только двукратно | Материал получен в достаточном для анализа объеме |
| Пункция извитых канальцев | Не подходит для анализа, травматизация семенника, риск постоперационных осложнений | Материал скудный, с примесями крови |
| Садка с использованием искусственной вагины | Необходима готовая к спариванию самка для стимуляции полового поведения у самца | Материал качественный в большом объеме. Метод подходит для анализа и искусственного осеменения |

но необходимо оценивать только на одном фармакологически релевантном виде животных (ICH S9)².

Когда не удастся определить ни один релевантный вид из-за того, что биопрепарат не взаимодействует с ортологичной мишенью любого вида животных, имеющего отношение к тестированию репродуктивной токсичности, можно рассмотреть использование суррогатных молекул или трансгенных моделей, как описано в ICH S6. Расчет предела безопасности относительно воздействия на человека с помощью суррогатных молекул нецелесообразен. Если нет соответствующих видов, генетически модифицированных животных или суррогатов, тестирование репродуктивной токсичности *in vivo* не имеет смысла. В этом случае необходимо обосновать подход, используемый для оценки риска, или аргументировать невозможность его проведения.

Альтернативные подходы к решению проблемы риска EFD

Использование альтернативных тестов

В настоящее время разработан ряд альтернативных *in vitro*-, *ex vivo*-тестов и *in vivo*-тестов на немлекопитающих для обнаружения потенциальных рисков для эмбрионально-фетального развития. Они используются в качестве скрининга для поиска лекарств на предмет нежелательного влияния на EFD и помогают в понимании механизма токсичности, что может быть полезно для транслирования на людей рисков после получения доклинических данных (особенно в случае человекоспецифичных моделей).

Данные тесты могут отсрочить или заменить (в определенных обстоятельствах) традиционные исследования *in vivo*, что имеет дополнительное преимущество в виде потенциального сокращения использования животных.

Пример дизайна исследования EFD представлен в табл. 5.

Стратегия оценки влияния на пре- и постнатальное развитие (PPND)

Целью PPND-исследования является выявление неблагоприятных эффектов воздействия тестируемого препарата на материнскую особь с момента имплантации до отлучения от груди для оценки эффектов на беременную или лактирующую самку и онтогенез потомства. Поскольку проявления эффектов, вызванных в этот период, могут быть отсрочены, развитие потомства отслеживается до половой зрелости (то есть стадии C–F). Обычно для оценки PPND используют грызунов, однако при необходимости могут быть задействованы и другие виды.

В большинстве случаев предварительное PPND-исследование (для определения уровня доз) не требуется, так как соответствующая информация, как правило, доступна из результатов предыдущих исследований. Вместе с тем для выбора уровня доз или формирования дизайна исследования и/или для предоставления данных о влиянии на детенышей можно использовать предварительное PPND-исследование с эвтаназией детенышей до или на момент завершения вскармливания.

² ICH S9 Non-clinical evaluation for anticancer pharmaceuticals. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-s9-non-clinical-evaluation-anticancer-pharmaceuticals-scientific-guideline> (дата обращения: 02.10.25).

Таблица 5

Дизайн исследований EFD-токсичности в отношении грызунов, кроликов и приматов

| Параметр | rEFD | EFD | | |
|--|------------------------------|------------------------|----------|---|
| | Грызун/ кролик | Крыса (мышь) | Кролик | НЧП* |
| Статус GLP** | Необязательно | Да | | |
| Минимальное число беременных самок*** | 6 | 16 | | |
| Число дозовых групп | 4 (включая 1 контрольную) | | | Не менее 2 (включая 1 контрольную) |
| Период введения, день гестации ^{4*} | Видоспецифичный | 6/7–17-й (6/7–15-й) | 6/7–19-й | Приблизительно от 20-го до не менее 50-го |

Прижизненные конечные точки

| | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|----|--|-----------------------------|
| Клинические наблюдения/смертность | Ежедневно | | | |
| Масса тела | Не менее 2 раз в неделю | | | Не менее 1 раза в неделю |
| Потребление корма | Не менее 1 раза в неделю | | | Необязательно |
| Токсикокинетика | Необязательно | Да | | |

Посмертные конечные точки

| | | | | |
|---|----------------|----------------------|---------|---------------|
| Кесарево сечение, день гестации ^{5*} | Видоспецифичен | 20/21-й (17/18-й) | 28/29-й | 100-й |
| Макроскопическое исследование | Да | | | Необязательно |
| Масса беременной матки | Необязательно | | | Нет |
| Желтые тела | Да | | | » |
| Места имплантации | » | | | » |
| Живые и мертвые зародыши | » | | | Да |
| Ранние и поздние резорбции | » | | | Нет |
| Макрооценка плаценты | Да | | | |

Окончание таблицы 5

| Параметр | rEFD | EFD | | |
|--|-------------------|-----------------|--------|------|
| | Грызун/ кролик | Крыса (мышь) | Кролик | НЧП* |
| Масса плаценты | Необязательно | | | |
| Масса тела плода | Да | | | |
| Пол плода | » | | | |
| Внешние оценки плода ^{6*} | » | | | |
| Оценка мягких тканей плода ^{6*} | » | | | |
| Оценка скелета плода ^{7*} | Необязательно | Да | | |

Примечание.

* Если используются НЧП, отличные от яванского макака, дизайн исследования должен быть адаптирован.

** Если rEFD используется для отсрочки окончательного исследования EFD, то необходимо: выполнить rEFD в соответствии с правилами GLP, собрать токсикокинетические данные и осуществить оценку скелета.

*** Размеры групп в EFD-исследованиях должны обеспечивать достаточное количество плодов для оценки потенциальных нежелательных влияний на морфологическое развитие.

4* В случае использования грызунов и кроликов самкам вводят тестируемый препарат с момента имплантации до закрытия твердого неба, а самки НЧП должны его получать с момента подтверждения беременности (приблизительно с 20-го дня гестации) по крайней мере до 50-го дня гестации, когда происходит завершение основного органогенеза.

5* В случае использования грызунов и кроликов кесарево сечение должно проводиться примерно за один день до предполагаемых родов, для приматов примерно на 100-й день гестации.

6* Все плоды должны быть индивидуально идентифицированы для проверки их на жизнеспособность и аномалии развития.

7* Хотя предпочтительно исследовать все плоды грызунов на предмет изменений как мягких тканей, так и скелета (если позволяют методы), приемлемо подвергать отдельным проверкам 50% плодов из каждого помета.

Факторы, рассматриваемые при использовании биопрепаратов

Для фармацевтических препаратов, которые могут быть протестированы только на НЧП, исследование ePPND может обеспечить ограниченную оценку постнатальных эффектов, однако отслеживание потомства до созревания, как правило, невыполнимо. Примеры дизайна исследования PPND и ePPND представлены в табл. 6, 7.

Исследование ePPND-токсичности представляет собой изучение на НЧП, объединяющее конечные точки из исследований EFD и PPND, в этом случае дозирование продолжается в течение всего периода гестации до родов.

Дизайн исследования PPND-токсичности: крысы

| Параметр | Описание |
|---|--|
| Размер группы | Не менее 16 пометов |
| Число дозовых групп | 4 (включая 1 контрольную) |
| Период введения | От имплантации (6-й день гестации) до отлучения от груди (20-й постнатальный день) |
| <i>F0 Самки</i> | |
| Клинические наблюдения/смертность | Ежедневно |
| Масса тела | Не менее 2 раз в неделю |
| Потребление корма | Не менее 1 раза в неделю до середины периода лактации |
| Наблюдения в родах | От 21-го дня гестации до завершения |
| Некропсия | PND 21-й (при некропсии необходимо консервировать и сохранять ткани с макроскопическими находками и соответствующие контрольные ткани для возможной гистологической оценки, сосчитать участки имплантации в матке) |
| <i>F1 перед отлучением от груди</i> | |
| Клинические наблюдения/смертность | Ежедневно начиная с PND 0 |
| Выживаемость до и после отлучения от груди | Так же |
| Масса тела и пол | PND 0/1 и далее не менее 2 раз в неделю |
| Факультативно: стандартизация размера помета | ≥PND 4, до 4 или 5 детенышей каждого пола |
| Физическое развитие* | Онтогенетические ориентиры перед завершением вскармливания и онтогенез рефлексов (например, открытие глаз, раскрытие ушной раковины, установочный осязательный рефлекс, реакция на звук, распрямление в воздухе и реакция на свет) |
| <i>F1 после отлучения от груди</i> | |
| Выбор для оценки после завершения вскармливания и размер группы** | PND 21, по меньшей мере 1 самец и 1 самка в помете, если можно достичь 16 особей на группу/пол |

Окончание таблицы 6

| Параметр | Описание |
|------------------------------------|--|
| Клинические наблюдения/смертность | Ежедневно |
| Масса тела | Еженедельно |
| Потребление корма (необязательно) | » |
| Половое созревание | Самки: открытие влагалища. Самцы: опускание семенников |
| Другие функциональные испытания*** | Оценить сенсорные функции, двигательную активность, а также обучаемость и память |
| Репродуктивное поведение | Не младше 10-й недели, пары (1 самец и 1 самка) в пределах одной и той же группы |

Примечание.

* Лучший индикатор физического развития — масса тела, однако только ее измерение не является приемлемой заменой для оценки других онтогенетических параметров.

** Для проведения поведенческих и других функциональных тестов, а также для оценки репродуктивной функции должно быть оставлено не менее 1 животного каждого пола; в случае необходимости для независимых функциональных оценок могут быть оставлены дополнительные животные.

*** Для оценки влияния препарата на обучение и память нужно использовать сложную для животных задачу; тесты должны проводиться в течение достаточного периода времени, чтобы продемонстрировать привыкание (приучение).

Таблица 7

Дизайн исследования ePPND-токсичности: яванские макаки

| Параметр | Описание |
|-----------------------------------|--|
| Размер группы* | Приблизительно 16 беременных самок |
| Число дозовых групп | Не менее 2 (включая 1 контрольную) |
| Период введения | От подтверждения беременности (приблизительно 20-й день гестации) до родов |
| <i>Самки F0</i> | |
| Клинические наблюдения/смертность | Ежедневно |
| Масса тела | Еженедельно |
| Наблюдение в родах | Документируйте день завершения |
| Плацента | Собрать и сохранить по возможности |
| Некропсия и оценка тканей | Только по необходимости |
| Оценка экспозиции | Должны быть измерены ТК-профили и/или системные концентрации лекарства сообразно обстоятельствам |

| Параметр | Описание |
|--|---|
| <i>F1</i> | |
| Клинические наблюдения/смертность | Ежедневно начиная с PND 0 |
| Масса тела | Еженедельно |
| Морфометрия/физическая и/или функциональная оценка | Через регулярные интервалы согласно обстоятельствам |
| Серия нейроповеденческих тестов | 1 интервал во время первых 2 нед после рождения |
| Сила хвата | PND 28 |
| Взаимодействие матери с детенышем | Минимально в ранний постнатальный период до подтверждения выхаживания, далее согласно обстоятельствам |
| Оценка экспозиции | Должны измеряться системные концентрации лекарства согласно обстоятельствам |
| Внешняя оценка | Через регулярные интервалы |
| Оценка скелета | Приблизительно на PND 28 или позднее |
| Висцеральная оценка | При некропии |
| Некропия | По меньшей мере через 1 мес, зависит от цели оценок. Необходимо консервировать и сохранять ткани для возможной гистопатологической оценки |

Примечание. * Размеры групп в ePPND-исследованиях должны составлять достаточное число детенышей, чтобы оценивать потенциальное нежелательное влияние на исход беременности, а также дисморфологию и постнатальное развитие, давая возможность для определения, если требуется (например, иммунной системы). В большинстве исследований ePPND набирают беременных самок в течение нескольких месяцев.

Комбинированные исследования

Для более эффективной оценки лекарственных средств существует также возможность комбинирования разных видов исследований. Это достигается включением в одно исследование соответствующих конечных точек, измеренных в отдельных исследованиях.

Комбинированные FEED- и EFD-исследования

Основная цель комбинированного FEED/EFD-исследования заключается в выявлении токсических эффектов, возникающих в результате воздействия вещества на репродуктивную функцию, начиная с периода подготовки к спариванию (как у самцов, так и у самок) и заканчивая стадиями органогенеза. Данный дизайн исследования позволяет оценить этапы репродуктивного процесса A–D. Такой подход чаще всего используется при изучении на грызунах, но он также может быть применим и к негрызунам.

FEED/EFD-исследование можно проводить как на самцах, так и на самках. Однако если влияние веществ на фертильность самцов уже известно из других исследований (например, исследований токсичности при многократном введении), можно провести исследование только на самках. В этом случае здоровых самцов следует использовать только для спаривания.

Исследование мужской фертильности и токсичности повторных доз

Мужскую фертильность также можно оценивать во время исследования токсичности повторных доз на грызунах. В таком исследовании самцов, которым вводился препарат, формируют в пары с самками, не получавшими препарат, при этом препарат самцам вводят до запланированной эвтаназии в исследовании токсичности повторных доз. Самкам проводят кесарево сечение примерно через 2 нед от начала спаривания. Для более точной оценки в исследование должно быть включено не менее 16 самцов на группу. Фертильность самок и другие FEED-конечные точки будут требовать оценки в отдельном исследовании.

Выбор тест-системы

Виды для рутинных испытаний

Для исследований DART следует применять виды и породы млекопитающих, которые были использованы при изучении токсичности. Это позволяет избежать использования дополнительных животных и исследований, например, для изучения того, как препарат всасывается и выводится из организма, или для определения подходящей дозы. Важно, чтобы используемые виды были хорошо изучены и релевантны для выявления влияния на конечные точки в конкретном исследовании (например, в отношении здоровья, фертильности, плодовитости, фоновой частоты аномалий развития и эмбрионально-фетальной смерти и т.д.).

Выбор видов для тестирования DART

Для тестирования DART крысы — наиболее распространенный вид среди грызунов. Это объясняется их доступностью, хорошо изученными фармакологическими показателями, обширными токсикологическими данными для анализа результатов. Мыши также широко используются по схожим причинам. Для оценки только EFD обычно выбирают второй вид млекопитающих, не являющихся грызунами, хотя есть исключения (например, вакцины и биопрепараты). В качестве негрызунов кролик является полезным для идентификации тератогенов для человека, которые не были обнаружены при исследовании грызунов, поэтому обычно используется в качестве второго вида.

В своем докладе «**Биологическое разнообразие в исследовании репродуктивной токсичности**» Мария Александровна Акимова провела сравнительный анализ эмбрионального развития лабораторных животных и человека, используя классификацию стадий Карнеги. Мария Александровна отметила, что, несмотря на ши-

рокое применение в исследованиях по изучению репродуктивной токсичности в качестве грызунов крыс и мышей, которые развиваются сопоставимо с человеком до 5-й стадии Карнеги, морские свинки демонстрируют большее сходство, и их развитие с человеком сопоставимо до 7-й стадии, а эмбриональное развитие карликовых свинок схоже с таковым у человека уже до 10-й стадии, что позволяет рассматривать данные тест-системы как релевантные для расширенных исследований тератогенных рисков. В ходе сравнительного анализа эмбрионального развития негрызунов и человека М.А. Акимова выделила нечеловекообразных обезьян, а именно макак-резусов как вид с наибольшим сходством, которое наблюдается на всех 23 стадиях развития. Также было отмечено, что, несмотря на широкое использование кроликов в качестве негрызунов для изучения репродуктивной токсичности, их эмбриональное развитие, как у крыс и мышей, соответствует таковому у человека только до 5-й стадии. В завершении своего доклада М.А. Акимова акцентировала внимание на критической важности обоснованного выбора тест-систем для оценки репродуктивной токсичности. Она подчеркнула, что этот выбор должен базироваться на комплексе факторов, обеспечивающих максимальную сопоставимость биологических процессов с человеком.

Анна Сергеевна Соломина в своем докладе «[Важное в интерпретации результатов исследования репродуктивной токсичности *in vivo* и моделировании патологий беременности](#)» отметила, что необходимо учитывать различия в развитии центральной нервной системы у крыс и человека. Такие структуры, как мозжечок, средний мозг, полосатое тело и зубчатые гранулярные клетки, отвечающие за память и эмоциональное поведение, у человека формируются в конце III триместра беременности, тогда как у грызунов их развитие происходит примерно на 19-й день после рождения. Данное различие может затруднить выявление отклонений при проведении исследований на грызунах.

Выбор видов животных для профилактических и терапевтических вакцин

Виды животных, выбранные для тестирования вакцин (с адъювантами или без них), должны демонстрировать иммунный ответ на вакцину. Разновидность проводимого исследования онтогенетической токсичности и выбор модели животного должны обосновываться исходя из наблюдаемого иммунного ответа и возможности введения соответствующей дозы. В исследованиях онтогенетической токсичности вакцин используются кролики, крысы или мыши. Несмотря на то что количественные и качественные различия между видами могут существовать в ответных реакциях (например, в гуморальных и клеточных конечных точках), обычно достаточно провести исследования токсичности развития на одном виде. Хотя степень и время передачи материнских антител через плаценту различаются между видами, исследование токсичности развития на кроликах, крысах или мышках все равно может предоставить важную информацию относительно потенциальной эмбрионально-фетальной токсичности компонентов/формулы вакцины и безопасности продукта во время беременности. НЧП следует использовать только в том случае, если ни один другой соответствующий вид животных не позволяет адекватно смоделировать иммунный ответ.

Нестандартные тестовые виды

Для оценки воздействия фармацевтических препаратов на различные репродуктивные стадии животных можно использовать виды, отличные от крысы, мыши или кролика. При рассмотрении использования других видов следует учитывать их преимущества и недостатки с точки зрения тестируемого препарата, дизайна исследования и выбранных конечных точек, а также возможности экстраполировать результаты на ситуацию у людей.

НЧП следует считать нерутинным тестовым видом. Чаще всего их используют для оценки воздействия на эмбрионально-фетальное развитие и раннее постнатальное развитие биопрепаратов, которые фармакологически активны только у приматов, как описано в ICH S6.

В рамках конференции GLP-PLANET также были рассмотрены нестандартные тест-системы для проведения исследований репродуктивной токсичности, такие как сирийские хомячки и карликовые свиньи.

В своем докладе «[Потенциал использования хомячков для оценки репродуктивной токсичности](#)» Анна Юрьевна Перебоева рассказала, что согласно последним данным, сирийский золотистый хомячок, *Mesocricetus auratus*, упоминается как 5-е наиболее часто используемое лабораторное животное после мышей, крыс, кроликов и морских свинок. Среди преимуществ использования хомячков для исследований репродуктивной токсичности Анна Юрьевна отметила, что у самок короткий и постоянный эстральный цикл (4 дня), предсказуемое время овуляции, короткий период беременности (16 дней) по сравнению с крысами и мышами (20–24 дня). Кроме того, сперматогенез у хомячков длится всего 35 дней, что на 17 дней меньше, чем у крыс (Изьурова Е.А., Гущин Я.А., 2025).

Стоит отметить, что в руководстве ICH S5(R3)³ среди недостатков использования хомячков в экспериментах репродуктивной токсичности указано, что для них ограничена доступность постнатальных поведенческих и функциональных тестов, однако в докладе А.Ю. Перебоевой были представлены результаты оценки физического, психоэмоционального, неврологического статуса таких животных. Работы в этом направлении могут помочь в пополнении популяционных данных в лабораториях и в дальнейшем использовать этот вид животных без ограничений.

Дефекты в предимплантационном эмбриональном развитии восприимчивости матки и имплантации являются основной причиной бесплодия, проблем с беременностью и врожденных дефектов у потомства. Значительный прогресс был достигнут в базовом понимании этих процессов с использованием мыши как модели, где имплантация зависит от эстрогена яичников в присутствии прогестерона. Однако, чтобы получить полное представление об эмбриональных и маточных событиях, необходимо также изучить эти процессы на модели животного, где имплантация зависит от прогестерона. В этом отношении хомяк может являться полезной моделью (Reese J., Wang H. и соавт., 2008). Овариальный прогестерон (P4) необходим

³ ICH S5(R3) Guideline on detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-s5-r3-guideline-detection-reproductive-developmental-toxicity-human-pharmaceuticals-scientific-guideline> (дата обращения: 09.2025).

для восприимчивости матки, имплантации и поддержания ранней беременности у всех млекопитающих. Следует сказать, что в то время как у мышей и крыс материнский P4 и эстроген имеют решающее значение для имплантации, у большинства других видов, включая хомяков, морских свинок, кроликов и свиней, имплантация может происходить только в присутствии P4 (Zegers-Hochschild F., Altieri E., 1995).

В продолжении темы биоразнообразия в репродуктивной токсичности выступила Наталья Александровна Филиппова с докладом «**Оценка репродуктивной токсичности на карликовых свиньях. Методические особенности**». Наталья Александровна отметила, что женская репродуктивная система свиньи имеет двурогую матку с извилистыми фаллопиевыми трубами. Карликовые свиньи — наиболее близкий к человеку вид с точки зрения гистологии матки и цикличности эстрального цикла. Однако у самок не наблюдается менструация в отличие от обезьян *Сynomolgus* и яванских макаков. У самцов карликовых свиней анатомические структуры семенника схожи с другими млекопитающими. Данные семиологии выявляют сходство с людьми, хотя есть различия в объеме спермы и семенных пузырьках, а бульбоуретральные железы в сравнении с простатой более развиты. Сперматогенез у свиньи занимает от 35 дней, что намного меньше, чем у собаки или крысы. Это имеет прямое последствие для продолжительности исследований, в которых сперматогенез является потенциальной мишенью для токсичности.

Также необходимо учитывать вопросы переноса тестируемых химических веществ через плаценту. Трансплацентарный перенос антиаритмических средств был изучен на свинье и показал, что он ближе к трансплацентарному переносу у человека, чем (часто используемая) модель беременной овцы. У некоторых видов материнские антитела передаются плоду через плаценту во время беременности. К этим видам относятся, например, крысы, мыши, кролики, морские свинки, собаки, обезьяны, человекообразные обезьяны и люди. Однако внутриутробный перенос антител не происходит у тех видов млекопитающих, у которых больше межполушарных плацентарных слоев, и отсутствует функциональная плацента желточного мешка. У этих животных (например, у лошадей, свиней, коров, овец и коз) новорожденные вырабатывают антитела при приеме молозива, богатого иммуноглобулинами.

Плацента свиньи имеет шестислойную эпителиохориальную структуру и непроницаема для проникновения макромолекул, таких как иммуноглобулины, на протяжении всего периода беременности. У новорожденного поросенка нет антител материнского происхождения, и материнские антитела содержатся в молозиве в первые 6 ч после опороса. В основном это IgG-антитела, а другие иммуноглобулины передаются в незначительных количествах. После прекращения выделения молозива в молоке обнаруживается в основном IgA, обеспечивающий местную защиту слизистой оболочки.

По этим причинам новорожденные поросята, лишенные молозива, являются интересной моделью для изучения онтогенеза иммунитета, поскольку они совершенно не обладают иммунитетом. Поскольку перенос антител через плаценту у поросенка не происходит, ожидается, что это не будет информативной моделью для изучения терапевтических препаратов с антителами (или вакцин) у эмбриона в исследованиях фетальной токсичности.

Таким образом, для повышения точности и надежности исследований репродуктивной токсичности крайне важно учитывать ключевые особенности репродуктивной биологии используемых тест-систем: возраст полового созревания, продолжительность беременности, длительность сперматогенеза, размер помета и степень сходства эмбрионального развития с человеком. При этом ограничиваться только традиционными видами лабораторных животных недостаточно. Необходимо рассматривать и нетрадиционные модели, которые в некоторых случаях могут лучше воспроизводить особенности человеческой репродукции и обеспечивать более достоверную оценку влияния лекарственных препаратов-кандидатов на репродуктивную систему человека.

Использование моделей заболеваний, генетически модифицированных моделей и суррогатных молекул

Модели заболеваний на животных, генетически модифицированные животные и суррогатные молекулы могут быть ценными для изучения влияния препарата на развитие и воспроизводство. Исследования на моделях заболеваний могут быть ценными в случае, когда данные, полученные от здоровых животных, могут вводить в заблуждение или по иным причинам не соответствовать заболеванию в клинических условиях. Модель должна быть фармакологически релевантной и подходящей для оцениваемых конечных точек развития и репродуктивности. Патофизиология течения заболевания в модели должна быть охарактеризована. Некоторые отличия от патофизиологии человека не будут препятствовать ее использованию, если они не помешают интерпретации данных. Вариабельность от животного к животному должна быть охарактеризована и соответствовать контексту исследования. Если исторические сведения о контроле ограничены, чтобы помочь в интерпретации результатов, референтные данные для конечных точек исследования должны быть доступны или получены в ходе исследования.

Выбор уровня дозы, пути введения и режима дозирования

Выбор уровня дозы, схемы и пути введения является важным аспектом дизайна исследования и должен основываться на всей доступной информации (например, фармакологии, токсичности повторных доз, фармакокинетике и исследованиях по поиску диапазона доз). Руководство по принципам выбора дозы для низкомолекулярных соединений и биофармацевтических препаратов приведено в ICH M3 и ICH S6. Если достаточная информация о переносимости в тестовой системе отсутствует, рекомендуется проводить исследования по поиску диапазона доз.

Выбор дозы

Существует ряд конечных точек для выбора дозы, которые можно использовать для DART-исследований. Выбранные дозы должны учитывать наблюдения, сделанные в предыдущих исследованиях. Могут быть случаи, когда будет достаточно менее трех уровней доз для предоставления необходимой информации и оценки риска.

Конечная точка, выбранная на основании токсичности

Данная точка основана на индуцировании минимального уровня токсичности у родительских особей на фоне высокой дозы препарата. Факторы, лимитирующие высокую дозу, определенные в ранее проведенных исследованиях, могут включать:

- изменения в массе тела (прибавка либо снижение); незначительные, временные изменения в приросте массы тела не подходят для выбора дозы; при оценке эффектов изменения массы следует учитывать всю продолжительность дозирования;
- усиленные фармакологические реакции (например, чрезмерная седация или гипогликемия);
- токсикологические реакции (например, судороги, чрезмерная эмбрионально-фетальная летальность); токсичность для определенного органа-мишени, которая будет искажать исследуемые конечные точки в течение запланированного исследования DART.

Конечная точка, выбранная на основании «насыщения системной экспозиции»

Может быть оправдан выбор высокой дозы, основанный на насыщении системной экспозиции, измеряемой системной доступностью фармацевтических веществ. Нет смысла увеличивать вводимую дозу, если это не приводит к повышению концентрации исходного вещества или метаболитов в плазме крови.

Конечная точка, выбранная на основании границы экспозиции

В случае низкомолекулярных соединений оправданной конечной точкой для выбора высокой дозы может быть системная экспозиция, представляющая собой многократную человеческую AUC или C_{max} на фоне MRHD. Подходящими в качестве максимальной дозы для DART-исследований, как правило, считаются дозы, обеспечивающие экспозицию у беременных особей более чем 25 раз выше экспозиции на фоне MRHD. 25-кратный запас экспозиции должен быть установлен в соответствующем GLP-исследовании поиска диапазона доз/rEFD или опорном исследовании. Обычно такая кратность должна определяться на основании концентраций исходного лекарства, вместе с тем необходимо также обеспечить достаточный запас экспозиции основных метаболитов человека (см. ICH M3 и ICH M3 В10).

В случае пролекарств более оправданным может быть установление кратной экспозиции на основании активного метаболита, особенно если испытуемый вид животных имеет низкое отношение активного метаболита к пролекарству по сравнению с людьми. Основание выбора соединения, используемого для сравнения (исходное лекарство или метаболит), должно быть обосновано.

В случае лекарств, продемонстрировавших фармакодинамическую активность на испытуемом виде животных только при экспозициях, более чем в 25 раз превышающих таковую, прогнозируемую на фоне MRHD, могут потребоваться более

высокие дозы, чтобы оценить нежелательные эффекты усиленного фармакологического воздействия. Вместе с тем с большей вероятностью будут наблюдаться нерелевантные внемишеневые эффекты.

Если в качестве основания для выбора уровня дозы для EFD-исследований используются конечные точки, основанные на экспозиции, ожидаются токсикокинетические данные от беременных животных из исследования, соответствующего GLP. Выбор использования общего или фракционного несвязанного фармацевтического воздействия должен быть обоснован и соответствовать всей программе доклинической разработки, изложенной в ICH S3A⁴.

Подход на основе экспозиции для биофармацевтических препаратов

Поля экспозиции могут быть подходящими для выбора дозы биофармацевтических препаратов в соответствии с ICH S6. Как правило, доза должна обеспечивать либо максимально предполагаемый фармакологический эффект у животных, либо экспозицию, приблизительно в 10 раз превышающую максимальную клиническую экспозицию, в зависимости от того, что выше.

Конечная точка, выбранная на основании «максимально достижимой дозы» (MFD)

MFD может использоваться для выбора высокой дозы, когда физико-химические свойства фармацевтического препарата (или формулы), связанные с путем/частотой введения, и анатомические/физиологические характеристики исследуемого вида ограничивают количество фармацевтического препарата, которое может быть введено. Использование MFD должно максимизировать воздействие у исследуемого вида, а не максимизировать вводимую дозу.

Конечная точка, выбранная на основании «лимитирующей дозы»

Ограниченная доза 1 г/кг/день обычно может применяться, когда другие факторы выбора дозы не были достигнуты при более низких уровнях дозы (см. также ICH M3 для других соображений).

Выбор более низкого уровня дозы

Как правило, желательно установить дозу, не вызывающую видимого нежелательного действия (NOAEL) в отношении DART. Выбор более низкого уровня дозы должен учитывать экспозицию, фармакологическое влияние и токсичность так, чтобы можно было установить зависимость доза—ответ. Низкая доза должна, как правило, обеспечивать низкий кратный (например, от 1 до 5 раз) уровень воздействия

⁴ ICH S3A Toxicokinetics: the assessment of systemic exposure in toxicity studies. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-s3a-toxicokinetics-assessment-systemic-exposure-toxicity-studies-scientific-guideline> (дата обращения: 02.11.25).

на человека при MRHD. Уровень дозы, который приводит к субтерапевтическому воздействию на человека, должен быть обоснован.

Путь введения

В идеале путь введения препарата животным должен соответствовать тому, как его вводят людям. Однако если достаточное воздействие не может быть достигнуто с помощью клинического пути, или он невозможен, следует рассмотреть другие способы введения. Если у людей используются разные способы введения, то для исследования на животных достаточно выбрать один из них при условии, что он обеспечивает необходимую концентрацию препарата в организме и учитывает образование метаболитов.

Режим дозирования

Схемы дозирования, используемые в исследованиях токсичности, определяют профиль воздействия, что может быть важно при оценке риска. Хотя имитация клинического графика применения часто бывает достаточна, более или менее частый график может быть целесообразным. Например, дозирование дважды в день может быть оправдано для соединений, которые быстро метаболизируются в организме испытуемых видов, хотя прагматические факторы (например, логистика исследования, стресс у животных) следует учитывать при рассмотрении более частого графика. Также может быть важно изменить график дозирования, чтобы гарантировать адекватное воздействие на всех критических стадиях размножения и/или развития, оцениваемых в данном исследовании.

Выбор дозы и дизайна исследования для вакцин

Типы исследований репродуктивной и/или онтогенетической токсичности, используемых для профилактических и терапевтических вакцин, зависят от целевой группы для вакцины и релевантного репродуктивного риска. Как правило, исследования DART не оправданы для вакцин, разрабатываемых для новорожденных, детей препубертатного возраста или гериатрических групп.

В случае исследований репродуктивной токсичности вакцин обычно достаточно оценить один уровень доз, способный вызывать иммунный ответ на модели с использованием животных, при клиническом пути введения. Такой единственный дозовый уровень должен быть максимально приближен к человеческой дозе без коррекции на массу тела (то есть 1 человеческая доза = 1 доза на животное). Если ввиду ограничений в общем объеме, который можно ввести, или в связи с дозолимитирующей токсичностью (локальной или системной) ввести максимальную человеческую дозу животному невозможно, надо использовать дозу ниже человеческой. Чтобы использовать сниженную дозу, необходимо предоставить обоснование, почему полная человеческая доза не может быть использована на животных.

Режим вакцинации должен максимизировать титры материнских антител и/или иммунный ответ на протяжении эмбрионального, fetalного и раннего пост-

натального периодов. Сроки и число доз будут зависеть от начала и продолжительности иммунного ответа конкретной вакцины. При разработке вакцины, вводимой во время беременности, должно быть предоставлено обоснование конкретного дизайна исследования, исходя из ее планируемого назначения (например, защита матери во время беременности или защита ребенка в ранний постнатальный период).

Ежедневное введение вакцины может приводить к сверхэкспозиции ее компонентами, поэтому рекомендуется эпизодическое, а не ежедневное, дозирование для беременных особей. Кроме того, в отношении большинства профилактических и терапевтических вакцин эпизодическое дозирование лучше приближает предлагаемый клинический режим иммунизации. С учетом короткого гестационного периода у рутинных видов животных вводить праймерную(ые) дозу(ы) животным, как правило, рекомендуется за несколько дней или недель до спаривания, чтобы сформировать пиковый иммунный ответ во время клинических фаз беременности (то есть в период органогенеза). Режим дозирования может быть модифицирован в соответствии с планируемой схемой вакцинации у людей.

По крайней мере одна доза должна быть введена во время раннего органогенеза, чтобы оценить потенциальные прямые эмбриотоксические эффекты компонентов вакцины и поддерживать высокий ответ антител на протяжении оставшегося срока беременности. Если наблюдается эмбрионально-фетальная токсичность, ее можно дополнительно оценить с использованием подгрупп животных, которым вводят дозу в определенные моменты времени.

В случаях, когда вакцина включает новый активный составной ингредиент (включая новые адъюванты), может быть целесообразно рассмотреть дополнительные стратегии тестирования, аналогичные тем, которые применяются для невакцинных продуктов.

Отчетность и статистика

Отчетность

При подготовке отчета необходимо:

- предоставлять индивидуальные значения в таблице в ясной и краткой форме; таблицы данных должны позволять легко отслеживать отдельных животных от начала исследования до его завершения;
- описывать плодные морфологические аномалии с использованием отраслевой гармонизированной терминологии;
- четко перечислять результаты по каждому помету и типу аномалии;
- указывать включение или исключение данных небеременных животных в обобщающих таблицах;
- обеспечить, чтобы основной метод интерпретации был основан на сравнении с текущей контрольной группой;
- для помощи в интерпретации данных использовать исторические контрольные/справочные данные (желательно за последние 5 лет), они позволяют идентифицировать генетический дрейф.

Статистика

Многие наборы данных из DART-исследований не подчиняются нормальному распределению, что требует использования непараметрических статистических методов. Сводные статистические данные, касающиеся кесарева сечения, фетальных и постнатальных результатов, следует рассчитывать с использованием помета в качестве единицы анализа. Статистическая значимость может не свидетельствовать о положительном сигнале, равно как и ее отсутствие не подразумевает, что эффекта нет. Часто полезно определять биологическое правдоподобие на основании всех доступных фармакологических и токсикологических данных.

Некоторые вопросы статистической обработки данных, полученных при изучении репродуктивной токсичности, были обсуждены в докладе Елены Владимировны Вербицкой «[Статистический анализ данных доклинических исследований по репродуктивной токсичности](#)».

Принципы оценки риска

Следует отметить, что не все находки в DART-исследованиях являются нежелательными. Если находка расценивается как нежелательная, должно быть рассмотрено несколько факторов при оценке весомости доказательств для оценки риска. Такие могут включать запасы экспозиции, биологическое правдоподобие, признаки зависимости доза—эффект, обратимость наблюдаемых изменений, потенциал искажающей родительской токсичности и наблюдение схожих изменений на двух видах животных. В случае редких аномалий развития отсутствие повышенной частоты с дозой не всегда снижает опасения.

Важным компонентом оценки риска является сравнение экспозиции лекарства на фоне NOAEL у испытуемого вида животных с экспозицией на фоне MRHD. Такое сравнение должно основываться на наиболее релевантной метрике (например, AUC, C_{max}, C_{min}, дозе, скорректированной по площади поверхности тела). В целом возникает повышенное опасение, когда NOAEL наблюдается при экспозициях, в 10 раз меньше таковых для человека на фоне MRHD; выше этого порога опасение снижается. Эффекты, которые ограничены встречаемостью при более чем 25-кратной человеческой экспозиции на фоне MRHD, обычно вызывают незначительное опасение в отношении клинического применения лекарства. Наиболее релевантным запасом обычно является метрика экспозиции у наиболее чувствительного вида животных, если только иное не обосновано соответствующим образом. Биологическое правдоподобие оценивается сравнением фармакологического механизма действия с известной ролью мишени в репродукции или онтогенезе. находка, которая может интерпретироваться как следствие фармакологического эффекта, предполагает, что она будет причиной опасности для людей. Такая зависимость еще больше подкрепляется доказательством, что находка является дозозависимой, характеризующейся повышением частоты возникновения или тяжести негативного эффекта. Отсутствие биологического правдоподобия не препятствует внemiшневой токсичности, особенно если она характеризуется зависимостью доза—эффект.

Потенциальная обратимость будет менять оценку риска. Влияние на мужскую и женскую фертильность, являющееся обратимым после прекращения вмешательства, вызывает меньше опасений. В противоположность этому критически необратимые онтогенетические конечные точки, такие как гибель или аномалия развития, вызывают повышенное опасение. Другие формы онтогенетической токсичности (например, задержка роста, функциональный дефицит) могут быть обратимыми или необратимыми. Как правило, транзиторные находки (например, скелетные вариации, такие как волнистые ребра) вызывают меньше опасений, если они возникают изолированно. Аналогично меньшее беспокойство вызывают вариации, свидетельствующие о задержке роста в случае сниженной массы плода. Вместе с тем итоговое повышение частоты вариаций (независимо от качественной схожести) может свидетельствовать о повышенном опасении дисморфогенеза в присутствии сомнительного увеличения числа аномалий развития.

При определении релевантности находок следует рассмотреть роль родительской токсичности. Эмбрионально-фетальная токсичность, наблюдаемая в присутствии материнской токсичности, должна быть внимательно рассмотрена для определения того, что находка релевантна для людей. В частности, в данном случае может помочь сравнение конкордантности между находками у отдельных пометов и тяжестью материнской токсичности у самки. Не следует считать, что онтогенетическая токсичность вторична по отношению к материнской токсичности, если только такая зависимость не продемонстрирована *de novo*, или можно привести релевантную опубликованную литературу.

Кроме того, укреплять опасение в отношении нежелательного действия может согласованность репортированных находок между исследованиями или видами животных. Повышенная смертность плода, наблюдаемая в исследовании EFD на грызунах, которая согласуется с уменьшением размеров живого помета в исследовании PPND, является примером соответствия перекрестных исследований. Наблюдения за увеличением постимплантационной потери у крыс и кроликов являются примером соответствия перекрестных видов. Более полные знания о механизме репродуктивных или развивающих эффектов, выявленных в исследованиях на животных, могут помочь объяснить различия в реакциях между видами и предоставить информацию о значимости эффекта для человека (например, вызванная кортикостероидами расщелина нёба у мышей).

Специальная оценка риска, проводимая в отношении грудного вскармливания, основывалась бы на опасностях, выявленных в исследовании *in vivo* помета (PPND или ePPND). Такие опасения могут включать неблагоприятное воздействие на рост и развитие потомства, которые обусловлены экскрецией фармацевтического препарата в молоко. Данные о системной экспозиции у детенышей из исследованного помета, если таковые имеются, также можно сравнить с прогнозируемым лактационным воздействием на младенца человека. Хотя межвидовые различия в составе молока не позволяют напрямую количественно сопоставлять уровни фармацевтического препарата в молоке животных и человека, обнаружение препарата в молоке животных обычно свидетельствует о его присутствии в молоке человека.

Наконец, на итоговую оценку репродуктивного риска у человека могут влиять доступные данные о людях.

Оценка репродуктивной токсичности препаратов на основе растительного сырья

Обеспечение качества всех лекарственных средств, в том числе растительных, имеет решающее значение для защиты здоровья населения. Количество научных данных о пищевых добавках сильно варьирует: о некоторых из них известно много, а о других — очень мало. В своем докладе «Оценка репродуктивной токсичности растительных препаратов на этапе доклинического изучения» Любовь Вениаминовна Крепкова обратила внимание, что в настоящее время многие женщины в период беременности применяют лекарственные средства растительного происхождения или биологически активные добавки к пище (БАД), считая их менее токсичными, однако их использование также не всегда безопасно. Л.В. Крепкова рассказала о возможности негативного влияния на течение беременности и плод ряда растительных лекарственных средств, которые могут усиливать кровотечение в родах [анис обыкновенный (плоды), вербена лекарственная (трава), женьшень настоящий (корни), клевер луговой (цветки), пигеум африканский (кора), солодка голая (корни), соя культурная (семена), ферула вонючая (корни), хмель обыкновенный (соплодия), цимицифуга кистевидная (корневища с корнями), шалфей лекарственный (листья)]; стимулировать сокращение матки (алоэ, арника, барбарис обыкновенный, горец птичий, конопля, крапива двудомная, кровохлебка лекарственная, первоцвет лекарственный, ревень, сельдерей, спорынья, и др.); оказывать токсическое (белладонна, безвременник осенний, коровяк — медвежье ушко, термопсис ланцетовидный, толокнянка и др.) и abortивное действие (алтей, буквица лекарственная, крушина ломкая, хрен обыкновенный и др.).

В заключение своего доклада Любовь Вениаминовна акцентировала внимание на том, что:

- для гарантии безопасного назначения растительных лекарственных средств во время беременности и грудного вскармливания необходимо располагать достоверной информацией о такой возможности и, следовательно, проводить более строгие и тщательно контролируемые доклинические исследования репродуктивной токсичности;
- применение беременными женщинами лекарственных растительных препаратов и БАД в пищу, содержащих в своем составе лекарственное растительное сырье, должно быть строго обоснованным;
- результаты экспериментальных и клинических исследований подтверждают значимость оценки репродуктивной токсичности на этапе доклинических исследований.

Тему применения растительных препаратов продолжила Александра Николаевна Бабенко в своем докладе «Оценка влияния растительных лекарственных средств на фертильность крыс самцов при доклиническом исследовании» и поделилась собственными данными о лапчатке белой и цикории обыкновенном. Результаты исследования с использованием корневища с корнями растения лапчатки белой (*Potentilla alba* L.), стандартизированного по сумме фенольных соединений (катехинов, галловой и кумаровой кислот), составляющей 61,29%, представлены в табл. 8.

Таблица 8

Влияние лапчатки белой на фертильность самцов крыс

| Показатель | Группа животных | | |
|--|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | 1-я (контроль интактный) | 2-я (лапчатка 25 мг/кг) | 3-я (лапчатка 125 мг/кг) |
| Функциональные методы: | | | |
| продолжительность движения сперматозоидов, мин | 170,0±13,5 | 162,5±16,0 | 98,0±11,4* |
| общее количество сперматозоидов, млн | 591,1±37,2 | 599,4±35,5 | 481,2±54,5 |
| в том числе подвижные формы, млн | 327,8±18,6 | 240,6±26,6* | 163,3±29,1** |
| количество подвижных форм, % | 56,1±2,9 | 46,3±1,7* | 32,8±3,3** |
| патологические формы, % | 1,5±0,3 | 2,7±0,2 | 5,1±0,5* |
| Масса семенников, г | 3,2±0,1 | 3,3±0,1 | 3,4±0,2 |

Примечание. Статистически значимые различия: * при $p < 0,05$; ** при $p < 0,001$.

Таблица 9

Влияние цикория обыкновенного травы экстракта сухого (ЦОТЭС) на фертильность самцов крыс

| Показатель | Группа животных | | | |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| | 1-я (контроль — вода) | 2-я (ЦОТЭС 100 мг/кг) | 3-я (ЦОТЭС 500 мг/кг) | 4-я (ЦОТЭС 1000 мг/кг) |
| Функциональные методы: | | | | |
| продолжительность движения сперматозоидов, мин | 360,0±23,5 | 362,2±26,0 | 345,3±25,6 | 352,7±23,5 |
| общее количество сперматозоидов, млн | 23,5±3,9 | 36,3±4,3* | 37,4±3,6* | 40,0±4,6* |
| в том числе подвижные формы, млн | 17,2±2,7 | 23,7±7,8* | 22,8±2,9* | 32,9±2,6* |
| Патологические формы, % | 1,1±0,6 | 1,7±0,5 | 1,6±0,3 | 1,7±0,4 |

Примечание. * Статистически значимые различия с контролем $p < 0,05$.

Результаты исследования с использованием цикория обыкновенного (*Cichorium intybus L.*), стандартизированного по сумме фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, составляющей $9,20 \pm 0,43\%$, представлены в табл. 9.

По результатам проведенных исследований А.Н. Бабенко сделала следующие выводы:

- экстракт лапчатки белой оказывал токсическое действие на семенники крыс, вызывая снижение количества подвижных сперматозоидов, увеличение количества патологических форм, снижение индекса сперматогенеза, но при этом

оплодотворяющая способность крыс-самцов сохранялась, так как для этого оставалось достаточное количество нормальных сперматозоидов;

- экстракт травы цикория давал стимулирующий эффект на репродуктивную систему крыс-самцов, о чем свидетельствует увеличение диаметра семенных канальцев, индекса сперматогенеза, общего количества сперматозоидов и их жизнеспособных форм, а также уровня тестостерона в сыворотке крови.

Репродуктивные технологии

Вопросами, смежными с репродуктивным здоровьем, являются репродуктивные технологии, применяемые как в медицине и ветеринарии, так и в научных исследованиях.

В докладе Елены Александровны Корочкиной «[Протоколы криоконсервации спермы производителей сельскохозяйственных животных: основные направления и перспективы](#)» было отмечено 5 этапов криоконсервации спермы.

1. Центрифугирование. Данный этап является обязательным при работе со спермой баранов и козлов, поскольку семенная плазма содержит фосфолипазу А — фермент, который негативно отражается на сперматозоидах в процессе криоконсервации. Задача центрифугирования заключается в эффективном удалении семенной плазмы. Для этого используются специальные методы, например, коллоидное центрифугирование, которое гарантирует высококачественное отделение плазмы.
2. Отбор функционально активных сперматозоидов. Для этого используется протокол «swim up». Данный метод основан на принципе разделения сперматозоидов от других компонентов эякулята исключительно на основании их подвижности. Однако следует отметить, что данный протокол не позволяет отделить деформированные сперматозоиды, а также сперматозоиды с нарушенным хроматином.
3. Разбавление. Для разбавления применяются специальные среды. При этом выделяют 2 подхода, направленные на сохранение сперматозоидов:
 - традиционный — использование криопротекторов, стабилизаторов мембран, жирных кислот, сахаров и антиоксидантов;
 - инновационный — использование биофизических методов, лиофилизации, нанокриоконсервации, копинг-стратегии.
4. Охлаждение. Этот этап направлен на замедление метаболизма сперматозоидов и как следствие — на увеличение их жизнеспособности. Процесс охлаждения занимает от 2 до 4 ч и является адаптационным периодом, подготавливающим сперматозоиды к последующей глубокой заморозке.
5. Упаковка и глубокая заморозка. Финальный этап криоконсервации заключается в упаковке подготовленного семенного материала и его последующей заморозке при сверхнизкой температуре $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Заморозка может осуществляться как в специальных емкостях, например, сосудах Дьюара, так и с использованием автоматических систем заморозки.

Е.А. Корочкина также подчеркнула, что криоконсервация, представляющая собой глубокую заморозку семенного материала при температуре $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ неизбежно приво-

дит к повреждению клеточной мембраны, ДНК и митохондрий, это отражается на таких качественных показателях сперматозоидов, как подвижность, морфология и фрагментация ДНК. Эти повреждения негативно влияют на качественные характеристики сперматозоидов, включая подвижность и морфологию. Таким образом, в настоящее время после процедуры оттаивания удается сохранить примерно 50% сперматозоидов.

В завершении своего доклада Елена Александровна выделила основные научно-исследовательские направления:

- сублимационная сушка сперматозоидов (процесс замораживания спермы и последующего удаления из нее воды в виде пара под вакуумом, что позволяет сохранить сперматозоиды в течение длительного времени без потери их жизнеспособности);
- витрификация (метод сверхбыстрой заморозки, который предотвращает образование повреждающих кристаллов льда внутри клеток);
- использование технологий высокопроизводительного секвенирования (проверка производителя на разные качественные признаки, в том числе на фертильность семени).

Елена Ивановна Леонова в своем докладе «Оплодотворение *in vitro* и криоконсервация мышинных гамет» рассказала о важности своевременной редеривации мышинной колонии, что дает такие преимущества как:

- биобезопасность — получение животных, очищенных от патогенов;
- сохранение генетически стабильной линии — регулярное восстановление и обновление ценных линий из замороженного материала;
- обмен между вивариями — безопасная транспортировка модельных организмов.

Елена Ивановна озвучила этапы редеривации с помощью оплодотворения *in vitro*:

- 1) получение спермы и ооцитов, при этом источником могут быть живые животные или размороженная сперма от самцов в возрасте 10–16 нед и живые или размороженные ооциты от самок в возрасте 5–12 нед;
- 2) IVF (экстракорпоральное оплодотворение, ЭКО);
- 3) подсадка зигот сурогатным самкам;
- 4) рождение детенышей;
- 5) генотипирование потомства;
- 6) скрининг патогенов.

Также Елена Ивановна рассказала об этапах получения спермы, ооцитов и зигот, отметив, что зиготы могут быть получены как с гормональной стимуляцией, так и без нее, в то время как ооциты извлекаются только после применения гормональных препаратов. Она описала методику переноса эмбрионов и процесс криоконсервации сперматозоидов мышей, акцентировав внимание на том, что состав среды для замораживания спермы является одним из ключевых факторов. В завершении своего доклада Елена Ивановна представила результаты собственного исследования эффективности оплодотворения *in vitro*. Она отметила, что во всех рассмотренных протоколах говорится о важности применения глутатиона. При этом для замороженной спермы он должен быть в большом количестве, нежели при работе с живой спермой, когда достаточно 0,25 мМ. Результаты показали, что при наличии кумулюса добавление глутатиона не оказывает влияния на эффективность опло-

Таблица 10

Эффективность оплодотворения *in vitro*

| Дополнительные компоненты среды IVF | Общее количество зигот после IVF | Общее количество двухклеточных эмбрионов | Эффективность IVF, % |
|-------------------------------------|----------------------------------|--|----------------------|
| + Кумулюс – 0,25 мМ глутатион | 51 | 37 | 72,55 |
| + Кумулюс + 0,25 мМ глутатион | 50 | 36 | 72,00 |
| – Кумулюс – 0,25 мМ глутатион | 79 | 26 | 32,91 |
| – Кумулюс + 0,25 мМ глутатион | 85 | 60 | 70,59 |

дотворения. Однако при использовании очищенных клеток, отсутствие глутатиона значительно снижало процент оплодотворенных яйцеклеток, табл. 10.

В продолжении темы Любовь Николаевна Ротарь в своем докладе «[Перспективы использования гамет и эмбрионов сельскохозяйственных животных в доклинических исследованиях](#)» рассказала о методах получения эмбрионов крупного рогатого скота.

Любовь Николаевна выделила основные этапы технологии получения эмбрионов *in vitro post mortem*:

- доставка биологического материала в лабораторию;
- подготовка яичников к работе;
- выделение ооцит-кумулюсных комплексов;
- дозревание ооцитов (IVM);
- оплодотворение (IVF/ICSI);
- культивирование эмбрионов до стадии бластоцисты (IVC);
- перенос эмбрионов или их криоконсервация;

и отметила перспективы их использования, включая:

- доступность материала для научно-исследовательской деятельности, обучения, практических тренингов, связанных с клеточной хирургией (биопсия);
- возможность отработки методик при организации эмбриологических лабораторий по прижизненному получению эмбрионов *in vitro*;
- применение эмбрионов для проведения тестов на эмбриотоксичность при производстве ветеринарных препаратов и вакцин, а также в качестве источника эмбриональных клеток;
- применение постмортальных эмбрионов в программах по сохранению генофонда малочисленных пород и увеличению их популяции;
- применение эмбрионов с высоким потенциалом в регионах, где разводится менее продуктивный скот;
- возможность получения потомства от ценной особи в случае ее внезапной гибели.

Любовь Николаевна выделила преимущества организации собственного пункта сбора ооцитов, что позволит не транспортировать материал в лабораторию, а извлекать ооциты непосредственно сразу после убоя. Это в свою очередь повысит эффективность этапа IVМ (метода, при котором незрелые яйцеклетки извлекаются из яичников без гормональной стимуляции и дозревают в лабораторных условиях), а также улучшит общую технологию.

Кроме того, она обозначила проблемы учета и нормативного регулирования, а также необходимость ответа на вопросы:

- как регистрировать потомков, рожденных из эмбрионов, полученных *post mortem*;
- как избежать конфликта интересов между хозяйством, бойней и биотехнологической компанией в случае массового получения эмбрионов *post mortem* для рождения потомков с коммерческой целью.

В заключение своего доклада Любовь Николаевна подчеркнула, поскольку яичники представляют собой побочный продукт, полученный после планового убоя скота, и при этом не потребуются дополнительный забой, применение посмертных эмбрионов в доклинических исследованиях оказывается привлекательным также и с точки зрения гуманного отношения к животным.

Искусственное оплодотворение и криоконсервация, многоплодная овуляция и перенос эмбрионов, экстракорпоральное оплодотворение, определение пола сперматозоидов или эмбрионов, ядерный перенос или клонирование — все эти действия являются важными инструментами репродуктивных технологий.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Reese J., Wang H., Ding T. et al. The hamster as a model for embryo implantation: insights into a multifaceted process // *Seminars in cell & developmental biology*. 2008. Vol. 19. N. 2. P. 194–203. DOI: [10.1016/j.semcd.2007.11.001](https://doi.org/10.1016/j.semcd.2007.11.001).
2. Zegers-Hochschild F., Altieri E. Luteal estrogen is not required for the establishment of pregnancy in the human // *Journal of assisted reproduction and genetics*. 1995. Vol. 12. N. 3. P. 224–228.
3. Изъюрова Е.А., Гушин Я.А. Сравнительная морфология мужской половой системы человека и лабораторных животных // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2025. № 1. С. 39–64. DOI: [10.57034/2618723X-2025-01-03](https://doi.org/10.57034/2618723X-2025-01-03).

Лабораторное животноводство

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-s7>

Е.Д. Ивлев¹, Е.Л. Завьялов², А.О. Кустова³, М.Л. Ловать⁴, И.А. Махнин⁵, Е.С. Мидукова⁶, К.В. Робертс⁷, Е.А. Снижко⁸, С.О. Хан⁸, А.С. Чернов⁹

¹ ФГБНУ «МГНЦ»,

² ИЦиГ СО РАН,

³ ННГУ им. Н.И. Лобачевского,

⁴ ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова,

⁵ ФГБУ «НМИЦ им В.А. Алмазова» Минздрава России,

⁶ ООО «ИНПРЕН»,

⁷ НИЦ «Курчатовский институт»,

⁸ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

⁹ ГНЦ ИБХ РАН

На сегодняшний день очевидно, что работа с качественными лабораторными животными лежит в основе всей современной биологии и биомедицины. Однако все чаще мы говорим не только о самих результатах наших исследований, но и об их воспроизводимости и трансляционности. Ответы на вызовы, которые перед исследователями ставит трансляционный кризис, и необходимость дальнейшего развития науки невозможны без стандартных по генетическому, микробиологическому и физиологическому статусу животных, причем при планировании любого исследования перед учеными встает вопрос: где взять качественных лабораторных животных? Здесь сразу приходит ответ — в питомнике, но что такое питомник? Если мы обратимся к нормативной документации в поиске ответа, то не сможем ничего там найти. На сегодня российским законодательством никак не освещена или регламентирована деятельность питомников лабораторных животных. Российские питомники регулируются только нормами по содержанию животных, а разведение остается в так называемой серой зоне, что часто приводит к негативным последствиям. Отсутствие единых правил и стандартов контроля микробиологического и генетического статуса лабораторных животных не позволяет получать надежные и стабильные данные в исследованиях.

В докладе [«Об истории развития и использования лабораторных животных на примере питомника лабораторных животных «РАППОЛОВО»](#) директор питом-

ника лабораторных животных «Рапполово» НИЦ «Курчатовский институт» Константин Владимирович Робертс рассказал об истории этого вопроса в нашей стране и о перспективах питомника лабораторных животных «Рапполово».

В июне 1921 г. заведующий Пастеровским прививочным отделением Института экспериментальной медицины (ИЭМ) — доктор медицинских наук Василий Гаврилович Ушаков (1865–1953) на заседании «Вакцино-сывороточной комиссии» поставил вопрос о нехватке животных для работы: «Отделение располагает всего 5 кроликами, в том числе 4 кроликами, уступленными лабораторией Мечникова. Так как означенное количество кроликов совершенно недостаточно для продолжения деятельности».

В этом документе скорее всего отражалась существовавшая в то время не только потребность в производстве сывороток, но и необходимость в надлежащем количестве животных для прочей экспериментальной работы. На первом месте безоговорочно стояли кролики, а наиболее популярные в настоящее время мыши и крысы перечислялись в одном пункте и находились лишь на третьем месте после кроликов и морских свинок. Сразу можно оговориться, что планам развития питомника лабораторных животных не было суждено реализоваться ни по видовому разнообразию (так и не появились крысы и бараны), ни по заявленному количеству кроликов (100 племенных и 400 ординарных).

В 1923 г. питомник опытных лабораторных животных находился на территории больницы им. Р. Коха в бараке № 15. На первой печати питомника адрес не был указан, однако в справочнике Петрограда за 1922 г. указывался адрес Сосновской барачной больницы: «угол Яшумова переулка и Ольгинской улицы», аналогичный тому, который писался от руки в машинописных документах питомника.

После переименования Сосновской барачной больницы им. Р. Коха в больницу им. Калинина адрес учреждения указывался уже по ул. Политехническая, д. 6, что отчасти помогало определить место расположения питомника опытных лабораторных животных на плане Ленинграда.

В первую очередь организуемый питомник был ориентирован на содержание и разведение кроликов, потребность в которых у производителей сывороток была не удовлетворена.

В соответствии с заказом фуража в 1923 г. в питомнике должны были находиться 84 кролика, 22 морские свинки и 17 белых мышей. Животные, выращенные в питомнике, в основном передавались в учреждения бесплатно или за счет средств Губздрава.

Однако к июню месяцу положение изменилось и кроликов стали продавать. В 1924 г. среди пород кроликов, содержащихся в питомнике, кроме метисов, упоминались ангорская, венская и голландская.

В дальнейшем в питомнике разводили гораздо больше мышей, чем передавали в учреждения. Мыши, как и прочие лабораторные животные, передавались в учреждения бесплатно или за счет средств Губздрава. Как правило, их получали в единичных экземплярах: профессор Шор (10 шт.) из Петроградского медицинского института (01.05.1923), больница им. Воскова, институт Пастера (9 шт.), бактериологический и диагностический институт (6 шт.).

Попытки завести крыс в питомнике ранее скорее всего предпринимались, но свідетельств об их поставке в организации города в источниках литературы не обнаружено.

В 1923 г. Боткинская барачная больница предложила питомнику 3 белых крысы (2 самки и самца). Однако эти животные не были приняты вследствие того, что все белые крысы в Боткинской барачной больнице были поражены в сильной степени чесоткой, которая грозила опасностью заражения всех животных питомника.

Ознакомление с архивными документами в основном дает представление о развитии питомника опытных лабораторных животных после 1923 г., времена были суровые, поддержка дела — минимальной, но тем не менее увеличивалось поголовье животных, осваивались новые способы его реализации.

Кажется, что в начале 1924 г. ничто не предвещало закрытия питомника, появилась информация, касающаяся расширения штата, после переименования Петрограда были выпущены печатные бланки.

Однако к 4 октября 1924 г. в питомнике опытных лабораторных животных не осталось ни животных, ни фуража, ни инвентаря. Питомник опытных лабораторных животных Ленинградского губернского исполнительного комитета совета рабочих, крестьянских и красноармейских депутатов прекратил свое существование.

К концу 1955 г. правительством было принято решение о необходимости восстановления работы питомника лабораторных животных в связи с увеличением потребности в животных для экспериментов.

В конце 1956 г. приступили к реализации предложений по строительству нового крольчатника и помещения для содержания морских свинок. Строительство было закончено во втором полугодии 1957 г.

На 1 апреля 1957 г. введены в эксплуатацию новые помещения для содержания и разведения белых мышей, обеспечивающие единовременное содержание до 10 тыс. голов маточного поголовья.

В 1957 г. был утвержден генеральный план строительства питомника. В постановлении ученого совета Института экспериментальной медицины от 22 июня 1957 г. был принят генеральный план строительства питомника лабораторных животных «Рапполово».

В постановлении предусматривалось учесть строительство производственных корпусов, специальных зданий и систем питомника для:

- разведения чистых линий;
- горячего и холодного водоснабжения;
- канализации с включением в нее всех производственных помещений для животных;
- приточно-вытяжной вентиляции с контролем постоянной влажности и температуры в помещениях, включая вентиляцию каждой секции отдельно.
- защиты от проникновения диких грызунов и обеспечения санитарно-гигиенических условий в производственных помещениях; стены должны быть облицованы метлахской плиткой;
- пропускной системы санобработки каждой секции и автоклавного оборудования, электрических холодильников, механических моек для инвентаря.

Проект предписывал иметь для каждой секции отдельную кормокухню.

Было предусмотрено строительство лабораторного здания для бактериологических и патолого-гистологических исследований. Крольчатник был рассчитан на 800 клеток. Необходимым для инфраструктуры являлось овощехранилище.

Для обеспечения овощами предусматривались теплицы, а для персонала — жилые дома для проживания сотрудников. Кроме всего, в проекте указывались своя котельная, дезкамеры, моечные.

Основной задачей питомника ставилось разведение лабораторных животных в целях обеспечения научной деятельности институтов АМН СССР, а также научных, учебных и лечебных учреждений Минздрава РСФСР, размещенных в Ленинграде.

Генеральный план строительства претворился в жизнь. За период с 1956 по 1962 г. были введены в строй 9 производственных корпусов, жилые дома для сотрудников, кормокухни, овощехранилища и даже баня.

Сегодня питомник «Рапполово» спустя десятилетия продолжает выполнять свою главную задачу — разведение качественных лабораторных животных.

Как мы видим на примере питомника «Рапполово», обеспечение научных учреждений страны лабораторными животными является стратегическим вопросом и требует как долгосрочного планирования, так и капитальных вложений. В настоящее время важнейшие части современного вивария — вентиляция и смежные системы.

В своем докладе «[Как не устроить сауну для мышей и холодильник для кроликов \(ошибки в проектировании ОВиК на примере модульных вивариев\)](#)» заместитель начальника департамента проектов (ООО «ИНПРЕН») Екатерина Сергеевна Мидукова постаралась подчеркнуть важность и критичность условий, в которых проводятся исследования, и рассказать, на что нужно обратить внимание при проектировании систем вентиляции, отопления и кондиционирования (далее ОВиК).

На сегодняшний день, к сожалению, все еще большое количество научно-исследовательских центров не соответствует нормативным требованиям и принципам организации по размещению, содержанию и проведению работ с животными. Ежедневно мы сталкиваемся с насущными проблемами вивариев и лабораторий, когда банально нет или работают ненадлежащим образом системы ОВиК: в вивариях стоит резкий специфический запах животных, не соблюдаются температурный режим и кратность воздухообмена, присутствуют неорганизованные перетоки воздуха из одного помещения в другие, перемешаны между собой потоки людей, животных, материалов и отходов.

Все это приводит к тому, что результаты исследований не могут гарантировать чистоту эксперимента. Животные заражаются, заболевают, а причины этого часто кроются не в научных ошибках, а в условиях, где эти животные содержатся, и эти эксперименты ставятся. Многие организации и институты это понимают и пытаются решить проблему своими силами или локальными способами, устанавливая «чистые» зоны и барьерное технологическое оборудование. Иногда это, действительно, помогает и хоть как-то поднимает качество воздуха до минимально приемлемого, но как правило, без конструктивных решений и грамотной технологической проработки планировки вивария данную проблему решить невозможно. Можно сделать каждое помещение чистым, но если в один коридор выходят двери манипуляционной или помещения для содержания чистых животных, а напротив, в этом же коридоре, находится помещение карантина или содержания для зараженных животных, то риски перекрестной контаминации всегда будут присутствовать.

Оптимальным решением станут разработка концептуального проекта и обращение в специализированную компанию, которая имеет профессиональный опыт в проектировании «чистых» помещений, а главное — вивариев и лабораторных центров.

В идеале, если эта компания давно присутствует на рынке и занимается не только проектированием, но и выполняет строительно-монтажные работы, проводит валидацию проекта и квалификацию помещений и оборудования, как, например, компания ИНПРЕН, которая не только разрабатывает концептуальные проектные решения, но производит и оснащает высокотехнологичным лабораторным оборудованием собственного российского производства, что становится крайне актуально в условиях геополитической обстановки, когда биологическая безопасность является приоритетным направлением.

При таком комплексном решении исполнителю невозможно разделить или переложить ответственность перед заказчиком на кого-то еще (как это происходит, когда этапы проектно-строительных работ делятся между разными компаниями): за все будет отвечать одна единственная компания, при этом она сама в первую очередь будет заинтересована выполнить проект и реализовать его на высоком уровне качества и в соответствии со всеми законодательными нормами и требованиями.

Вернемся к вопросу организации воздухообмена и нормативных требований к нему. В докладе сделан акцент на необходимости детальной проработки технического задания на системы ОВиК и получения максимально полного объема информации от заказчика. Для успешной реализации необходим тесный контакт всех заинтересованных лиц — заказчика, проектировщиков, технологов, сотрудников вивария, производителей оборудования, строителей и монтажников. Только совместная, коллективная работа приведет к взвешенным, обдуманым с каждой стороны решениям.

В частности, задание на системы ОВиК формируется согласно протекающим технологическим процессам:

- обозначаются нормы и требования к документации (ГОСТы, СП, СНИПы);
- прописывается объем проектной документации согласно стадии проекта;
- указываются параметры вентиляционного оборудования (марка и аналоги, так называемый Vendor/brand list);
- прописываются параметры микроклимата для каждой группы помещений;
- определяются параметры теплоносителей, их источник, место ввода в здание;
- прописываются необходимость охлаждения воздуха, его тип;
- определяется место размещения вентиляционного оборудования;
- прописываются все требования к материалам, вентиляционным установкам и прочим элементам систем ОВиК (гигиеническое исполнение, марка стали и т. п.);
- определяется метод поддержания заданного расхода воздуха (как и посредством чего будет происходить регулировка систем ОВиК);
- составляется схема управления системами вентиляции, автоматизации систем ОВиК;
- проводится резервирование систем ОВиК.

Таким образом, проектировщик ОВиК получает от заказчика следующую информацию:

- архитектурные планы и разрезы (с экспликацией помещений, размерами, указанием площадей, категорий по взрывопожарной опасности);
- технологические решения и планы с расстановкой оборудования, классификацией помещений [с указанием классов чистоты (ГОСТ ИСО 14644–1)], планы потоков персонала, животных, материалов, отходов;
- количество персонала в помещениях, их рабочие места, график работы;
- количество, тип животных и место размещения;
- вредные вещества, их концентрация, возможные выбросы в помещение;
- оборудование и теплоступление от него (или его мощность);
- заданные параметры микроклимата с учетом технологической части;
- список поставщиков оборудования.

Проектировщик должен в свою очередь учесть все обязательные нормы и стандарты РФ, предусмотреть грамотную планировку вивария, исключаящую неправильные перетоки воздуха и распространение загрязнений, применить надлежащие строительные материалы для оборудования, помещения, инженерных систем; оптимально расположить технологические коммуникации, организовать грамотную подачу и удаление воздуха в каждом помещении (воздух внутри классифицированных помещений движется от чистых зон к менее чистым), сбалансировать систему.

Инженер должен озадачиться созданием эффективного обтекания воздухом контролируемой зоны (движение воздуха должно гарантировать, что в случае чрезвычайных происшествий не образуется зон с высокими концентрациями загрязнений), организовать положительный перепад давления по отношению к окружающим зонам более низкого класса чистоты и соответствующий поток воздуха, его скорость, установить системы аварийного оповещения об отказе системы подготовки воздуха, выполнить резервирование электродвигателя приточно-вытяжных установок для критичных систем, установить в классифицируемых помещениях датчики температуры, влажности, перепада давления между помещениями (где это критично), прописать требования, касающиеся обслуживания системы, замены фильтров, проверки обеспечения заданного расхода воздуха и т. д.

На первый взгляд может казаться, что организовать воздухообмен в вивариях несложно и достаточно обратиться к нормативной литературе, смонтировать сеть воздуховодов и подключить их к вентилятору. Так может показаться только человеку, не знакомому с принципами организации чистых помещений, технологией и тонкостями содержания лабораторных животных. Порой, очень непросто выполнить перепланировку, реконструкцию или возвести новое здание в стесненных условиях, как это часто бывает на практике.

Другим параметром содержания, который в отличие от вентиляции часто остается за пределами внимания большинства сотрудников, является вода для поения лабораторных животных. Техническое состояние водопроводных коммуникаций во многих организациях оставляет желать лучшего, а региональная специфика водопроводной воды не позволяет и близко соответствовать международным нормативам. Ветеринарный врач АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» Елизавета Александровна Снижко в своем докладе [«Поение лабораторных животных. Как избавиться от скры-](#)

той угрозы?» рассказала о важности безопасного поения. Елизавета Александровна сообщила об использовании раствора бензоата натрия и соляной кислоты в качестве консерванта для очистки воды.

Качественная вода для лабораторных животных — важный аспект обеспечения их здоровья и благополучия, а также соблюдения санитарных требований в научных исследованиях. Правильное поение способствует поддержанию физиологического состояния животных, предотвращает развитие заболеваний и обеспечивает достоверность экспериментальных данных.

Обычно лабораторным грызунам предоставляется питьевая вода, но при ее потреблении животными из поилок качество воды падает уже на 1-е сутки. Данный факт скорее всего связан с копрофагией у грызунов и дальнейшим контаминированием воды при ее потреблении из носика поилки. Сохранить микробиологические характеристики воды и увеличить интервал замены поилок позволит применение консервантов, при этом крайне важно убедиться в безопасности применяемых для этих целей веществ.

В качестве консерванта автором была выбрана комбинация 0,005% раствора бензоата натрия и 1М раствора соляной кислоты. Чтобы оценить безопасность применения данных консервантов было проведено исследование по репродуктивной токсичности. В ходе исследования крысы, получавшие воду с консервантом, были помещены в цикл содержания «садка» для получения потомства. Далее были проведены оценка репродуктивных свойств самок, потребления корма и воды, развития потомства, кроме того, двукратное исследование в возрасте 3 и 6 мес крови, мочи, сердечно-сосудистой системы, а также патолого-анатомическое исследование. В ходе оценки развития потомства выполнены следующие манипуляции:

1. Оценка физического развития — регистрировалось отлипание ушной раковины, появление первичного шерстного покрова, прорезывание резцов, открытие глаз, опускание семенников, открытие влагалища и масса тела.
2. Изучение скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов — маятниковый рефлекс, переворачивание в свободном падении, избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом, мышечная сила, реакция на акустический стимул, зрачковый рефлекс, обонятельная реакция.
3. Оценка поведенческих особенностей потомства — тест открытого поля не только для детенышей, но и для половозрелых крыс.

Полученные результаты проведенных тестов согласовывались с референсными интервалами.

Раствор бензоата натрия и соляной кислоты не влияет на вкусовые качества воды, потребление корма, общее клиническое состояние, физиологические показатели и фертильность половозрелых крыс, а также на рост и развитие потомства до 6 мес.

Исходя из проведенного исследования можно заключить, что использование раствора бензоата натрия и соляной кислоты в качестве консерванта для воды позволяет продлить срок ее службы без влияния на организм лабораторных крыс и может быть рекомендовано к применению. Добавление 0,005% раствора бензоата натрия и 1М раствора соляной кислоты продлевает срок годности воды до 7 дней, а также подавляет рост *E. coli*.

Несмотря на то что правила содержания лабораторных животных на сегодня хорошо известны и широко транслируются, в том числе группой Rus-LASA на различных конференциях, бытует мнение, что для многих наших организаций стандартизация условий содержания недостижима. Институтские виварии часто остаются в серой зоне, потому что «золотой стандарт» содержания кажется некоторым настолько далеким, что в стремлении к нему просто опускаются руки. Более того, сегодня многие виварии, такие как Центр генетических коллекций лабораторных животных (ЦГКЛЖ) ННГУ им. Н. И. Лобачевского, столкнулись с сокращением бюджета и начинают искать новые способы финансирования. При этом очень важно, чтобы выход таких вивариев на рынок продажи животных и услуг не нанес урон колониям лабораторных животных в России и качеству исследований.

В своем докладе «Будни и перспективы ЦГКЛЖ ННГУ им. Н.И. Лобачевского» младший научный сотрудник ННГУ им. Н.И. Лобачевского Ангелина Олеговна Кустова поделилась своим опытом карьерного роста и развития в условиях университета в Нижнем Новгороде.

ЦГКЛЖ — это отдельное здание, которое было спроектировано и построено для вивария с исследовательскими лабораториями. ЦГКЛЖ изначально был предназначен для внутренних исследований в области нейробиологии, поэтому в нем всегда были линии животных для исследований ЦНС и стандартный виварий для SPF-животных. Однако позже появилась необходимость содержания и конвенциональных животных для упрощения доступа студентов к мышам.

Виварии в стенах университета часто организованы на очень ограниченном пространстве и имеют весьма незначительное финансирование, как правило, в таких учреждениях все держится на энтузиазме исследователей, и потому часто во время работы не соблюдаются многие правила.

1. Основной пул сотрудников — подрабатывающие студенты. Такие кадры приходится обучать с нуля, а при увеличении научной нагрузки из вивария они уходят.
2. Выстраивание границ и зоны ответственности. Контролировать поведение исследователей можно только через их научных руководителей, что требует особой настойчивости.
3. Абсолютно нет ответственных лиц внутри университета, кто был бы заинтересован в качестве инфраструктуры. Перепады напряжения, жесткая вода — это проблемы, с которыми сталкиваются многие институты.

Особенности сотрудничества с высшим учебным заведением вынуждают пренебрегать многими правилами, сложно дисциплинировать сотрудников. Однако пока виварий покрывает только внутренние потребности в животных, при этом все же получается организовать условия так, чтобы мыши чувствовали себя комфортно.

Однако, к сожалению, согласно современным гуманистическим идеям, в мире получила широкое распространение тенденция *phasing out animal testing*, в связи с чем в университете было предложено закрыть виварий. Поэтому было решено оставить виварий на самообеспечении, и перед сотрудниками встал вопрос о том, как существовать дальше. Для того, чтобы найти выход из создавшегося положения, сотрудники обратили внимание на источники дохода, связанные с научно-исследовательскими работами, коммерческими исследованиями и продажей животных

в больших объемах. Однако вместе с этим возникли и новые проблемы: помимо увеличения популяции, надо было учитывать и меняющийся спрос на ту или иную линию животных. Например, сегодня популярна линия 5xFAD, но только ее разведение начинает покрывать все потребности вивария, как популярность падает, и увеличиваются заказы на линию Valb/C.

Рост количества колоний повлек за собой организационные трудности, увеличилась нагрузка на сотрудников, потребность в стабильных квалифицированных кадрах. Кроме того, сотрудники столкнулись с новой для себя бюрократической проблемой.

Для решения возникших задач были необходимы глобальные изменения в деятельности вивария.

В первое время было непонятно с чего начать: для повышения качества нужны средства, но чтобы увеличить финансирование, нужен качественный виварий — образуется замкнутый круг. Очень не хватало в свободном доступе понятной и структурированной информации, от чего можно было бы отталкиваться. Правил и стандартов много, они все важны, но было необходимо расставить приоритеты. На первое место было поставлено благополучие животных, на второе — сотрудников, далее следовали технические моменты. Процесс реорганизации начали с изменений, не требовавших финансовых затрат: сделали перестановку в комнатах конвенции, прописали и ввели режимы дезинфекции и необходимые журналы.

Во-вторых, сократили доступ к животным для исследователей: в конвенции выделили одну комнату из трех для содержания экспериментальных животных с доступом для исследователей. В двух других размещаются мыши для разведения, они контактируют только с зоолаборантами, которые работают каждый в своей комнате и не выходят в другие.

Также ввели систему допуска в здание: новые исследователи приносят заявление, подписанное их научным руководителем. В заявлении указываются используемые помещения, линия и количество мышей, цели работы и сроки. Для выдачи пропуска составляется четкий инструктаж, который проходит каждый новый исследователь. Более того, исследователи дублируют в журналах, на карточках и клетках сроки эксперимента, а также свои контактные данные. Эти меры в значительной степени дисциплинируют исследователей.

Далее все линии животных были редеривированы в SPF для защиты коллекции от инфекций.

В настоящее время виварий сотрудничает со многими сторонними организациями, выполняет НИР, а также поставляет животных в больших объемах.

Кроме того, были модернизированы потоки конвенционального вивария. Хотя идеальных, не пересекающихся потоков пока нет, все же удалось максимально развести их в пространстве и времени.

Во-первых, перенесены моечный блок и зона отходов, что дало возможность максимально удалить их от комнат содержания.

Транспортировка мышей в исследовательские комнаты или другое здание осуществляется в контейнерах-матрешках: переноска с мышами помещается в «коридорные» или «уличные» контейнеры, которые не вносятся в жилые и исследовательские комнаты.

Далее планируется перенести оставшиеся исследовательские помещения на другой этаж, чтобы организовать полноценный моечно-стерилизационный блок.

Сейчас виварий значительно изменился в лучшую сторону, стал больше и продолжает увеличивать и расширять свои возможности.

Нынешнее положение все еще довольно сложное, нет достаточных средств, чтобы продолжить дальнейшие преобразования, но тем не менее прослеживается и положительная динамика, при этом не поступало жалоб на качество животных, чем мы в настоящее время можем гордиться. Кроме того, есть возможность повышать квалификацию кадров и тем самым стимулировать их на долгосрочное сотрудничество. Появилось четкое понимание, что затраты на виварий — это инвестиция.

НИР сильно расширили арсенал полученных навыков, сотрудникам не только импонирует разнообразие деятельности, но и приносит удовлетворение дополнительный доход от этой работы.

Самое главное и трудное — расставить приоритеты и понять, с чего начать, несмотря на ограниченные условия. Да, многое сделать и все изменить не получится, однако все равно надо стремиться соблюдать нормы и правила. Автор очень надеется, что при поддержке Rus-LASA у многих появится возможность адаптировать рекомендации для вивариев при вузах и вывести их наконец из серой зоны.

Организация разведения лабораторных животных как SPF, так и конвенциональных, сопряжена с большим количеством трудностей. Если работа с лабораторными грызунами (мышами и крысами) и организация условий их содержания широко известны, при этом есть большое количество не только теоретических источников, но и практикующих специалистов, готовых поделиться опытом, то деятельность, связанная с другими видами животных, имеет много неясных моментов.

Опытом содержания и разведения животных в докладе [«Содержание и разведение лабораторных кроликов SPF-категории для биомедицинских исследований и доклинических испытаний»](#) поделился старший научный сотрудник ГНЦ ИБХ РАН Александр Сергеевич Чернов. Кролики являются одним из наиболее часто используемых видов лабораторных животных в медико-биологических исследованиях и доклинических испытаниях. На кроликах разработано множество экспериментальных моделей различных заболеваний человека. Кролики имеют ряд преимуществ перед другими животными, в первую очередь это более крупные размеры, относительная простота и низкая стоимость содержания, высокая репродуктивная способность. Кроликов широко применяют в области изучения физиологии сердечно-сосудистой, опорно-двигательной и пищеварительной систем. Они остаются одной из наиболее часто применяемых моделей в офтальмологии.

Лабораторных кроликов используют для проведения некоторых обязательных тестов по безопасности и специфической активности, в частности, для оценки раздражающего действия веществ. Эти животные широко используются в токсикологических испытаниях, для оценки безопасности субстанций и лекарственных препаратов; в иммунологических — при продуцировании диагностических антител и рекомбинантных белков.

Как известно, лабораторные животные могут быть носителями различных вирусных, бактериальных, паразитарных и грибковых агентов. Зачастую эти микро-

организмы не вызывают явных клинических признаков заболевания, однако могут влиять на физиологию животного, что делает его непригодным для многих экспериментальных задач. Исследователи при планировании эксперимента должны знать о подобном влиянии инфекционных агентов и использовать животных соответствующего статуса здоровья, так называемой SPF-категории, когда проводят мониторинг здоровья животных по установленному списку патогенов. В связи с отсутствием в России рекомендуемого к проверке списка патогенов для лабораторных кроликов испытательные центры в основном ориентируются на международные рекомендации, в частности, FELASA, 2014.

В РФ традиционно для биомедицинских исследований используются породы кроликов советская шиншилла, новозеландская белая, калифорнийская, а также беспородные кролики из фермерских хозяйств. Необходимо отметить, что в настоящее время все кролики имеют конвенциональный статус. Им проводится обязательная вакцинация от вирусной геморрагической болезни и миксоматоза, кроме того, выполняется ежеквартальная дегельминтизация и обработка против экто- и эндопаразитов. Таким образом, на выходе получают иммунологически и физиологически модифицированные животные, которые не могут быть использованы для проведения биомедицинских и доклинических исследований по стандартам GLP.

Лабораторные кролики стока New Zealand White (NZW) были завезены в НПП «Питомник лабораторных животных» филиала ГНЦ ИБХ РАН в 2018 г. из израильского питомника ENVIGO. Все животные имели сертификат здоровья об отсутствии инфекционных агентов согласно перечню FELASA (2014) для кроликов. Технология содержания и разведения лабораторных кроликов в условиях питомника была разработана самостоятельно, за основу была взята информация из Руководства по лабораторным кроликам (Сухов, 2012).

Для ежедневного кормления используется автоклавированный гранулированный корм для содержания и разведения лабораторных кроликов «Чара». В качестве пищевых добавок применяются зерновой премикс и сено. Кролики очень чувствительны к качеству воды, поэтому замена поильных бутылок с водой выполняется ежедневно. Поскольку кролики содержатся на искусственном рационе, лишенном сочных кормов, для поддержания нормального физиологического состояния и сохранения длительного периода фертильности ежемесячно кроликам назначаются инъекционные и пероральные комплексные витамины (А, В, С, D, Е).

Важным аспектом при разведении кроликов является поддержание комфортной температуры и влажности помещения, в котором они размещаются. Выход за пределы зоны комфорта может приводить к развитию дистресса у животных с последующей гибелью. В чистых барьерных помещениях, где содержатся кролики, непрерывно поддерживается температура в диапазоне от 18 до 21 °С, влажность от 40 до 60%. Кратность воздухообмена составляет 10–15 объемов/ч. Световой режим день—ночь (12:12).

При содержании в неволе кроликам необходимо предоставлять достаточно пространства. Руководствуясь требованиями AAALACi, одному кролику массой 3–5 кг необходимо предоставить клетку с площадью пола не менее 4200 см². Высота клетки должна быть не менее 40 см. Материал клеток должен быть устойчивым к коррозии, выдерживать большую массу тела животного и многократную дезинфекцию

и стерилизацию. Для успешного содержания кроликов и улучшения их благополучия, особенно при одиночном размещении, требуется уделять особое внимание элементам обогащения среды (игрушки, домики, полки, палочки и др.).

Рутинные процедуры по взвешиванию, осмотру, стрижке когтей и подрезанию зубов проводят специально обученные лаборанты. При бережном и правильном уходе кролики быстро привыкают к процедурам и не доставляют неудобств. Кролик — это крупное животное, и в отличие от мышей и крыс необходимо маркировать каждую особь. Индивидуальные номера наносят на внутреннюю поверхность ушной раковины при помощи татуировочных щипцов. В индивидуальном номере закодирована информация о поле, возрасте и групповой принадлежности животного.

Как известно, условия содержания и кормления лабораторных животных могут значительно отличаться в разных питомниках. В связи с этим была проведена масштабная работа по изучению скорости набора массы тела кроликами в НПП «Питомник лабораторных животных», и построена кривая роста для условий питомника.

С момента получения и по настоящее время проводится регулярный мониторинг здоровья кроликов NZW в сторонних аккредитованных организациях. Два раза в год выполняются серологические, бактериологические, гистологические и паразитологические исследования. За 7 лет содержания и разведения лабораторных кроликов NZW в условиях НПП «Питомник лабораторных животных» удалось сохранить исходный SPF-статус животных как и у полученных из европейского питомника в 2018 г.

Разведение кроликов NZW предполагает использование аутбредной системы скрещивания особей. Ввиду малой выборки бридеров высока вероятность проявления различных аномалий развития (вислоухость, нарушение прикуса и опорно-двигательного аппарата, патологии желудочно-кишечного тракта и др.). Выявленные в ходе клинического осмотра животные с аномалиями развития подвергаются эвтаназии. Руководствуясь рекомендациями AVMA (2021) по эвтаназии животных, взрослых лабораторных кроликов подвергают этой процедуре в CO₂-камере с высоким содержанием углекислого газа с предварительной седацией.

В заключение еще раз необходимо акцентировать внимание на том, что при планировании эксперимента важно знать статус здоровья животных, используемых в эксперименте, чтобы получать надежные и воспроизводимые результаты.

Как мы видим, кролики обладают некоторыми преимуществами перед «классическими» грызунами, при этом имеют не только отдельную специфику, но и различные требования как к инфраструктуре, так и специалистам, работающим с ними. И чем выше мы поднимаемся по уровню организации животных, и значительнее их трансляционный потенциал, тем сложнее работа с ними.

Одним из «чемпионов» по трансляционности, бесспорно, являются карликовые свиньи. Об особенностях работы с этими животными в докладе [«Лабораторное животноводство карликовых свиней»](#) рассказал Станислав Олегович Хан, лаборант-исследователь участка Лабораторные карликовые свиньи АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ».

Лабораторное животноводство карликовых свиней — это важная область науки, обеспечивающая фундамент для биомедицинских исследований. Карликовые свиньи благодаря своим биологическим особенностям представляют уникальную модель для изучения различных заболеваний, разработки лекарств и оценки безопасности новых биомедицинских продуктов.

Одной из основных пород карликовых свиней является вьетнамская вислобрюхая. Эта порода адаптирована к лабораторным условиям и характеризуется компактными размерами.

Для карликовых свиней важно правильно организовать место для отдыха, которое в зависимости от массы тела может составлять от 2 м². Приведем один пример: помещение разделяется перегородками на 4 клетки по 5 м², при этом стоит учитывать, что покрытия и материал перегородок должны легко дезинфицироваться и быть надежными.

Однако, помимо площади и перегородок помещения, не стоит забывать про полы: они не должны быть скользкими и легко разрушаться.

Также необходимо соблюдать абиотические факторы, такие как температура и влажность воздуха. Еще необходимо обеспечить освещение помещения в случаях, когда естественный свет не обеспечивает необходимый цикл светлого/темного времени суток, предусмотреть контролируемое искусственное освещение, удовлетворяющее биологические потребности животных и обеспечивающее приемлемые условия рабочей среды. Уровень освещенности должен быть достаточным для ухода за животными и их осмотра. Следует установить четкую периодичность светового дня и интенсивность освещения, соответствующую видовым особенностям, а также избегать их нарушения. Рекомендуемый цикл день—ночь (12:12).

В организации для каждого вида животных должны быть разработаны рационы питания, на основании которых осуществляется кормление. Содержание рациона составляет зоотехник с учетом суточных норм питательных веществ для каждого вида животных в соответствии с их жизненным циклом. Приготовление корма и докорм осуществляются на кормокухне в соответствии с технологией приготовления. Работы на кормокухне регламентированы инструкциями. Технологии приготовления также разрабатывает зоотехник по содержанию на основании рациона кормления.

Фундаментом всех исследований с использованием лабораторных животных является удовлетворение базовых потребностей любого живого организма. Для обеспечения удовлетворительного содержания животных на участке трудятся зоолаборанты. В их обязанности входит проведение уборки, генеральной уборки и дезинфекции боксов содержания, а также кормление животных.

Большинство манипуляций с животными осуществляют лаборанты-исследователи. Данные сотрудники имеют опыт проведения всех необходимых способов введения и отбора биологического материала.

Также в обязанности лаборантов-исследователей входит проведение санитарно-гигиенических мероприятий. Эти действия у карликовых свиней включают мытьё специальным шампунем, очищение глаз и ушей лосьонами и подрезание копытцев.

Лечебно-профилактические мероприятия проводят ветеринарные врачи, ветеринарные фельдшеры и лаборанты-исследователи, они включают дегельминтизацию и обработку от эктопаразитов.

Также осуществляется мониторинг здоровья животных, включающий биохимический и общий анализы крови, исследование соскобов кожи (на наличие эктопаразитов), паразитологическое исследование кала (на гельминтов), а также ежедневное наблюдение за клиническим состоянием животных.

Каждый участок содержания животных курирует ветеринарный врач, который составляет ежегодные планы лечебно-профилактических мероприятий и санитарно-гигиенического мониторинга, контролирует их выполнение, назначает терапию в случае заболевания животных, следит за проведением научно-исследовательской работы с участием животных и, самое главное, контролирует гуманное отношение к животным.

Таким образом, лабораторное животноводство карликовых свиней — это сложная, но перспективная область, требующая слаженной работы специалистов различного профиля и строгого соблюдения всех установленных норм и правил. Успешная реализация всех компонентов системы содержания позволяет получать достоверные результаты исследований и способствует развитию биомедицины в целом.

Другим видом, активно набирающим популярность в последние годы, является *Danio rerio*, также известная как zebrafish. При поиске публикаций на площадке PubMed по ключевому слову «zebrafish» в 2010 г. было 1895 публикаций, в 2013 г. — 2725, в 2017 г. — 3373, а в 2024 г. — 4948. Тем не менее, несмотря на растущее количество исследований, столь общепринятых стандартов содержания как у лабораторных грызунов для данных рыбок до сих пор не выработано.

В докладе «[Надлежащая практика и кризис-менеджмент в виварии водных организмов](#)» специалист Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России Илья Алексеевич Махнин представил рекомендации для конвенциональных вивариев водных организмов.

Представленные ниже рекомендации справедливы для конвенциональных вивариев водных организмов. Уровень биологической безопасности ABSL-1 (работа с патогенами не предусмотрена).

Ветеринарное обеспечение: при приемке животных проводятся проверка ветеринарных сопроводительных документов и первичный клинический осмотр с отбраковкой особей с выраженными признаками неблагополучия. Поступившие животные размещаются в зоне карантина [1]. Рыбы выдерживаются на карантине 14–30 сут, после чего используются для получения икры. Эмбрионы промываются и инкубируются в термостате при температуре 28,5 °С. Личинки 5 dpf (days post fertilization) могут быть перемещены в основное помещение содержания рыб. Допускается использование в экспериментах взрослых особей после карантина.

Рутинное наблюдение за животными осуществляется ежедневно. При проведении клинического осмотра рекомендуется оценивать упитанность рыб [2]. В случае выявления признаков заболевания предусмотрено проведение внепланового клинического осмотра. Животные, проявляющие признаки заболеваний, не указанные в протоколе исследования, изолируются [3]. По достижении животными так называемых конечных гуманных точек может быть принято решение об эвтаназии с последующим патоморфологическим исследованием или без такового. При работе с *Danio rerio* необходимо учитывать следующие конечные гуманные точки: признаки инфекционных и инвазионных заболеваний, травмы (за исключением травм, предусмотренных экспериментом), деформации осевого и периферического скелета, стойкие изменения двигательной активности и пищевого

поведения. Эвтаназию рекомендуется проводить, используя передозировку анестетика (например, трикаин) или переохлаждение [4].

Условия содержания [5]:

- температура воды: 27–28 °С (развитие эмбрионов происходит при температуре 28,5 °С); рН 7,0–7,5 (допускаются колебания с 6,5 до 8,5); электропроводность воды составляет 750 мкСм/см (допускаются колебания с 650 до 850 мкСм/см);
- влажность воздуха: 30–70% (учет с помощью термогигрометров);
- освещенность: 54–324 лк;
- автоматически регулируемый световой режим (14 ч свет/10 ч темнота);
- плотность посадки взрослых особей: 5–8 рыб на 1 л воды;
- рутинный контроль качества воды допустимо проводить с помощью экспресс-тестов для определения качества воды;
- обязателен контроль показателей воды (температура, рН, электропроводность) и микроклимата.

При использовании необходимы разработка и утверждение стандартных условий содержания животных в вивариях водных организмов.

Кормление [6, 7]: рекомендуем применять натуральные корма (культуры *Paramecium caudatum* и *Artemia salina*) и готовые смеси (например, Tetra, Sera, JBL).

Режим кормления: взрослые особи (половозрелые) — 2 раза в сутки; мальки (от 14 до 60 сут) — 3 раза в сутки; личинки (от 5 до 14 сут) — 3–4 раза в сутки.

Рекомендуем разработку стандартных планов кормления рыб для каждой возрастной группы.

Обработка аквариумов: замена аквариумов проводится каждые 7–10 дней. После пересадки рыб в новый аквариум старый разбирается (резервуар, перегородка, крышка, сифон и магистраль) и моется. Сроки обработки аквариумов могут меняться в зависимости от типов систем содержания, используемых в виварии.

Перечень контролируемых возбудителей заболеваний [3]: определение возбудителей (табл. 1) проводится с помощью метода ПЦР. В качестве образцов для проведения исследования используются эвтаназированные рыбы, замороженные или подвергнутые спиртовой фиксации.

Управление персоналом: предложенный штат (табл. 2) актуален для больших вивариев водных организмов.

В действительности небольшие виварии водных организмов не требуют искусственного расширения штата.

Контрольные точки вивария водных организмов:

- алгоритм действий в случае чрезвычайных ситуаций;
- регулярная проверка работоспособности оборудования;
- контроль чистоты аквариумов, посуды и баков;
- уход и кормление рыб;
- проверка абиотических параметров воды;
- транспортировка, прием и карантинирование рыбы;
- оценка здоровья рыб;
- эвтаназия;
- утверждение, идентификация и регистрация экспериментов.

Таблица 1

Возбудители заболеваний *Danio rerio*

| Основной список | Расширенный список (сверх основного, актуален для рыб SPF-статуса) |
|-----------------------------------|---|
| <i>Mycobacterium abscessus</i> | <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> |
| <i>Mycobacterium chelonae</i> | <i>Flavobacterium columnare</i> |
| <i>Mycobacterium fortuitum</i> | <i>Infectious spleen & kidney necrosis virus (ISKNV)</i> |
| <i>Mycobacterium haemophilum</i> | <i>Zebrafish picornavirus (ZfPV-1)</i> |
| <i>Mycobacterium marinum</i> | <i>Mycobacterium gordonae</i> |
| <i>Mycobacterium peregrinum</i> | <i>Mycobacterium saopaulense</i> |
| <i>Edwardsiella ictaluri</i> | <i>Myxidium streisingeri</i> |
| <i>Pseudocapillaria tomentosa</i> | <i>Piscinoodinium pillulare</i> |
| <i>Pseudoloma neurophilia</i> | <i>Pleistophora hypheobryconis</i> |

Таблица 2

Штат вивария водных организмов

| Должность | Примерный перечень обязанностей |
|---------------------|---|
| Заведующий виварием | Руководит работой по содержанию животных, разрабатывает планы работы вивария и контролирует их выполнение |
| Ветеринарный врач | Оценивает состояние здоровья животных, обеспечивает адекватные условия содержания, диагностику, лечение, контроль заболеваний и др. |
| Зоотехник | Осуществляет работу по разведению животных, отбору материала для генотипирования, оценке качества потомства |
| Зоолаборант | Осуществляет уход за лабораторными животными в течение их пребывания в виварии |

Необходимая документация для управления вивариями водных организмов:

I. Журналы и чек-листы вивария водных организмов:

1) журнал:

- приготовления растворов для системы содержания рыб;
- контроля температурного режима холодильного оборудования;
- лист ежедневного учета количества поголовья *Danio rerio*;

2) журнал:

- регистрации уборки помещений вивария водных организмов;
- дезинфекции оборудования вивария водных организмов;
- регистрации первичного инструктажа;

- учета использования научными сотрудниками лабораторных животных вивария водных организмов;
- наблюдения за составом и численностью рыб;
- регистрации микроклимата помещений вивария водных организмов;
- рутинных манипуляций и замены аквариумов вивария водных организмов;
- регистрации мойки систем содержания *Danio rerio*;
- учета передачи кормов в виварий водных организмов.

II. *Ежемесячный отчет о движении поголовья:*

- отчет о движении животных и кормов в виварии водных организмов;
- акт о получении приплода;
- акт о падеже;
- акт об эвтаназии;
- перечень проектов, реализуемых на базе вивария водных организмов.

Преимущества ведения документации:

1. Контроль за получением, расходом и падежом рыб.
2. Осознанный заказ кормов исходя из потребностей вивария, а не собственных ощущений.

Таким образом, мы видим примеры содержания самых разных лабораторных животных и активного развития в этой сфере. Современная инфраструктура питомников в совокупности с высококвалифицированным персоналом может обеспечить надлежащие стандарты содержания необходимых видов лабораторных животных.

Здесь следует отметить, что если микробиологическая чистота лабораторных животных и ее важность у всех на слуху, то про генетическую чистоту мы вспоминаем реже. В современной истории науки достаточно примеров, когда исследователи из разных организаций работали с одной линией лабораторных животных и получали различные результаты. Впоследствии выяснялось, что животные поступали из разных питомников, и в них генетический профиль формально одной и той же линии отличался.

Руководитель Центра неклинических испытаний ИЦиГ СО РАН Евгений Леонидович Завьялов в докладе «[Коллекции лабораторных животных. Особенности содержания и разведения](#)» рассказал о современных трендах и специфике работы генетических коллекций лабораторных животных.

Генетические линии лабораторных животных являются ключевыми элементами современных биологических, биомедицинских и фармакологических исследований, направленных на получение новых фундаментальных знаний, расшифровку механизмов формирования заболеваний, поиск терапевтических мишеней и разработку новых лекарственных препаратов. Эта область исследований получила мощнейший импульс к развитию благодаря расшифровке геномов человека и лабораторных животных, а также развитию технологий направленного изменения геномов. В результате этого на стыке биологии и медицины возникла трансляционная биомедицина, основанная на точном знании степени соответствия молекулярно-генетических структур, систем и процессов у экспериментальных животных и человека. Одним из ее высших достижений является создание гуманизированных объектов исследований — генетических моделей патологии человека, у которых

целевые гены животных заменены генами человека. Востребованность нокаутных и трансгенных животных как объектов фундаментальной и прикладной науки доказывается тем, что сегодня создано уже более 200 тыс. генотипов мышей, представленных в виде линий эмбриональных стволовых клеток, а также более 30 тыс. линий мышей, находящихся в разведении или хранящихся в криобанках в форме ранних эмбрионов и гамет.

Для эффективного использования генетического разнообразия лабораторных животных во всех технологически развитых странах созданы центры генетических ресурсов. Старейший и крупнейший из них Джексонская лаборатория (США), послужившая базой для научной работы 26 лауреатов Нобелевской премии по физиологии и медицине (<http://www.jax.org>). Китай, Япония и другие страны Юго-Восточной Азии начали создавать ресурсные центры позже, чем США и Европа, но уже сейчас ресурсы коллекции могут быть размещены не только в одной организации, а быть рассредоточены между разными учреждениями. Объединяющим началом таких коллекций является единая информационная система, которая контролирует движение материалов во всей сети. Примером сетевой коллекции в Азии является японская ресурсная коллекция RIKEN (Тсукуба, Япония), которая насчитывает более 10 тыс. генетических линий лабораторных грызунов. В Европе также реализован сетевой принцип организации генетических коллекций. Европейский архив мутантных мышей — European Mouse Mutant Archive (EMMA) — объединяет несколько криохранилищ, расположенных в разных университетах Европы, с общим координирующим центром в Мюнхене (Германия). Одним из ключевых элементов работы коллекций является криоконсервация эмбрионов и гамет. Эта технология позволяет не только существенно сократить затраты на сохранение фондов, но и поддерживать качество животных, используя генетическую стабилизацию линий и освобождение от патогенов за счет регулярного рестарта колоний. Важнейшим итогом деятельности таких генетических коллекций является обеспечение доступности трансгенных животных для исследователей, что позволило за последние десятилетия обогатить фарминдустрию десятками ранее неизвестных молекулярных мишеней, работы с которыми уже сейчас становятся основой для прорывных исследований в биотехнологии и создания новых фармацевтических препаратов. Таким образом, даже богатые развитые страны предпочитают формировать сетевые коллекции с едиными стандартами работы.

В настоящий момент в РФ существует ряд фондов лабораторных животных, среди которых можно выделить коллекцию лабораторных животных ИЦИГ СО РАН (<https://ckp-rf.ru/ckp/481507>). Здесь в том числе депонируются мыши, которые используются для моделирования механизмов патологии нервной системы, поведения и изучения молекулярных механизмов действия антидепрессантов, анксиолитиков, антипсихотиков и др. На сегодняшний день в РФ только здесь внедрен весь спектр технологий по работе с лабораторными животными от их содержания и разведения до применения репродуктивных технологий и криохранения.

Содержание и разведение лабораторных животных — сложный, комплексный и многофакторный процесс. В отличие от содержания животных в небольших исследовательских вивариях, в ИЦИГ СО РАН к условиям их разведения предъявляются повышенные требования, касающиеся не только содержания, но и персонала. Здесь

следует отметить, что постоянно расширяющийся список различных линий определяет необходимость для любого современного питомника иметь криохранилище эмбрионов и гамет. К сожалению, зачастую вследствие недостаточной информированности, иногда из-за недостатка средств научные организации пытаются самостоятельно разводить лабораторных животных для своих нужд. Чаще всего это приводит к неконтролируемому мутагенезу линии или, иными словами, ее «одичанию». «Размывание» стандартных линий приводит к тому, что каждый институт работает, используя сублинии, и воспроизвести результаты исследований практически невозможно. Дальнейший прогресс в биологии и биомедицине в России будет зависеть от совершенствования специализированных питомников лабораторных животных.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mocho J.P., Collymore C., Farmer S.C. et al. FELASA-AALAS Recommendations for Monitoring and Reporting of Laboratory Fish Diseases and Health Status, with an Emphasis on Zebrafish (*Danio Rerio*) // Comp. Med. 2022. Vol. 72. N. 3. P. 127–148. DOI: [10.30802/AALAS-CM-22-000034](https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-22-000034).
2. Clark T.S., Pandolfo L.M., Marshall C.M. et al. Body Condition Scoring for Adult Zebrafish (*Danio rerio*) // J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 2018. Vol. 57. N. 6. P. 698–702. DOI: [10.30802/AALAS-JAALAS-18-000045](https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-18-000045).
3. Kent M.L., Sanders J.L., Spagnoli S. et al. Review of diseases and health management in zebrafish *Danio rerio* (Hamilton 1822) in research facilities // J. Fish Dis. 2020. Vol. 43. N. 6. P. 637–650. DOI: [10.1111/jfd.13165](https://doi.org/10.1111/jfd.13165).
4. Wilson J.M., Bunte R.M., Carty A.J. Evaluation of rapid cooling and tricaine methanesulfonate (MS222) as methods of euthanasia in zebrafish (*Danio rerio*) // J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 2009. Vol. 48. N. 6. P. 785–789.
5. Kütter T., Barcellos M., Boyle L. et al. Good practices in the rearing and maintenance of zebrafish (*Danio rerio*) in Brazilian laboratories // Ciência Animal Brasileira. 2023. Vol. 24. N. 6. DOI: [10.1590/1809-6891v24e-74134e](https://doi.org/10.1590/1809-6891v24e-74134e).
6. Westerfield M. THE ZEBRAFISH BOOK, 5th Edition. A guide for the laboratory use of zebrafish (*Danio rerio*). Eugene: University of Oregon Press, 2007.
7. Licitra R., Fronte B., Verri T. et al. Zebrafish Feed Intake: A Systematic Review for Standardizing Feeding Management in Laboratory Conditions // Biology (Basel). 2024. Vol. 13. N. 4. P. 209. DOI: [10.3390/biology13040209](https://doi.org/10.3390/biology13040209).

Иммуноферментный анализ в доклинических исследованиях

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-s8>

В.М. Косман¹, М.В. Карлина¹, О.А. Арчакова², И.А. Валув³, И.А. Зелинская⁴, А.В. Иванов⁵,
Т.Н. Комаров², Е.Р. Михайлова⁶, Е.А. Смирягин⁷, Ж.Ю. Устенко¹, Н.М. Фаустова¹,
С.М. Филатова², В.С. Чернышенко¹, Д.С. Щелгачева²

¹ АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,

² ООО «Центр Фармацевтической Аналитики»,

³ ООО «Мабскейл»,

⁴ ФГБУ «НМИЦ им В.А. Алмазова» Минздрава России,

⁵ ООО «Научно-производственный центр Пробиотек»,

⁶ Институт цитологии РАН,

⁷ Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП»

Введение. Принципы и разнообразие методов ИФА

Метод иммуноферментного анализа (ИФА, enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) на слуху у каждого. ИФА — чувствительный и специфичный иммунологический метод, с помощью которого проводят качественное и количественное определение различных веществ (низкомолекулярных соединений, макромолекул, вирусов и др.), способных специфически вступать во взаимодействие «антиген-антитело»¹ (Практическое ..., 2020). В доклинических (ДКИ) и клинических (КИ) исследованиях методы ИФА нашли свое применение в стандартизации лекарственных препаратов, прежде всего биологического происхождения (то есть полученных на основе бактерий, других микроорганизмов, их компонентов; специфических иммуноглобулинов, сывороток или их фракций; клеток тканей животного происхождения или продуктов биотехнологического синтеза) (Косман В.М. и соавт., 2015, Зыбин Д.И. и соавт., 2020, Солдатенкова А.В. и соавт., 2020, Ноздрин Е.В. и соавт., 2024). Также с помощью ИФА-методов решают биоаналитические задачи, связан-

¹ ОФС 1.7.2.0033.15 Иммуноферментный анализ // Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. 2018. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-7/1-7-2/metod-immunofermentnogo-analiza/> (дата обращения 08.2025).

ные с определением аналитов в биоматериале при оценке их фармако- и токсикокинетики (Карлина М.В. и соавт., 2016, Кудряшова А.М. и соавт., 2018, Писарев В.В. и соавт., 2019), анализе биологических маркеров (биомаркеров — ферментов, гормонов и др.) для диагностики заболеваний человека и животных и/или оценки эффективности терапии (Анцилевич Л.М., Ягудина Л.А., 2014, Набиева Ф.С. и соавт., 2021, Москалец О.В., 2022, Конькова А.Ю. и соавт., 2023).

Принцип метода заключается в реакции специфического взаимодействия антигена с антителом с образованием иммунного комплекса и детекции полученного комплекса с использованием меченого ферментом компонента (конъюгата) и соответствующего субстрата для регистрации сигнала. Из-за разнообразия объектов исследования (от низкомолекулярных соединений, пептидных и стероидных гормонов, фармакологических препаратов, пестицидов, до вирусов и бактерий, и даже до других антител), многообразия принципов связывания и условий проведения ИФА существует большое количество вариантов и разновидностей метода. Качественный анализ позволяет получить информацию о содержании антигена или антитела в исследуемом материале по принципу «есть»/«нет», полуколичественный — оценить присутствие аналита в условной шкале, количественный — определить концентрацию антигена или антитела в исследуемом материале (Тараканова Ю.Н., 2019).

В настоящее время создано большое количество различных вариантов проведения ИФА, но единая четкая классификация этих методов в литературе отсутствует. По принципу проведения всех стадий анализа с участием твердой фазы или же только в растворе все методы ИФА можно разделить на две большие группы: 1) гомогенный анализ и 2) гетерогенный анализ, который также подразделяют на несколько типов. Гомогенный ИФА применяют, как правило, для определения низкомолекулярных субстанций; считают более простым в постановке и экспрессным (Храмцов П.В. и соавт., 2020). Иммуноферментные тест-системы, сконструированные по принципу сэндвич-метода, являющегося наиболее распространенным вариантом гетерогенного ИФА, позволяют достигать высокой аналитической чувствительности и специфичности, так как в них распознаются два различных эпитопа белковой молекулы и возможно образование прочных циклических комплексов (Тараканова Ю.Н. и соавт., 2019).

Часто встречается в современной литературе классификация, предложенная в 1991 г. (Егоров А.М. и соавт., 1991) по способу количественной оценки иммунных комплексов антиген-антитело: тип 1 предполагает определение концентрации образовавшихся комплексов (методы являются неконкурентными, гетерогенными и твердофазными одновременно), а тип 2 — оставшихся свободными (то есть не вступивших в реакцию) компонентов (антиген или антитело), несущих ферментную метку, необходимую для детектирования. Методы ИФА 2 типа наиболее разнообразны и могут быть подразделены еще на несколько вариантов, основанных на использовании меченных или иммобилизованных антигенов и антител и определяющих соответствующие схемы анализа. Необходимо отметить, что по мнению (Храмцов П.В. и соавт., 2020) классификация (Егоров А.М. и соавт., 1991) является наиболее глубокой, практически любое пособие, обзор или иной источник приводит классификацию форматов или вариантов ИФА в весьма упрощенном виде, затраги-

вая лишь ключевые их типы. Кроме того, разные авторы классифицируют анализы по-разному, что может приводить к кажущимся противоречиям между различными источниками информации.

Выбор способа постановки ИФА может зависеть от природы аналита и его количества, так как разные виды ИФА обладают различной чувствительностью, а схемы анализа могут быть модифицированы в процессе разработки методики в соответствии с решаемыми задачами. Общими преимуществами ИФА являются высокая аналитическая чувствительность, обусловленная каталитической активностью ферментов и аффинностью антител; специфичность, связанная с наличием многократных отмывок (для твердофазного ИФА); возможность автоматизации анализа (Храмцов П.В. и соавт., 2020, Москалец О.В., 2022).

Общие особенности проведения ИФА

Обсуждая общие условия проведения ИФА, необходимо отметить, что в качестве твердой фазы применяют различные материалы (силикон, нитроцеллюлоза, полиамиды, полистирол, поливинилхлорид, полипропилен, акрил и др.). Твердой фазой могут служить стенки пробирки, 96-луночные и другие планшеты, шарики, бусины, а также нитроцеллюлозные и другие мембраны, активно сорбирующие белки. От выбора твердой фазы зависит принцип иммобилизации (гидрофобное, гидрофильное, ковалентное взаимодействие). Чаще других в качестве твердой фазы используют 96-луночные пластиковые планшеты, которые могут быть прозрачными (колориметрическая детекция) или матовыми (хемилюминесцентная детекция, флуориметрия).

Иммобилизацию необходимо проводить без пузырьков воздуха в лунке, так как их присутствие в последствии изменяет показание оптической плотности. Возможно использование биотинилированных иммобилизованных реагентов с применением в реакции стрептавидина и биотинилированной ферментативной метки, что позволяет усилить сигнал. При проведении реакции важны время и температура иммобилизации, зависящие от природы, стабильности и концентрации реагента. Все стадии иммуноферментного анализа, промывочные и блокирующие растворы, временные промежутки и температурные условия для каждой стадии, интенсивность перемешивания в процессе инкубации на шейкере, условия детекции также должны быть оптимизированы и конкретизированы при описании методики.

Для детекции в качестве ферментной метки наиболее часто используют пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу или галактозидазу. Субстраты для ферментов могут быть хромогенными, хемилюминесцентными и флуоресцентными, что определяет выбор метода и оборудования для детекции аналитического сигнала.

Результаты количественного ИФА рассчитывают по линейной калибровочной кривой (с прямой или обратной регрессией) или с помощью различных математических моделей для анализа полученной кривой, которая часто имеет нелинейный характер (Свежова Н.В. и соавт., 2008). Методика интерпретации результатов зави-

сит от используемого способа постановки ИФА. Можно оценивать концентрацию неизвестного образца, проводить оценку концентрации, вызывающей ингибирование на 50%, определять количество исследуемого вещества или его активность в сравнении с эталонным/калибровочным стандартным образцом. Регистрацию и обработку сигналов обычно проводят с помощью специального оборудования (автоматических планшетных спектрофотометров, люминометров или флуориметров) и программного обеспечения (ПО) к приборам.

Ирина Александровна Зелинская («Иммуноферментный анализ. Битва за стандартное отклонение», ФГБУ «НМИЦ им В.А. Алмазова» Минздрава России) акцентировала внимание на проблемах обработки данных и результатов ИФА. Она отметила четыре источника вариабельности при применении ИФА наборов или реагентов: истинный разброс показателя, погрешности при проведении анализа, погрешности, вносимые при пробоподготовке и погрешности, вносимые реактивами. При планировании эксперимента важно уделить внимание самым различным его аспектам, включая:

- источник антигена и антител (выбор линии животных, процедуры их иммунизации или производителя АТ);
- получение, обработку и хранение биологических образцов, реагентов и материалов, необходимых при выполнении исследования (в том числе, условия и размещение при хранении, применение специальных пробирок с различными антикоагулянтами и консервантами, технологию гомогенизации тканей);
- технологию проведения ИФА анализа (количество этапов анализа, температурный режим, использование роботизированных станций);
- количество повторностей (лунок) для каждого образца и размещение проб в планшете;
- условия промывки планшетов (промывочный буферный раствор, оборудование);
- тип используемого ИФА-метода (прямой, непрямой, сэндвич, конкурентный), поскольку все они могут оказать влияние на характер и воспроизводимость получаемых результатов.

Например, авторы (Chang C.Y. et al., 2019) получили существенно более воспроизводимые результаты обнаружения вируса эпидемической диареи свиней (porcine epidemic diarrhea virus, PEDV) в образцах молозива серонегативных свиноматок (specific pathogen free, SPF) по сравнению с данными для обычных свиноматок, применив созданный ими набор реагентов направленный на определение S-белка PEDV [вирус имеет четыре основных структурных белка — оболочка (E), мембрана (M), спайк (S) и нуклеокапсид (N), которые могут быть мишенями для ИФА определения].

Влияние процедуры пробоподготовки — выбор типа биоматериала (сыворотка или плазма крови), антикоагулянта (гепарин, цитрат, этилендиаминтетраацетат — ЭДТА), разведения образцов и их хранения (–4 °C, –20 °C и –80 °C в течение 1 недели) на результаты измерения сурфактанта протеина D (SP-D) у человека методом ИФА (с использованием реагентов компании R&D Systems, США, приобретенных как комплект) рассмотрено на примере работы (Bratcher P.E., Gaggar A., 2014).

По утверждению авторов, состав буфера, используемого для разведения образцов, оказал некоторое влияние на обнаружение рекомбинантного SP-D, при этом этот эффект различался для буферов различного состава в низких и высоких концентрациях исследуемого белка; тип антикоагулянта и степень разведения образца вносили некоторую вариабельность в получаемые данные, за исключением ЭДТА, при использовании которого наблюдалась значительная вариабельность результатов; а различия в методологиях измерения одного и того же белка (конфигурация ИФА) могут привести к противоречивым результатам.

Сложности сопоставления данных, полученных с применением разных протоколов и регентов, подтвердили результаты (Kinn Rod A.M. et al., 2017) по оценке уровня кортикостерона в сыворотке крыс с использованием четырех наборов различных производителей — методики отличались чувствительностью (0,0186–4,4 нг/мл), кратностью разведения образцов (от 1:1 до 1:100), способностью определять общий кортизол и уровнем получаемых концентраций кортизола при анализе одних и тех же образцов (от около 50 нг/мл до примерно 350 нг/мл).

Вариативность результатов в зависимости от применения в анализе моно- или поликлональных антител, а также значимость выбора источника антител и антигенов, проиллюстрирована на примерах создания ИФА-наборов для выявления простат-специфического антигена (prostate-specific antigen, PSA, Mohseni S. et al., 2019), поверхностного антигена вируса гепатита В (hepatitis B surface antigen, HbsAg; Fatema K. et al., 2014, Ghorbani M. et al., 2023), антител к М-типу рецептора анти-фосфолипазы A2 (antibodies against M-type anti-phospholipase A2 receptor, PLA2R; Kaga H. et al., 2019), антител к возбудителю коклюша *Bordetella pertussis* (Rastawicki W., 2024), специфических IgG и IgM к возбудителю токсоплазмоза *Toxoplasma gondii* (Poshtehban A. et al., 2017). Создание собственных (in-house) ИФА-наборов направлено на потенциальное удешевление анализа, опыт авторов свидетельствует как о возможном получении наборов, не уступающих коммерческим по ключевым характеристикам (чувствительность и др.), так и о сложностях этого пути.

Опираясь на данные (Sanmarco M., 2010), докладчик рассказал о том, каким образом используемые в анализе буферные растворы и пластик (прежде всего, планшеты), могут оказаться критичными для ИФА-методик, на примере публикаций (Rastawicki W., 2024, Khramtsov P. et al., 2025) пояснил ключевые аспекты контроля качества при выполнении ИФА.

Коммерчески доступные реагенты и наборы регентов

Для реализации ИФА в отношении ряда наиболее распространенных целевых аналитов существуют коммерчески доступные реагенты или, чаще, наборы реагентов, снабженные инструкцией производителя о назначении, процедуре выполнения анализа и основных характеристиках методики. Одной из особенностей ИФА является его видоспецифичность, то есть наборы реагентов могут быть применимы для анализа биоматериала только какого-то одного биологического вида.

Наталья Михайловна Фаустова и Вера Михайловна Косман («Применение ИФА наборов реагентов специфичных для человека при анализе биоматериала лабо-

раторных животных», АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») рассмотрели потенциальные возможности применения и варианты адаптации ИФА наборов реагентов, специфичных для человека, при анализе биоматериала лабораторных животных (на примере крыс). Авторы отметили, что ИФА-наборы, предназначенные для клинического определения биомаркеров белковой природы (гормоны, сигнальные молекулы и т.п.) в биоматериале человека, обычно не подходят при исследовании биоматериала животных из-за специфичности антител, иммобилизованных в лунках планшета для детекции требуемого аналита. В таких ситуациях возникает необходимость использования наборов, специфичных для целевого вида животных, или создания методики на основе комплекта антител, специфичных к белкам и гликопептидам этого вида животных. В случаях, когда аналиты представляют собой низкомолекулярные соединения (тестостерон, эстрадиол, кортикостерон, желчные кислоты и др.), ИФА-наборы, разработанные для человека, могут подойти для анализа биоматериала лабораторных животных.

Комплекты реагентов для анализа биоматериала человека более распространены и коммерчески доступны по сравнению с видоспецифичными наборами. Поэтому оценка возможности и адекватности их применения в доклиническом исследовании может упростить решение поставленной аналитической задачи. Вместе с тем в этой ситуации необходима как апробация, так и, возможно, адаптация методики производителя к биоматериалу лабораторных животных.

Показаны примеры использования таких наборов без каких-либо изменений (на примере кортизола), после оптимизации разведения в случае более высоких определяемых уровней аналита (кортикостерон), снижения нижнего предела количественного определения (НПКО) за счет увеличения объема пробы и введения дополнительного калибровочного уровня (тестостерон) или применения метода добавки (эстрадиол) в случае более низких уровней, чем рекомендовано производителем набора реагентов. На примере кардиомаркера миоглобина рассмотрен алгоритм выбора типа биоматериала, позволяющий расширить исходную область применения набора реагентов и унифицировать отбор биоматериала в экспериментальном исследовании, а тропонин I оказался примером непригодности набора для анализа биоматериала крыс.

Предложен алгоритм и схема принятия решений по апробации и адаптации ИФА наборов реагентов специфичных для человека при анализе биоматериала лабораторных животных, включающая четыре ключевых стадии:

- проверка работоспособности набора в условиях конкретной лаборатории;
- оценка применимости набора к анализу биоматериала животных;
- адаптация набора к анализу биоматериала животных (при необходимости);
- валидация (частичная валидация, ревалидация) методики.

Известны также другие примеры применения коммерчески доступных наборов реагентов для определения родственных молекул или более широкого спектра биологических матриц, чем рекомендовано соответствующей инструкцией по применению (Agoram B. et al., 2006, Колочева Т.И., Решетникова С.С., 2008, Карлина М.В. и соавт., 2016, Стрижакова О.М. и соавт., 2016). Таким образом, существуют предпосылки расширения сферы применения коммерчески доступных наборов реагентов

для ИФА по сравнению с исходным их назначением, предусмотренным производителем, но реализации такого приема должна предшествовать его тщательная экспериментальная проверка.

Создание тест-систем и наборов реagens

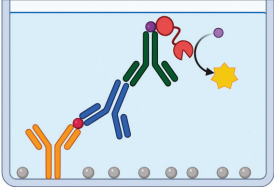
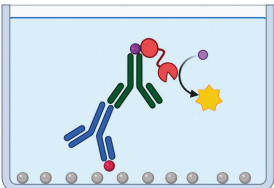
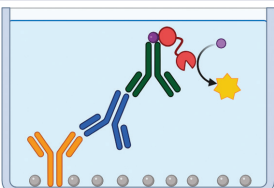
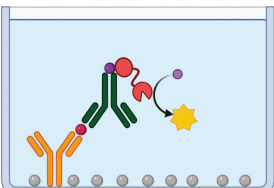
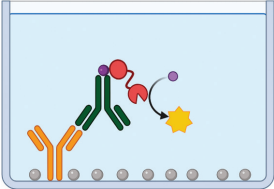
Создание любого нового ИФА-набора или специфичного комплекта антител, который может стать основой методики, включает непростой путь от лабораторного стола до коммерческого продукта (Храмцов П.В. и соавт., 2020). Процесс достаточно длительный и дорогостоящий, но неизбежный, поскольку ассортимент коммерчески доступных реагентов не покрывает все потребности и разнообразие возникающих задач и аналитов, обусловленных как необходимостью диагностики новых или совершенствованием диагностики уже известных заболеваний человека и животных, так и развитием направления биологических препаратов, появлением новых фармакологически активных веществ. Об активной работе в этом направлении свидетельствуют научные публикации (Яковлева А.С. и соавт., 2015, Пьянков С.А. и соавт., 2016, Бьядовская О.П. и соавт., 2017, Печенкин Д.В. и соавт., 2018, Баборенко Е.П. и соавт., 2020).

Елена Радиславовна Михайлова («Иммуноферментный анализ для исследовательских целей: от иммунизации животных до готового набора», Институт цитологии РАН) рассказала о типах ИФА, использовании ИФА в ДКИ, а также общих принципах создания наборов по определению белков в биологических жидкостях (ликвор, сыворотка крови) и кондиционированной среде клеточных линий. Отдельное внимание было уделено общим вопросам от момента иммунизации животных до получения готового набора. Автор отметил ряд проблем, которые могут возникать в ходе работы (высокий уровень фонового сигнала, ложноположительные результаты и др.), и возможные пути их решения (включение в число анализируемых проб всех возможных контрольных образцов, использование антител, полученных от разных животных, использование биотинилированных антител, изменение pH буферных растворов, изменение состава блокирующего буферного раствора). Ключевые проблемы и возможные пути решения представлены в таблице 1.

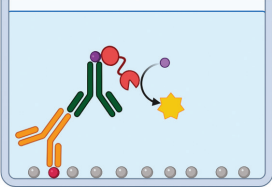
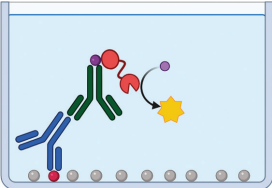
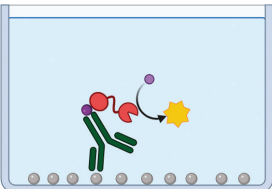
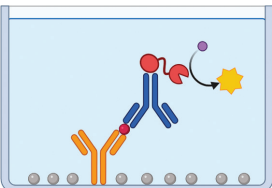
Андрей Владимирович Иванов («Доклинические испытания тест-систем ИФА для определения концентраций целевых препаратов в крови пациентов», ООО «Научно-производственный центр Пробиотек») рассказал про создание и применение тест-систем на основе ИФА для диагностики *in vitro*. Докладчик остановился на вопросах истории целевой терапии, ее роли в лечении ряда онкологических заболеваний (рак молочной железы, миеломы, колоректальный рак, аденокарциномы) и аутоиммунных патологий (ревматоидный артрит, псориаз, анкилозирующий спондилит, или болезнь Бехтерева). Особый акцент был сделан на необходимости коррекции доз и схем введения трастузумаба и аналогичных препаратов в связи с индивидуальными особенностями их фармакогенетики у пациентов. Докладчик отметил преимущества ИФА для рутинной практики клинических лабораторий по количественному мониторингу таких соединений (тра-

Таблица 1


Ключевые проблемы при постановке ИФА, их возможные причины и пути решения

| № | Схема | Норма | Отклонение |
|---|---|--|--|
| 1 |  | <p>Положительный контроль. Используют рабочие антитела и антигены: с ними же строят калибровочную кривую. Сигнал есть и изменяется прямо пропорционально в зависимости от концентрации калибратора</p> | <p>Нет сигнала или сигнал везде одинаковый. Не работает один из компонентов</p> |
| 2 |  | <p>Нет сигнала</p> | <p>Антиген садится на блокирующий белок и есть сигнал. Нужно менять состав раствора блокирующего белка (добавить детергент для дополнительной отрицательной зарядки пластика, увеличить концентрацию BSA)</p> |
| 3 |  | <p>Нет сигнала</p> | <p>Кросс-реакция: детектирующие антитела связываются с улавливающими антителами. Есть сигнал (заменить антитела и подобрать оптимальную пару. Нужно попробовать заменить как улавливающие, так и детектирующие антитела. Выбрать максимально далеких в эволюционном плане животных-хозяев, в которых продуцировать антитела)</p> |
| 4 |  | <p>Нет сигнала</p> | <p>Антитела с меткой распознают антиген и связываются с ним. Есть сигнал (заменить антитела с меткой)</p> |
| 5 |  | <p>Нет сигнала</p> | <p>Кросс-реакция антител с меткой и улавливающих антител. Есть сигнал (заменить улавливающие антитела и антитела с меткой, подобрать пару без кросс-реакции)</p> |


Окончание таблицы 1


| № | Схема | Норма | Отклонение |
|---|--|--|---|
| 6 |  | Прямой ИФА на проверку работоспособности улавливающих антител. Есть сигнал | Нет сигнала (заменить улавливающие антитела) |
| 7 |  | Прямой ИФА на проверку работоспособности детектирующих антител. Есть сигнал | Нет сигнала (заменить детектирующие антитела) |
| 8 |  | Нет сигнала | Антитела с меткой садятся на блокирующий белок. Есть сигнал (заменить антитела с меткой, попробовать добавить детергент в буферный раствор для ИФА для дополнительного отрицательного заряда пластика) |
| 9 |  | Нет сигнала | В отсутствие антител с меткой есть сигнал: испортился ТМВ субстрат (заменить ТМВ субстрат) |


Условные обозначения


 Блокирующий белок (обычно BSA)


 Антиген (белок интереса)

 Улавливающие антитела (обычно поликлональные)

 ТМВ субстрат (3,3',5,5' — тетраметилбензидин)

 Детектирующие антитела (обычно моноклональные)

 Цветной продукт реакции (синий, иногда сине-зеленый дииминный комплекс)

 Антитела с меткой (обычно с пероксидазной)

стузумаб, ритуксимаб, этанерцепт, бевацизумаб) в терапевтических интервалах в крови человека и рассказал о перспективах создания и применения наборов реагентов (тест-систем) для персонализированной фармакокинетики.

Особенности валидации методик ИФА

Валидация аналитической/биоаналитической методики — документальное подтверждение ее пригодности для решения задач, для которых она предназначена. Валидация аналитических методик стандартизации лекарственных средств² и биоаналитических методик, направленных на анализ целевого аналита в биологической матрице³, имеют определенные отличия, обсуждения которых мы касались ранее (Риск-ориентированный..., 2023, Фармацевтическая разработка ..., 2024). Отметим, что отечественные регуляторные документы практически не содержат специфических рекомендаций для методов связывания лиганда (лиганд-связывающих или полимер-связывающих методов, к которым относят ИФА) в отличие от некоторых зарубежных документов⁴.

Ряд аспектов, сложностей и путей решения при разработке, валидации и применении ИФА методик для стандартизации лекарственных препаратов и рутинного контроля по разным показателям, отражающим их количественное содержание, биологическую активность, чистоту, изложены в работах⁵ (Мамаева Т.А. и соавт., 2017, Смолянова Т.И. и соавт., 2022, Тумаев А.В. и соавт., 2024, Волкова Р.А. и соавт., 2024). Подчеркнем сложности, связанные с отсутствием утвержденных стандартных образцов (СО), необходимых для реализации ряда методик ИФА, актуальность их создания, аттестации и производства, а также достаточно строгие

² Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств. Москва: Министерство здравоохранения и социального развития РФ, 2007. 49 с.

Решение Коллегии ЕЭК № 113 «Руководство по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств» от 17.07.18.

ОФС. 1.1.0012 «Валидация аналитических методик» // Государственная фармакопея Российской Федерации. 15-е изд. Москва: Минздрав РФ, 2023. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/validatsiya-analiticheskikh-metodikh/> (дата обращения 08.2025).

³ Решение Совета ЕЭК № 85 «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» от 03.11.16.

ICH M10 on bioanalytical method validation. Scientific guideline. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m10-bioanalytical-method-validation-scientific-guideline> (дата обращения 08.2025).

Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation — Rockville, MD, U.S., 2018. 41 p.

Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009 — London, 2011. 23 p.

⁴ ICH Q2 (R2) Guideline on validation of analytical procedures. EMA/CHMP/ICH/82072/2006. 2023. 33 p. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q2r2-guideline-validation-analytical-procedures-step-5-revision-1_en.pdf (дата обращения 08.2025).

ICH Q14 Guideline on analytical procedure development. EMA/CHMP/ICH/195040/2022. 2023. 44 p. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q14-guideline-analytical-procedure-development-step-5_en.pdf (дата обращения 08.2025).

⁵ Ваганова О.А. Валидация методик биотехнологических лекарственных препаратов. Примеры верных решений и типичных ошибок. <https://www.regmed.ru/upload/iblock/300/yrvtrbkfwq7ub3vdfmrkn1x0pe1pc38y/Vaganova%20O.A.%20Валидация%20методик%20биотехнологических%20лекарственных%20препаратов.pdf> (дата обращения 08.2025).

требования к материалам раздела по стандартным образцам, представляемым в досье на биологические лекарственные средства (Волкова Р.А. и соавт., 2024). По мнению О.А. Ваганова⁶ в подавляющем большинстве случаев биотехнологический лекарственный препарат является одновременно активной фармацевтической субстанцией и стандартным образцом производителя (in house, рабочий стандартный образец, РСО). В целом процедура валидации ИФА-аналитических методик схожа с аналогичной процедурой в отношении иных методов, например, хроматографических, по крайней мере по ряду ключевых параметров (специфичность, линейность и аналитическая область, правильность, прецизионность, стабильность растворов СО/РСО, устойчивость и др.). Однако критерии приемлемости, принятые для методик стандартизации, согласно подходам⁷ (в частности при оценке правильности и прецизионности), могут оказаться неприменимы в связи с особенностями метода ИФА и поэтому обоснованно изменены [например, с позиций общепринятых критериев для биоаналитических методик (Косман В.М. и соавт., 2015)]. Для методик стандартизации по биологической активности, которая может быть выполнена с помощью ИФА, также можно встретить «расширенные» критерии приемлемости (например, коэффициент корреляции калибровочной зависимости r не менее 0,95, правильность до 20%, коэффициент вариации при оценке прецизионности до 25% и др.)⁸.

Пример применения ИФА для стандартизации рассмотрен Егором Антоновичем Смирягиным («Количественное определение гистамина в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах методом иммуноферментного анализа как альтернатива испытаниям *in vivo*», Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП»). Депрессорные (гистаминоподобные) вещества — широкий спектр соединений, вызывающих при внутрисосудистом введении понижение артериального давления, к числу которых относят гистамин [2-(4-имидазолил)этиламин]. Причинами загрязнения лекарственных средств гистамином могут быть нарушение технологического процесса на этапе работы с сырьем (для лекарственных средств, получаемых из тканей и органов животных) или наличие в питательных средах пептона животного происхождения, богатого гистидином (легко превращающегося в гистамин в результате декарбонирования), например, рыбного пептона (для лекарственных средств, получаемых путем ферментации, например, гентамицина сульфата).

Актуальные отечественные регуляторные документы предусматривают биологические испытания на депрессорные вещества (на кошках при постоянной регистра-

⁶ Ваганова О.А. Валидация методик биотехнологических лекарственных препаратов. Примеры верных решений и типичных ошибок. <https://www.regmed.ru/upload/iblock/300/yrvtrbkfwq7ub3vdfmrkn1x0pe1pc38y/Vaganova%20O.A.%20Валидация%20методик%20биотехнологических%20лекарственных%20препаратов.pdf> (дата обращения 08.2025).

⁷ Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств. Москва: Министерство здравоохранения и социального развития РФ, 2007. 49 с

⁸ Ваганова О.А. Валидация методик биотехнологических лекарственных препаратов. Примеры верных решений и типичных ошибок. <https://www.regmed.ru/upload/iblock/300/yrvtrbkfwq7ub3vdfmrkn1x0pe1pc38y/Vaganova%20O.A.%20Валидация%20методик%20биотехнологических%20лекарственных%20препаратов.pdf> (дата обращения 08.2025).

ции артериального давления⁹ для семи субстанций — гепарин натрия, эноксапарин натрия, митомицин, канамицина сульфат, докосурибидин гидрохлорид, даунорубидин гидрохлорид), и на гистамин (на морских свинках с извлечением изолированного органа — подвздошной кишки, и дальнейшей регистрацией его сокращений с помощью специального оборудования¹⁰). Ведущие зарубежные фармакопеи (Американская, Европейская) в последние годы направлены на отказ от биологических испытаний на депрессорные вещества и гистамин и внедрение для этих целей методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) или ИФА¹¹ (Bratos M. et al., 2024). Использование ВЭЖХ для анализа гистамина в случае обращенно-фазового варианта осложнено необходимостью дериватизации (получения химических производных для повышения полярности гистамина и возможности его детектирования с помощью УФ- или флуоресцентных детекторов) и применимо для ограниченного числа веществ. Определить гистамин без проведения дериватизации возможно, используя нормально-фазовую хроматографию и масс-анализаторы, также имеющие определенные ограничения и недостатки.

Вместе с тем известны варианты непрямого неконкурентного гетерогенного (сэндвич) ИФА для определения гистамина как пищевого аллергена в разнообразных продуктах питания, а также непрямого конкурентного гетерогенного ИФА для определения гистамина в биологических объектах (плазме, моче, цельной крови, супернатантах клеточных культур, экстрактах твердых биологических образцах и т.д.¹² (Другова Е.Д., Мягкова М.А., 2016), которые могут быть адаптированы для контроля гистамина в лекарственных средствах (субстанциях и/или препаратах).

Автором предложена процедура оценки содержания примеси гистамина в субстанции апротинин, удовлетворяющая регуляторным документам¹³, и результаты валидации ИФА-методики оценки содержания примеси гистамина в субстанции апротинина (антиферментный препарат, поливалентный ингибитор протеаз, получаемый из органов крупного рогатого скота) с учетом максимально допустимого

⁹ ОФС. 1.1.1.0020 «Испытание на депрессорные вещества // Государственная фармакопея Российской Федерации. 15-е изд. Москва: Минздрав РФ, 2023. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1-1-2/ispytanie-na-depressornye-veshchestva/> (дата обращения 08.2025).

¹⁰ ОФС. 1.1.1.0019 «Испытание на гистамин» // Государственная фармакопея Российской Федерации. 15-е изд. Москва: Минздрав РФ, 2023. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1-1-2/ispytanie-na-gistamin/> (дата обращения 08.2025).

¹¹ United States Pharmacopeia (2022). General Chapter, (426) Histamine Test Method. USP-NF. Rockville, MD: United States Pharmacopeia.

¹² Гистамин. <https://stylab.ru/directory/allergens/histamine/> (дата обращения 08.2025).

ELISA Kit for Histamine (HA). <https://белкиантитела.рф/product/CEA927Ge/> (дата обращения 08.2025).

Histamine Competitive ELISA Kit. <https://www.thermofisher.com/elisa/product/Histamine-Competitive-ELISA-Kit/EEL005> (дата обращения 08.2025).

Histamine ELISA kit. <https://doc.abcam.com/datasheets/active/ab213975/en-us/histamine-elisa-kit-ab213975.pdf> (дата обращения 08.2025).

¹³ ICH Q2 (R2) Guideline on validation of analytical procedures. EMA/CHMP/ICH/82072/2006. 2023. 33 p. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q2r2-guideline-validation-analytical-procedures-step-5-revision-1_en.pdf (дата обращения 08.2025).

Решение Коллегии ЕЭК № 113 «Руководство по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств» от 17.07.18.

уровня примеси (0,2 мкг/5400 КИЕ или 0,2 мкг/3 Ph.Eur.U., где 1 Ph.Eur.U.=1800 КИЕ, калликреинин активирующая единица¹⁴).

Отметим, что представленные материалы являются частью исследований по разработке физико-химических методик контроля депрессорных примесей, проводимых в Российской Федерации, в свете опыта стран, не применяющих испытание на кошках. Вместе с тем, по мнению (Чечетова Е.О. и соавт., 2024), в мире отсутствует единая точка зрения в отношении использования животных в данного рода испытаниях, контроль гистаминоподобных примесей востребован и необходим, поскольку существующие физико-химические методы не позволяют обнаружить в рамках одного эксперимента весь спектр гистаминоподобных примесей, и говорить о полном исключении биологического метода из ГФ РФ преждевременно.

Ключевые документы, касающиеся валидации биоаналитических методик¹⁵, используемых для определения концентраций химических и биологических препаратов и их метаболитов в биологических образцах (кровь, плазма, сыворотка, другие биологические жидкости или ткани), полученных в токсикокинетических исследованиях, фармакокинетических исследованиях и всех этапах клинических испытаний, включая сравнительные исследования биодоступности/биоэквивалентности, отмечают отличия в процедуре в отношении хроматографических методов и методов связывания лиганда, к которым относится ИФА. Практические примеры можно найти в работах (Писарев В.В. и соавт., 2019, Писарев В.В., Иванов А.В., 2023, Писарев В.В., Иванов А.В., 2024, Колганова М.А. и соавт., 2022, Каронова Т. Л. и соавт., 2023).

Игорь Александрович Валуев («Решение ЕЭК № 85, приложение 6: спорные места и мировая регуляторная практика», ООО «Мабскейл») провел анализ спорных или неясных положений в регуляторных документах, касающихся биоаналитических методик, в ЕЭК и в аспекте эволюции европейских регуляторных документов¹⁶. В частности, он пояснил отсутствие в ICH M10 требования о соотношении НПКО и уровня максимальной концентрации аналита (НПКО не должен превышать 5% от минимального значения параметра C_{max} для всей выборки субъектов в исследованиях биоэквивалентности), которое вызывает сложности при разработке и валидации биоаналитической методики. Противоречие заключается в том, что методика, включая ключевой валидационный параметр — НПКО, должна быть финализирована до начала анализа проб, а значения C_{max} для всей выборки субъектов могут быть получены только после его окончания. ICH M10, в отличие от предшествовавших документов, вносит уточнение о том, что при оценке специфичности кроме критерия приемлемости в отношении образцов для контроля качества (КК, для данного

¹⁴ ФС.2.3.0006 Апротинин // Государственная фармакопея Российской Федерации. 15-е изд. Москва: Минздрав РФ, 2023. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/2/2-3-farmatsevticheskie-substancii-zhivotnogo-proiskhozhdeniya/aprotinin/> (дата обращения 08.2025).

01/2011:0580 Aprotinin Ph.Eur. 7.0. <http://www.fptl.ru/biblioteka/farmacop/EP-7.0-2.pdf> (дата обращения 08.2025).

¹⁵ Решение Совета ЕЭК № 85 «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» от 03.11.16.

ICH M10 on bioanalytical method validation. Scientific guideline. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m10-bioanalytical-method-validation-scientific-guideline> (дата обращения 08.2025).

Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation — Rockville, MD, U. S., 2018. 41 p.

Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009 — London, 2011. 23 p.

¹⁶ То же.

валидационного параметра используют образцы на уровне НПКО, результаты должны находиться в пределах 25% от номинальных значений), отклик бланк-проб с внешними сопутствующими (нецелевыми) соединениями должен быть ниже НПКО. Также внесено уточнение в отношении оценки селективности — значения правильности методики должны находиться в пределах 20% (25% при НПКО) от номинальной концентрации в, по меньшей мере, 80% изученных биологических образцов, а также отклик бланк-проб должен быть ниже НПКО не менее, чем в 80% случаев.

Документ также содержит ряд положений, изложенных более ясно по сравнению с предшествовавшими документами, касающихся оценки долгосрочной стабильности аналита и повторного выборочного анализа. Однако некоторые аспекты (уже включенные ранее в обсуждаемые документы или появившиеся впервые) остаются изложенными не однозначно. Например:

- алгоритм (схема) приготовления/анализа образцов для КК с учетом указания п. 4.2.7 ICH M10 («Для каждого уровня концентрации должен быть приготовлен один нефасованный КК. Для каждой испытуемой концентрации нефасованный образец должен быть разделен минимум на три аликвоты, которые будут храниться, подвергаться стрессовым условиям и анализироваться») и нескольких видов стабильности которые необходимо проверить;
- при оценке линейности разведения, параллелизма документы предусматривают разведение образцов холостой матрицей, что не всегда приемлемо в практике ИФА;
- документы предусматривают не менее 6 уровней калибровочных стандартов как для хроматографических, так и для методов связывания лигандов, что во втором случае не всегда реализуемо из-за узкого аналитического диапазона. Допустимо ли уменьшение числа уровней, например, до 5 (частая практика для коммерчески доступных ИФА-наборов);
- некоторые аспекты оценки стабильности в случае комбинированных препаратов или сочетанной терапии;
- зарубежные документы используют термин калибровочная кривая, калибровочный диапазон, калибровочные стандарты, в актуальной версии Решения 85 — использован термин градуировочный; является ли это несоответствием между документами Европейского Союза и ЕЭК и нужно ли в дальнейшем стремиться к единообразию при совершенствовании документов ЕЭК.

В любом случае подобный анализ регуляторных документов чрезвычайно полезен, позволяет выявить спорные места, по итогам обсуждения прийти к единому пониманию и алгоритму выполнения валидационных испытаний, что может быть далее регуляторно закреплено на национальном и/или межгосударственном уровне.

Дана Салаватовна Щелгачева и Ольга Александровна Арчакова («Валидация коммерческих ИФА-систем при проведении исследований фармакокинетики биотехнологических лекарственных средств», ООО «Центр фармацевтической аналитики») поделились практическим опытом проведения валидации биоаналитических методик с использованием готовых коммерческих тест-систем (наборов реагентов) для ИФА, в случае их применения для изучения фармакокинетики действующих веществ лекарственных препаратов, накопленным в период 2022–2025 гг. в отношении не менее 11 различных целевых аналитов (инсулины — аспарт, аспарт двухфазный,

гларгин, глизин, деглудек, лизпро; иммуноглобулин человека; моноклональные антитела — деносумаб, панитумумаб, пембролизумаб; продукты клеточных технологий — тенектеплаза; и др.). Авторы отметили ключевые регуляторные документы¹⁷ и выделили три этапа проведения фармакокинетических исследований биотехнологических лекарственных средств с использованием коммерческих тест-систем.

- Аprobационный этап исследования, в рамках которого выбирают оптимальный вариант готовых коммерческих тест-систем для анализа исследуемой молекулы.
- Валидационный этап исследования, подразумевающий оценку пригодности выбранной тест-системы для анализа исследуемой молекулы в аналитической лаборатории.
- Аналитический этап исследования, заключающийся в анализе биологических образцов, полученных в рамках доклинического или клинического исследования.

Авторы отметили, что согласно регуляторному документу ЕЭК¹⁸ полная валидация методики включает такие параметры, как специфичность, селективность, эффект переноса, минимально необходимое разведение, калибровочная (градуировочная) кривая, правильность и прецизионность, линейность разведения образцов, линейность разведения образцов, параллелизм, стабильность.

С точки зрения докладчиков, при использовании коммерческих тест-систем отсутствует необходимость в проведении полной валидации методики, поскольку ряд валидационных параметров уже оценен самим производителем тест-систем. Поэтому необходимый минимальный перечень валидационных параметров для коммерческих тест-систем согласно регуляторному документу ЕЭК включает в себя оценку правильности, прецизионности и калибровочной (градуировочной) кривой. Дополнительно целесообразно проводить оценку по параметрам, которые ранее не были валидированы производителем набора реагентов (например, линейность разведения образцов, долгосрочная стабильность аналита в матрице). Докладчики отметили, что при внесении любых изменений в последовательность проведения анализа, описанной в инструкции к коммерческим наборам реагентов, методика подлежит полной валидации.

Согласно зарубежным нормативным документам¹⁹ в случае применения коммерческих наборов реагентов необходимо проводить дополнительную оценку специфичности, правильности, прецизионности и стабильности.

Для методов связывания лиганда специфичность основана на концепции перекрестной реактивности. Иными словами, методика не должна обладать перекрестной реактивностью со структурно родственными соединениями, а также молекулами (действующими веществами лекарственных препаратов), входящих в состав сопутствующей терапии при проведении исследования. В качестве примера можно

¹⁷ Решение Совета ЕЭК № 85 «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» от 03.11.16.

ICH M10 on bioanalytical method validation. Scientific guideline. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m10-bioanalytical-method-validation-scientific-guideline> (дата обращения 08.2025).

Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation — Rockville, MD, U.S., 2018. 41 p.

¹⁸ Решение Совета ЕЭК № 85 «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» от 03.11.16.

¹⁹ ICH M10 on bioanalytical method validation. Scientific guideline. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m10-bioanalytical-method-validation-scientific-guideline> (дата обращения 08.2025).

Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation — Rockville, MD, U.S., 2018. 41 p.

рассмотреть фармакокинетическое исследование комбинированного лекарственного препарата, содержащего инсулин деглудек и инсулин аспарт. В рамках проведения валидационных работ необходимо было оценить отсутствие перекрестной реактивности коммерческих наборов реагентов, выбранных для определения инсулина аспарта к инсулину деглудеку, и наоборот (отсутствие перекрестной реактивности коммерческих наборов реагентов, выбранных для определения инсулина деглудека к инсулину аспарту). При отсутствии оценки данного параметра возникает вероятность получения ложных, завышенных концентраций.

Как и в случае хроматографических методик, для ИФА необходимо оценить долгосрочную стабильность аналита в матрице в течение срока, превышающего срок хранения испытуемых образцов в рамках доклинического или клинического исследования (при каждой температуре хранения²⁰ или методом бреккетинга²¹); стабильность при многократной заморозке-разморозке и в условиях пробоподготовки. Объем этих испытаний зависит от информации, включенной производителем в инструкцию к набору реагентов. Так для одного из использованных авторами наборов в инструкции к тест-системам отсутствовала информация о стабильности аналита в матрице в условиях пробоподготовки, о сроках хранения биообразцов при -20°C и в других температурных условиях, при этом в другом случае в инструкции к тест-системам не хватало сведений о стабильности аналита в матрице в условиях пробоподготовки, при многократной заморозке-разморозке и в других температурных режимах (при необходимости их использования). Таким образом, недостаточное количество информации о стабильности биологических образцов может ставить под сомнение результаты проведения биоаналитического исследования в целом.

Важно учитывать, что выбор грамотного подхода к проведению валидации любой биоаналитической методики, включая валидацию коммерческих тест-систем для проведения ИФА, играет ключевую роль в получении достоверных результатов в процессе проведения аналитического этапа исследования, и как следствие, в последующей успешной регистрации лекарственного препарата.

Определенные отличия объема, порядка и процедуры валидации могут быть связаны с применением ИФА методик для анализа иммуногенности исследуемых лекарственных препаратов биологического происхождения²² (Митюшова Е.В. и со-

²⁰ Решение Совета ЕЭК № 85 «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» от 03.11.16.

ICH M10 on bioanalytical method validation. Scientific guideline. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m10-bioanalytical-method-validation-scientific-guideline> (дата обращения 08.2025).

²¹ ICH M10 on bioanalytical method validation. Scientific guideline. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m10-bioanalytical-method-validation-scientific-guideline> (дата обращения 08.2025).

²² Испытание терапевтических белковых препаратов на иммуногенность: разработка и валидация анализов для обнаружения антилекарственных антител. Перевод: PharmAdvisor, версия перевода от 28.11.2020. URL: <https://pharmadvisor.ru/document/tr3919/> (дата обращения: 08.2025).

Решение Совета ЕЭК № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза» от 03.11.2016.

Методические рекомендации «Оценка иммуногенности биотерапевтических препаратов в странах ЕАЭС». 2021. 59 с. <https://www.regmed.ru/science/perechen-ntp/n.2%202021%20MP%20Оценка%20иммуногенности%20биотерапевтических%20препаратов%20в%20странах%20ЕАЭС%202021.pdf> (дата обращения: 08.2025).

авт., 2017, Медведев Ю.В. и соавт., 2020, Елисеева О.А. и соавт., 2022, Колганова М.А. и соавт., 2023, Каронова Т.Л. и соавт., 2023, Авдеева Ж.И. и соавт., 2025), а также для анализа биомаркеров (количественно определяемых биологических параметров, которые как индикаторы определяют норму, патологию или результат лекарственной терапии заболевания). Вера Михайловна Косман и Марина Валерьевна Карлина («Валидация биомаркеров — Что? Где? Когда?», АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») отметили, что в отношении аналитических методик определения биомаркеров в биологических матрицах в научном сообществе активно осуждают концепцию context of use (COU) — контекст использования и fit-for-purpose (FFP) — соответствие назначению, подразумевающую объем валидационных испытаний, необходимый для подтверждения адекватности методики согласно ее применению на конкретном этапе создания лекарственного препарата (Piccoli S.P., 2019). Концепцию совершенствуют с учетом различных мнений специалистов в данной области, подробное ее рассмотрение может быть предметом обсуждения в будущем. В целом валидационные параметры, процедуры и критерии приемлемости для анализа биомаркеров близки к общепринятой процедуре валидации биоаналитических методик, которую можно рассматривать, как своеобразную отправную точку, а концепция контекста использования и соответствия назначению вполне согласуется с общепринятым определением понятия валидации (экспериментальное доказательство того, что методика пригодна для решения предполагаемых задач) и наличием регуляторно закрепленных рекомендаций по крайней мере для двух ключевых сфер применения — в отношении валидации аналитических методик стандартизации лекарственных средств и биоаналитических методик (предполагающих применение хроматографических методов и методов связывания лиганда). Авторы рассмотрели интеграцию аналитической валидации анализа биомаркеров и процесса его клинической квалификации с разработкой лекарственных препаратов, а также выбор уровня аналитической валидации в зависимости от особенностей метода и решаемых задач (Косман В.М. и соавт., 2025).

Некоторые примеры практического применения ИФА в ДКИ

Как мы уже отмечали, в ДКИ методы ИФА могут быть использованы для стандартизации лекарственных препаратов, оценки их фармако- и токсикокинетики, иммуногенности, анализа биомаркеров для диагностики заболевания или патологии (подтверждения биологической модели), фармакодинамики и воздействия терапии и др.

При решении ряда задач могут быть применены не только методы ИФА, но и более привычные, например, ВЭЖХ, а в некоторых ситуациях для определения одного и того же аналита доступно несколько вариантов наборов реагентов (например, разных производителей). Отметим, что сопоставление ИФА наборов разных производителей, а также методов ИФА и ВЭЖХ для решения одной задачи актуально не только для ДКИ (Gross M.S. et al., 2022, Смирнов В.В. и соавт., 2023), но и близких областей применения ИФА — например, при анализе пищевых продуктов (Jayasena S. et al., 2015, Maggira M. et al., 2022, Smits N.G.E. et al., 2023). Шесть коммерческих наборов для ИФА арахиса было сопоставлено авторами (Jayasena S.

et al., 2015). В рамках сравнительного исследования проведена оценка содержания аллегенов яиц в девяти пищевых матрицах (печенье, шоколад, макароны, вино, бублик, заправка, овощной напиток и молоко, мороженое и заменители мяса/мясо) с использованием семи коммерчески доступных наборов ELISA и метода ВЭЖХ с масс-спектрометрическим (МС/МС) детектированием (Smits N.G.E. et al., 2023). Три коммерческих набора для оценки микотоксинов (B1, B2, G1, G2) и результаты, полученные методом ВЭЖХ, были сопоставлены при анализе кормов (кукуруза, силос, ячмень, пшеница, соя и подсолнечник) (Maggiara M. et al., 2022). Авторы цитируемых работ подчеркнули, что оба метода оказались подходящими для решения поставленных задач, а выбор в рассмотренных ими случаях должен определяться количеством анализируемых образцов.

Обсуждая работу с разнообразными биологическими матрицами, можно привести еще ряд примеров. При анализе сывороток крови больных с разными формами анемий показана высокая степень сходимости результатов, полученных с применением наборов двух производителей (Камушкина О.Н., Глобин В.И., 2000). Возможность применения четырех различных ИФА-наборов для анализа тестостерона в слюне добровольцев рассмотрена авторами (Andersson C.R. et al., 2017). Точность анализа с использованием двух мультиплексных платформ разных производителей для измерения десяти протеинов в моче добровольцев сопоставлена в работе (Furuu H. et al., 2019). Авторы (Малахова Л.С. и соавт., 2015) показали возможность применения четырех диагностических наборов отечественного и зарубежного производства для количественного определения содержания прогестерона в пробах сыворотки крови коз методом ИФА на автоматическом анализаторе, а авторы (Kinn Rod A.M. et al., 2017) сопоставили применение четырех наборов различных производителей для оценки уровня кортикостерона в сыворотке крыс. В исследовании (Gross M.S. et al., 2022) после введения японским перепелам (*Coturnix japonica*) семян пшеницы, обработанных имидаклопридом, анализировали образцы плазмы, печени и фекалий с помощью ИФА и сравнивали с данными, полученными ранее методом ВЭЖХ-МС/МС. По мнению авторов, ИФА является эффективным инструментом скрининга имидаклоприда в этих биологических матрицах, но присутствие соединений способных к перекрестному реагированию (метаболитов имидаклоприда) искажало результаты, поэтому для сложных образцов целесообразно подтверждение результатов ИФА более селективными методами (например, ВЭЖХ-МС/МС). Авторами работы (Ding L. et al., 2024) показано, что применение коммерческих наборов ИФА позволяет получить результаты анализа кортизола и его метаболитов (суммарно) в фекалиях атлантического лосося, сопоставимые с данными ВЭЖХ-МС/МС (возможно получение индивидуальных данных по каждому из шести соединений), показана важность валидации наборов ELISA при их применении для анализа новых матриц. В обзоре (Смирнов В.В. и соавт., 2023) на примере биотехнологических лекарственных препаратов группы моноклональных антител отмечено, что отличия результатов количественного анализа методами ИФА и ВЭЖХ-МС/МС в рамках фармакокинетических исследований могут достигать 20%.

Тимофей Николаевич Комаров и Светлана Михайловна Филатова («Фармакокинетические исследования биотехнологических препаратов, применяемых в терапии сахарного диабета: ИФА или ВЭЖХ, вот в чем вопрос...»), ООО «Центр фармацев-

тической аналитики») затронули важную тему выбора метода — ИФА или ВЭЖХ для проведения фармакокинетических исследований. Использование коммерческих наборов реагентов при исследовании фармакокинетики инсулинов осложнено длительными сроками поставки наборов ряда производителей, специфичностью по отношению к исследуемому инсулину и необходимостью проведения апробации продукции нескольких производителей для выбора оптимального варианта. Ключевой проблемой оказывается низкая межсерийная воспроизводимость коммерческих наборов реагентов, решение которой возможно проведением оценкой работоспособности актуальной серии перед каждым биоаналитическим исследованием одного и того же анализируемого инсулина. К особенностям разработки методик «с нуля» также следует отнести сложности логистики, длительность поставок материалов и реактивов (от нескольких дней до 3–4 месяцев), временные затраты на разработку методики (1–3 месяца) и ее валидацию (несколько недель), необходимость уделить особое внимание специфичности методики при ее разработке.

Учитывая указанные недостатки ИФА для инсулинов, в ряде случаев выбор ВЭЖХ-МС/МС в качестве аналитического метода оказывается оправданным, несмотря на сопутствующие ему сложности, отмеченные на примере семаглутида — пептидная структура молекулы, наличие мультизарядного иона, ограниченная стабильность, высокая сорбция на стекле. Докладчик рассказал об опыте создания и валидации методики определения семаглутида в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС (НПКО 0,5 нг/мл) с применением специальных микропланшетов (Nunc®MicroWell® + мат Nunc®, Sigma-Aldrich, Дания) и ее успешного применения в рамках фармакокинетического исследования.

Одним из направлений применения ИФА является оценка иммуногенности биологических препаратов, которая представляет собой их способность вызывать иммунный ответ у пациентов, что может проявляться в виде образования антител против самого препарата и приводить к снижению эффективности лечения и появлению побочных эффектов. Оценка иммуногенности является критической составляющей при разработке и клиническом испытании биологических препаратов, поскольку она помогает выявить потенциальные риски и обеспечить безопасность и эффективность препарата (Мосикян А.А., Хохлов А.Л., 2020, Авдеева Ж.И. и соавт., 2019).

Несмотря на множество преимуществ, ИФА имеет определенные недостатки (трудоемкая процедура анализа, наличие перекрестной специфичности при распознавании сложных биологических объектов анализа в биоматериале), поэтому активно продолжается поиск более простого, специфичного и чувствительного метода для оценки иммуногенности (Hosseini S. et al., 2018). Альтернативным методом для оценки иммуногенности может быть метод биослойной интерферометрии (BLI), применяемый для оценки межмолекулярных взаимодействий, с использованием соответствующего оборудования²³.

Валерия Сергеевна Чернышенко и Марина Валерьевна Карлина («Сравнение двух методов оценки иммуногенности биологических препаратов на основе монокло-

²³ Blitz. User Guide. ForteBio, Inc. (Электронный ресурс). URL.: https://projects.iq.harvard.edu/files/cmi/files/blitz_user_guide.pdf (дата обращения 08.2025).

нальных антител на примере препарата с МНН пембролизумаб», АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») рассказали о сравнении двух методов оценки иммуногенности биологических препаратов на основе моноклональных антител на примере препарата с МНН пембролизумаб (при многократном внутривенном введении яванским макакам) с помощью метода ИФА (мостиковый вариант) и метода биослойной интерферометрии (BLI). При разработке и валидации методик количественной оценки содержания антилекарственных антител (АЛА) к пембролизумабу в сыворотке крови яванских макак двумя методами установлено, что большей чувствительностью обладает метод ИФА (12,3 нг/мл) в сравнении с методом BLI (419,7 нг/мл); по показателям правильности и прецизионности получены сопоставимые результаты, соответствующие требованиям нормативных документов, что подтверждало возможность использования рассматриваемых методов для решения поставленной аналитической задачи.

При определении уровня АЛА к пембролизумабу в сыворотке крови обезьян методом мостикового ИФА антитела к пембролизумабу были обнаружены у двух животных из группы, получавших [Т], и двух животных, получавших [R]; уровень антител был сопоставим. При определении уровня АЛА к пембролизумабу в сыворотке крови обезьян методом BLI антитела к пембролизумабу были обнаружены только у одного животного, для которого было отмечено самое высокое содержание антител методом ИФА. У остальных животных содержание антител к пембролизумабу ниже НПКО данной методики.

Для дальнейших исследований по оценке иммуногенности препаратов с МНН пембролизумаб можно рекомендовать метод ИФА (мостиковый вариант) как более чувствительный метод. Мостиковый вариант ИФА является методом выбора оценки иммуногенности для препаратов с неизвестной или предполагаемой низкой иммуногенностью. Метод BLI можно использовать для препаратов с ожидаемой высокой иммуногенностью.

Иммуногистохимический метод в доклинических исследованиях: принципы, возможности, ограничения

Иммуногистохимия (ИГХ, immunohistochemistry, ИНС) — это метод визуализации экспрессии белков в тканях с использованием специфического взаимодействия антител с целевыми молекулами, фиксированными в гистологических срезах (Теоретические основы ..., 2014). На этапе ДКИ ИГХ позволяет не только оценить экспрессию мишеней, но и подтвердить биологическую модель, выявить токсические эффекты, судить о распределении препарата или его воздействии на уровне ткани (Акименко М.А. и соавт., 2024; Liu H. et al., 2017), что делает метод универсальным инструментом для комплексной характеристики действия лекарственного средства (Buehler P.W, D'Agnillo F., 2010).

Метод основан на тех же принципах, что и ИФА, но его реализация иная: возможна как на парафиновых, так и на замороженных срезах; для получения корректного результата необходима точная стандартизация всех этапов: от фиксации до интерпретации (Теоретические основы ..., 2014; Иммуногистохимические ..., 2011).

Метод ИГХ включает в себя широкий спектр вариантов постановки, отличающихся по способу детекции, типу используемых антител и уровню чувствительности (Taylor C.R. et al., 2014; Ramos-Vara J.A., 2005). Более чувствительные варианты включают метод с полимерной системой, которая объединяет множество ферментных молекул на одном носителе, а также стрептавидин-биотиновую систему, обладающую высокой аффинностью и универсальностью, но чувствительную к эндогенному бiotину в ткани (Shi S.-R. et al., 2000). Кроме того, методики могут различаться по типу хромофоров (3,3'-diaminobenzidine — DAB, aminoethyl carbazole — АЕС и др.) или флуорофоров, выбор которых определяет уровень визуализации и возможность мультиплексного анализа. Разнообразие протоколов и их вариативность требуют тщательной оптимизации и валидации процедуры в каждой конкретной лаборатории²⁴.

ИГХ обладает рядом значимых преимуществ, обеспечивающих ее востребованность в ДКИ. Метод позволяет сохранять тканевую архитектуру и проводить точную локализацию экспрессируемых белков, сочетая морфологическую оценку с молекулярной детекцией. При использовании валидированных антител достигается высокая специфичность и воспроизводимость, а разнообразие систем детекции обеспечивает возможность как качественной, так и полуколичественной или количественной оценки уровня экспрессии. Кроме того, ИГХ применим для анализа широкого спектра мишеней: рецепторов, ферментов, сигнальных молекул, маркеров пролиферации (Ki-67), апоптоза (Caspase-3), ангиогенеза (vascular endothelial growth factor, VEGF) и др. (Taylor C.R. et al., 2014; Ramos-Vara J.A., 2005).

Ограничениями метода являются высокая чувствительность к качеству фиксации и проводки материала, потенциальная вариабельность результатов, связанная с источником антител и условиями детекции, а также необходимость адаптации и валидации методик при работе с тканями лабораторных животных, что особенно актуально для доклинической сферы применения (Shi S.-R. et al., 2000)²⁵.

Жанна Юрьевна Устенко («Возможности применения ИГХ метода в доклинических исследованиях, преимущества и ограничения», АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»), характеризуя ключевые этапы и условия проведения ИГХ в ДКИ, подчеркнула, что эффективность и воспроизводимость ИГХ анализа напрямую зависят от качества выполнения каждого этапа методики. На первом этапе особое значение имеет фиксация ткани, чаще всего 10% нейтральным формалином, с последующей парафиновой заливкой. Именно этот этап влияет на сохранность антигенной структуры и морфологии. Далее проводят антигенную демаскировку, необходимую для восстановления эпитопов, заблокированных в процессе фиксации; наиболее распространены термическая и ферментная демаскировка (Shi et al., 2000). Подбор первичного антитела, его разведение, буферная среда, температура и время инку-

²⁴ OECD Guidance Document No. 34. Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment. — OECD Series on Testing and Assessment, No. 34. — Paris: OECD Publishing, 2005. (дата обращения 08.2025).

Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation — Rockville, MD, U.S., 2018. 41 p. (дата обращения 08.2025).

²⁵ OECD Guidance Document No. 34. Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment. — OECD Series on Testing and Assessment, No. 34. Paris: OECD Publishing, 2005. (дата обращения 08.2025).

бации требуют тщательной оптимизации, как и выбор системы детекции. Контроль специфичности включает использование изотипного контроля, отрицательных и положительных тканей. Заключительный этап — интерпретация результатов, которая может быть проведена патоморфологом визуально или при помощи цифровой морфометрии (Taylor C.R. et al., 2014; Ramos-Vara J.A., 2005).

Основными сферами применения ИГХ в ДКИ являются исследования эффективности, перекрестной реактивности и распределения препарата, иммунного ответа и безопасности. Докладчик привела примеры белков, которые возможно детектировать и методы морфометрии, которые применимы по отношению к ним.

В условиях ДКИ особую важность приобретает поиск антител валидных на лабораторных животных или адаптация антител, предназначенных для человека, к тканям лабораторных животных. Последнее требует предварительного тестирования кросс-реактивности, подбора условий инкубации, апробации и, при необходимости, частичной валидации методики.

Оценка результатов ИГХ анализа может быть проведена в качественном, полуколичественном или количественном формате. Для полуколичественной оценки часто используют шкалу H-score, учитывающую как интенсивность окрашивания, так и процент позитивных клеток (Taylor C.R. et al., 2014; Ramos-Vara J.A., 2005). Количественная оценка возможна при помощи цифровой морфометрии с использованием программного обеспечения, которое автоматически анализирует интенсивность сигнала и площадь окрашивания (Rizzardì A.E. et al., 2012). Такой подход повышает воспроизводимость результатов и позволяет стандартизировать интерпретацию, в тех ДКИ, где предпочтительно получение объективных количественных данных.

Заключение

ИФА и ИГХ являются современными эффективными аналитическими методами, отличающимися чрезвычайным многообразием вариантов исполнения и назначения, позволяющими решать широкий спектр аналитических задач проще и эффективнее, чем ряд «традиционных» физико-химических методов (например, хроматографических), в отношении аналитов биологического (белкового, пептидного, неустановленного) происхождения, анализ которых другими методами затруднен или невозможен. Методы динамично развиваются и находят применение как в ДКИ, так и на дальнейших этапах жизненного цикла лекарственных препаратов и терапии различных заболеваний.

Особенностями реализации ИФА являются:

- необходимость создания, валидации и воспроизведения или промышленного выпуска наборов реагентов или отдельных реактивов, предназначенных для выполнения конкретной аналитической задачи;
- высокая стоимость и, в ряде случаев, видоспецифичность таких наборов, сдерживающая их применение в ДКИ;
- необходимость тщательной экспериментальной проверки применимости методики в условиях конкретной лаборатории и ее адаптации в случае каких-либо изменений (анализируемая матрица, оборудование, реагенты и др.), а также

вариативность валидационных процедур, в особенности для менее устоявшихся сфер применения (оценка иммуногенности, анализ биомаркеров).

ИГХ — мощный инструмент в арсенале ДКИ, сочетающий морфологический контекст и молекулярную специфику. При грамотной адаптации и стандартизации он позволяет получать высокоинформативные данные, критически важные для оценки действия, безопасности и эффективности разрабатываемых препаратов.

Использование в ДКИ данных, полученных методом ИФА, способствует повышению информативности и релевантности таких исследований, привлечение ИГХ расширяет возможности интерпретации результатов *in vivo* моделей, обеспечивая мост между гистологией, молекулярной биологией и фармакологией, что в конечном итоге, ведет к расширению ассортимента отечественных лекарственных препаратов и повышению их качества.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Agoram B., Heatherington A.C., Gastonguay M.R. Development and evaluation of a population pharmacokinetic-pharmacodynamic model of darbepoetin alfa in patients with nonmyeloid malignancies undergoing multicycle chemotherapy // The AAPS Journal. 2006. Vol. 8. N. 3. P. E552–E562. DOI: [10.1208/aapsj080364](https://doi.org/10.1208/aapsj080364).
2. Andersson C.R., Bergquist J., Theodorsson E. et al. Comparisons between commercial salivary testosterone enzyme-linked immunosorbent assay kits // Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2017. Vol. 77. N. 8. P. 582–586. DOI: [10.1080/00365513.2017.1339231](https://doi.org/10.1080/00365513.2017.1339231).
3. Buehler P.W., D'Agnillo F. Toxicological consequences of extracellular hemoglobin: biochemical and physiological perspectives // Free Radic. Biol. Med. 2010. Vol. 49. N. 3. P. 398–409. DOI: [10.1089/ars.2009.2799](https://doi.org/10.1089/ars.2009.2799).
4. Bratcher P.E., Gaggari A. Factors Influencing the Measurement of Plasma/Serum Surfactant Protein D Levels by ELISA // PLoS ONE. 2014. Vol. 9. N. 11. P. e111466. DOI: [10.1371/journal.pone.0111466](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111466).
5. Bratos M., Kolaj-Robin O., Antoni M., Charton E.Ph. Eur. testing for histamine and depressor substances using guinea-pigs and cats: the end of an era. Strategy for removal of animal tests for histamine and depressor substances and their vestiges from the Ph. Eur. // Pharmeur. Bio Sci. Notes. 2024. N. 2024. P. 12–26.
6. Chang C.Y., Peng J.Y., Cheng Y.H. et al. Development and comparison of enzyme-linked immunosorbent assays based on recombinant trimeric full-length and truncated spike proteins for detecting antibodies against porcine epidemic diarrhea virus // BMC Vet Res. 2019. Vol. 27. N. 15(1). P. 421–434. DOI: [10.1186/s12917-019-2171-7](https://doi.org/10.1186/s12917-019-2171-7).
7. Ding J., Fanjara E., Stene A. et al. Comparison and Validation of Commercial Elisa Kits for Quantification of Fecal Cortisol Metabolites in Atlantic Salmon (*Salmon Salar*). 2024. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4990482>. DOI: [10.2139/ssrn.4990482](https://doi.org/10.2139/ssrn.4990482).
8. Fatema K., Tabassum S., Nessa A. et al. Development and evaluation of an in-house ELISA to detect hepatitis B virus surface antigen in resource-limited settings // Bangladesh Medical Research Council Bulletin. 2014. Vol. 39. N. 2. P. 65–68. DOI: [10.3329/bmrcb.v39i2.19644](https://doi.org/10.3329/bmrcb.v39i2.19644).

9. Furuya H., Pagano I., Chee K. et al. Comparison of Commercial ELISA Kits, a Prototype Multiplex Electrochemoluminescent Assay, and a Multiplex Bead-Based Immunoassay for Detecting a Urine-Based Bladder-Cancer-Associated Diagnostic Signature // *Diagnostics (Basel)*. 2019. Vol. 9. N. 4. P. 166. DOI: [10.3390/diagnostics9040166](https://doi.org/10.3390/diagnostics9040166).
10. Ghorbani M., Daryabour Z., Shokri R. et al. Optimization and Application of Quantitative In-House ELISA for Diagnosis of HBsAg and its Correlation with Commercial ELISA and Molecular Kits // *Hepatitis Monthly*. 2023. Vol. 23. N. 1. P. e133150. DOI: [10.5812/hepatmon-133150](https://doi.org/10.5812/hepatmon-133150).
11. Gross M.S., Woodward E.E., Hladik M.L. Evaluation of ELISA for the analysis of imidacloprid in biological matrices: Cross-reactivities, matrix interferences, and comparison to LC-MS/MS // *Chemosphere*. 2022. Vol. 286. Pt. 3. P. 131746. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2021.131746](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131746).
12. Hosseini S., Vázquez-Villegas P., Rito-Palomares M. et al. Advantages, Disadvantages and Modifications of Conventional ELISA / Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) // *SpringerBriefs in Forensic and Medical Bioinformatics*. 2018. P. 67–115. DOI: [10.1007/978-981-10-6766-2_5](https://doi.org/10.1007/978-981-10-6766-2_5).
13. Jayasena S., Smits M., Fiechter D. et al. Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens // *J. Agric. Food Chem.* 2015. Vol. 63. N. 6. P. 1849–1855. DOI: [10.1021/jf504741t](https://doi.org/10.1021/jf504741t).
14. Kaga H., Komatsuda A., Yamamoto S. et al. Comparison of measurements of anti-PLA2R antibodies in Japanese patients with membranous nephropathy using in-house and commercial ELISA // *Clin. Exp. Nephrol.* 2019. Vol. 23. N. 4. P. 465–473. DOI: [10.1007/s10157-019-01712-x](https://doi.org/10.1007/s10157-019-01712-x).
15. Kinn Rød A.M., Harkestad N., Jellestad F.K. et al. Comparison of commercial ELISA assays for quantification of corticosterone in serum // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. N. 1. P. 6748. DOI: [10.1038/s41598-017-06006-4](https://doi.org/10.1038/s41598-017-06006-4).
16. Khramtsov P., Novokshonova A., Galaeva Z. et al. A systematic investigation of TMB substrate composition for signal enhancement in ELISA // *Anal Biochem.* 2025. Vol. 704. P. 115908. DOI: [10.1016/j.ab.2025.115908](https://doi.org/10.1016/j.ab.2025.115908).
17. Liu H., Zhu R., Liu C. et al. Evaluation of decalcification techniques for rat femurs using HE and immunohistochemical staining // *Biomed. Res. Int.* 2017. 2017. P. 9050754. DOI: [10.1155/2017/9050754](https://doi.org/10.1155/2017/9050754).
18. Maggira M., Sakaridis I., Ioannidou M. et al. Comparative Evaluation of Three Commercial Elisa Kits Used for the Detection of Aflatoxins B1, B2, G1, and G2 in Feed-stuffs and Comparison with an HPLC Method // *Vet. Sci.* 2022. Vol. 9. P. 104. DOI: [10.3390/vetsci9030104](https://doi.org/10.3390/vetsci9030104).
19. Piccoli S.P. Points to Consider Document: Scientific and Regulatory Considerations for the Analytical Validation of Assays Used in the Qualification of Biomarkers in Biological Matrices. Biomarker Assay Collaborative Evidentiary Considerations Writing Group. 2019. <https://media.c-path.org/wp-content/uploads/20240427170639/evidconsid-whitepaper-analyticalsectionv2019.pdf>.
20. Poshtehban A., Shojaee S., Keshavarz H. et al. Comparison of the *Toxoplasma gondii* mice and cell culture derived antigens in ELISA assay // *Trop. Biomed.* 2017. Vol. 34. N. 2. P. 433–436.

21. Ramos-Vara J.A. Technical aspects of immunohistochemistry / *Vet. Pathol.* 2005. Vol. 42. N. 4. P. 405–426. DOI: [10.1354/vp.42-4-405](https://doi.org/10.1354/vp.42-4-405).
22. Raoofti Mohseni S., Golsaz-Shirazi F., Hosseini M. et al. Characterization of Monoclonal and Polyclonal Antibodies Recognizing Prostate Specific Antigen: Implication for Design of a Sandwich ELISA // *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 2019. Vol. 11. N. 1. P. 72–79.
23. Rastawicki W. Comparison of in-house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and six commercial ELISAs for Detection of antibodies to *Bordetella pertussis* // *J. Microbiol. Methods.* 2024 Vol. 224. P. 107011. DOI: [10.1016/j.mimet.2024.107011](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2024.107011).
24. Rizzardi A.E., Johnson A.T., Vogel R.I. et al. Quantitative comparison of immunohistochemical staining measured by digital image analysis versus pathologist visual scoring // *Diagn. Pathol.* 2012. Vol. 7. Article N. 42. DOI: [10.1186/1746-1596-7-42](https://doi.org/10.1186/1746-1596-7-42).
25. Sanmarco M. ELISA for antiphosphatidylethanolamine antibody detection: high impact of assay buffer on results // *J. Immunol. Methods.* 2010. Vol. 358. N. 1–2. P. 9–16. DOI: [10.1016/j.jim.2010.04.002](https://doi.org/10.1016/j.jim.2010.04.002).
26. Shi S.-R., Liu C., Taylor C.R. *Antigen Retrieval Techniques: Immunohistochemistry and Molecular Morphology.* Natick (MA): Eaton. 2000. P. 311–333.
27. Smits N.G.E., De Dominicis E., Koops A.J. et al. Comparison of commercial allergen ELISA kits for egg detection in food matrices // *Heliyon.* 2023. Vol. 9. N. 10. P. e19687. DOI: [10.1016/j.heliyon.2023.e19687](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19687).
28. Taylor C.R., Shi S.R., Chaiwun B., Young L., Imam S.A., Cote R.J. *Techniques of immunohistochemistry: principles, pitfalls, and standardization.* Diagnostic Immunohistochemistry. Elsevier. 2014.
29. Авдеева Ж.И., Солдатов А.А., Алпатова Н.А. и др. Исследования иммуногенности терапевтических белков: методические аспекты выявления и изучения антител к лекарственному препарату // *Иммунология.* 2024. № 45(1). С. 91–106. DOI: [10.33029/1816-2134-2024-45-1-91-106](https://doi.org/10.33029/1816-2134-2024-45-1-91-106).
30. Авдеева Ж.И., Солдатов А.А., Бондарев В.П. и др. Проблемы, связанные с нежелательной иммуногенностью биотехнологических лекарственных препаратов (терапевтических белков). Сообщение 1. Методические подходы к оценке иммуногенности // *Иммунология.* 2019. № 40(3). С. 51–64. DOI: [10.24411/0206-4952-2019-13006](https://doi.org/10.24411/0206-4952-2019-13006).
31. Акименко М.А., Воронова О.В., Алхусейн-Кулягинова М.С. и др. Возможности иммуногистохимических методов для оценки токсичности и механизма действия соединений с предполагаемым противоопухолевым эффектом в ходе доклинического исследования. Ч. II. Гибель клетки, васкулогенез и ангиогенез // *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2024. № 9(2). С. 72–85. DOI: [10.23946/2500-0764-2024-9-2-72-85](https://doi.org/10.23946/2500-0764-2024-9-2-72-85).
32. Анцилевич Л.М., Ягудина Л.А. Практическое применение иммуноферментного анализа в диагностике заболеваний // *Практическая медицина.* 2014. № 3(79). 28 с.
33. Баборенко Е.П., Бьядовская О.П., Бирюченков Д. А и др. Разработка и применение тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего варианта ИФА для определения антигена вируса РРСС при промежуточном контроле вакцинного сырья // *Ветеринария сегодня.* 2020. № 2(33). P. 109–114. DOI: [10.29326/2304-196X-2020-2-33-109-114](https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-109-114).

34. Бьядовская О.П., Бухон Е.А., Нестеров А.А. Разработка и применение тест-системы на основе конкурентного варианта ифа для выявления антител к ротавирусу группы А в сыворотках крови сельскохозяйственных животных // Ветеринария сегодня. 2017. № 4. С. 63–66.
35. Волкова Р.А., Фадейкина О.В., Устинникова О.Б. и др. Требования к материалам раздела по стандартным образцам, представляемым в досье на биологические лекарственные средства // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2024. № 24(1). С. 7–20. DOI: [10.30895/2221-996X-2024-24-1-7-20](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-1-7-20).
36. Другова Е.Д., Мягкова М.А. Иммуноферментный метод определения гистамина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 6–5. С. 891–894.
37. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б. и др. Теория и практика иммуноферментного анализа. Москва: Высш. шк., 1991. 288 с.
38. Елисеева О.А., Колганова М.А., Шохин И.Е. и др. Разработка и валидация методики определения антител к трастузумабу в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2022. № 11(4-1). С. 120–127. DOI: [10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)120-127](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)120-127).
39. Зыбин Д.И., Серегин А.С., Аскретков А.Д. и др. Разработка и валидация метода определения специфической активности рекомбинантного моноклонального антитела экулизумаб // Тонкие химические технологии. 2020. № 15(2). С. 77–85. DOI: [10.32362/2410-6593-2020-15-2-77-85](https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-2-77-85).
40. Иммуногистохимические методы: руководство / G.L. Kumar, L. Rudbeck: Dako / пер. с англ. под ред. Г.А. Франка, П.Г. Малькова. Москва, 2011. 224 с.
41. Камушкина О.Н., Глобин В.И. Сравнительная оценка стандартных наборов иммуно-ферментного анализа для определения уровня эритропоэтина крови. Конференция «БИОМЕДПРИБОР-2000». Секция 5. Методы и средства лабораторной диагностики. 2000. https://mks.ru/library/conf/biomedpribor/2000/sec05_13.html.
42. Карлина М.В., Фаустова Н.М., Пожарицкая О.Н. и др. Определение дарбопозтина альфа в плазме крови кроликов методом иммуноферментного метода // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 4(17). С. 204–209.
43. Каронова Т.Л., Черникова А.Т., Майоров А.Ю. Биозквивалентность и иммуногенность биоаналога инсулина лизпро по сравнению с референтным препаратом // Медицинский совет. 2023. № 17(6). С. 220–232. DOI: [10.21518/ms2023-052](https://doi.org/10.21518/ms2023-052).
44. Колганова М.А., Мельник Е.В., Фишер Е.Н. и др. Разработка и валидация методики количественного определения рекомбинантного гетеродимерного белка RPH-104 в сыворотке крови как инструмента персонализации фармакотерапии // Химико-фармацевтический журнал. 2022. № 56(12). С. 66–70. DOI: [10.30906/0023-1134-2022-56-12-66-70](https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-12-66-70).
45. Колганова М.А., Сагимбаева О.С., Борисова Ю.С. и др. Разработка и валидация методики определения нейтрализующих антител к трастузумабу в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2023. № 12(2). С. 190–197. DOI: [10.33380/2305-2066-2023-12-2-190-197](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-2-190-197).

46. Колочева Т.И., Решетников С.С. Новый набор реагентов для определения эритропоэтина в биологических жидкостях / Новости «Вектор-Бест». 2008. № 2(48). С. 9–12. <https://www.vector-best.ru/knowledge/bulletin/>.
47. Конькова А.Ю., Горовиц Э.С., Гаврилова Т. В. и др. Использование твердофазного варианта иммуноферментного анализа для этиологической диагностики эндогенных увеитов // Российский офтальмологический журнал. 2023. № 16(4). С. 122–126. DOI: [10.21516/2072-0076-2023-16-4-122-126](https://doi.org/10.21516/2072-0076-2023-16-4-122-126).
48. Косман В.М., Карлина М.В., Фаустова Н.М., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Вопросы валидации биоаналитических методик количественного определения биомаркеров. Обзор // Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2025. DOI: [10.30895/1991-2919-2025-766](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-766).
49. Косман В.М., Фаустова Н.М., Пожарицкая О.Н. и др. Применение и валидация иммуноферментного анализа для стандартизации биопрепарата // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. № 2(11). С. 176–182.
50. Кудряшова А.М., Михайлова Н.А., Борисова О.В. Сравнение ИФА с хемилюминесцентной и колориметрической детекцией для выявления специфических IgG-антител к эритропоэтину человека в сыворотках крови экспериментальный животных // Медицинская иммунология. 2018. № 20(6). С. 935–942. DOI: [10.15789/1563-0625-2018-6-935-942](https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-6-935-942).
51. Малахова Л.С., Криворучко С.В., Мещеряков В.А. Подбор диагностических наборов для определения гормонального уровня. Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. 2015. № 2(8). С. 73–77. <https://cyberleninka.ru/article/n/podbor-diagnosticskih-naborov-dlya-opredeleniya-gormonalnogo-urovnya>.
52. Мамаева Т.А., Железнова Н.В., Наумова М.А. и др. Совершенствование контроля качества исследований методом ИФА при лабораторном подтверждении кори и краснухи на этапе элиминации этих инфекций // Инфекция и иммунитет. 2017. № 7(1). С. 69–78. DOI: [10.15789/2220-7619-2017-1-69-78](https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-1-69-78).
53. Медведев Ю.В., Колганова М.А., Сас О.А. и др. Оценка иммуногенности препаратов пэгфилграстима у пациентов с диагнозом «рак молочной железы» // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2020. № 9(2). С. 140–144.
54. Митюшова Е.В., Фаустова Н.М., Пожарицкая О.Н. и др. Разработка и валидация методики определения иммуногенности препарата интерферона альфа-2A // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 1. С. 194–200.
55. Мосикян А.А., Хохлов А.Л. Иммуногенность биологических лекарственных препаратов: причины, механизмы, последствия // Медицинская этика. 2020. № 1. С. 28–35.
56. Москалец О.В. Иммуноферментный анализ в практике клинициста // Клинический разбор в общей медицине. 2022. № 6. С. 19–23. DOI: [10.47407/kr2022.3.6.00171](https://doi.org/10.47407/kr2022.3.6.00171).
57. Набиева Ф.С., Душанова Г.А., Бобокулов О.О. Значение иммуноферментного анализа в диагностике инфекционных заболеваний // Вестник науки и образования. 2021. № 4(107). Часть 1. С. 54–56.
58. Ноздрин Е.В., Мазалев Д.А., Рогозина Д.Р. и др. Разработка и валидация методики определения остаточного белка А в фармацевтических субстанциях терапевтических моноклональных антител. БИОпрепараты // Профилактика, диагностика, лечение. 2024. № 24(1). С. 32–45. DOI: [10.30895/2221-996X-2024-24-1-32-45](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-1-32-45).

59. Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В. и др. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления *Bacillus anthracis* // Проблемы особо опасных инфекций. 2018. № 3. С. 78–82. DOI: [10.21055/0370-1069-2018-3-78-82](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-3-78-82).
60. Писарев В.В., Иванов А.В. Валидация тест-системы для количественного определения концентрации трастузумаба (Герцептин, Гертикад) в биологических жидкостях методом твердофазного иммуноферментного анализа // Фармакокинетика и Фармакодинамика. 2023. № 1. С. 58–64. DOI: [10.37489/2587-7836-2023-1-58-64](https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-1-58-64).
61. Писарев В.В., Иванов А.В. Валидация тест-системы на основе метода иммуноферментного анализа для определения концентрации бевацизумаба в биологических жидкостях // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2024. № 13(2). С. 181–189. DOI: [10.33380/2305-2066-2024-13-2-1507](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-2-1507).
62. Писарев В.В., Уляшова М.М., Гильдеева Г.Н. Валидация иммуноферментной тест-системы для доклинических исследований фармакокинетики ритуксимаба // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2019. № 9(2). С. 131–139. DOI: [10.30895/1991-2919-2019-9-2-131-139](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-2-131-139).
63. Практическое руководство по иммуноферментному анализу. Good ELISA Practice. Manual. R-Biopharm. 2020. 38 с.
64. Пьянков С.А., Пьянков О.В., Найденова Е.В. и др. Опыт использования метода ИФА для выявления антител к вирусу Эбола при работе бригады СПЭБ в Гвинейской Республике // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 3. С. 71–75. DOI: [10.21055/0370-1069-2016-3-71-75](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-3-71-75).
65. Риск-ориентированный подход к созданию лекарственного препарата / Карлина М.В., Косман В.М., Абрамович Р.А. и др. / Консультант GLP-Planet 2023. Мнение фармацевтической отрасли. Санкт-Петербург: Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ». 2023. С. 47–74. DOI: [10.57034/978-5-6048955-2-8-s2](https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-2-8-s2).
66. Свежова Н.В., Шаркова В.Е., Громов Д.Б. и др. Методы математической обработки данных в иммуноферментном анализе. 1. Теоретические основы // Клиническая лабораторная диагностика. 2008. <https://refdb.ru/look/2138029.html>.
67. Смирнов В.В., Петухова О.А., Филатов А.В. и др. Исследование фармакокинетики биотехнологических препаратов на примере моноклональных антител // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2023. № 23(2). С. 173–180. DOI: [10.30895/2221-996X-2023-23-2-173-180](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-2-173-180).
68. Смолянова Т.И., Николаева А.М., Вязникова Т.В. и др. Выбор метода и разработка стандартного образца для количественного определения антител к SARS-CoV-2 методом ИФА в препаратах иммуноглобулинов // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2022. № 22(4). С. 392–404. DOI: [10.30895/2221-996X-2022-22-4-392-404](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-4-392-404).
69. Солдатенкова А.В., Кудряшова А.М., Гаврилова Н.Ф. и др. Разработка иммуноферментного метода контроля качества вакцины на основе гибридного рекомбинантного белка *Pseudomonas aeruginosa* // Медицинская иммунология. 2020. № 22(4). С. 805–810. DOI: [10.15789/1563-0625-DOE-1906](https://doi.org/10.15789/1563-0625-DOE-1906).
70. Стрижакова О.М., Лыска В.М., Малоголовкин А.С. и др. Валидация ИФА-набора для обнаружения антител к вирусу африканской чумы свиней в крови и селе-

- зенке домашних свиней и диких кабанов // *Сельскохозяйственная биология*. 2016. № 51(6). С. 845–852. DOI: [10.15389/agrobiol.2016.6.845rus](https://doi.org/10.15389/agrobiol.2016.6.845rus).
71. Тараканова Ю.Н., Дмитриев А.Д., Дмитриев Д.А. и др. Твердофазный иммуноферментный анализ: история, теория и практическое применение // *Журнал микробиологии*. 2019. № 3. С. 117–125.
72. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии: руководство / Д.Э. Коржевский, О.В. Кирик, М.Н. Карпенко и др.; под ред. Д.Э. Коржевского. 2-е изд., испр. и доп. Санкт-Петербург: СпецЛит. 2014. 119 с.
73. Тумаев А.В., Волошин Д.Ю., Бердинских Е.С. Разработка стандартного образца пустых капсидов рекомбинантного аденоассоциированного вируса для контроля качества препаратов генной терапии // *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2024. № 24(2). С. 200–214. DOI: [10.30895/2221-996X-2024-24-2-200-214](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-2-200-214).
74. Фармацевтическая разработка и особенности ее аналитического сопровождения / М.В. Карлина, В.М. Косман, О.А. Арчакова и др. / *Консультант GLP-Planet 2024. Мнение фармацевтической отрасли*. Санкт-Петербург: Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ», 2024. С. 25–48. DOI: [10.57034/978-5-6048955-9-7-s2](https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-9-7-s2).
75. Храмов П.В., Раев М.Б., Заморина С.А. Стереоспецифические взаимодействия. Инструментальные и неинструментальные методы в иммуноаналитике: учебное пособие. Пермский государственный национальный исследовательский университет. Пермь. 2020. 105 с. <http://www.psu.ru/files/docs/science/books/uchebnie-posobiya/hramov-raev-zamorina-stereospecificheskie-vzaimodejstviya.pdf>.
76. Чечетова Е.О., Батуашвили Т.А., Неугодова Н.П. Анализ современных подходов к контролю содержания депрессорных веществ // *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024. № 14(5). С. 553–560. DOI: [10.30895/1991-2919-2024-14-5-553-560](https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-5-553-560).
77. Яковлева А.С., Каньшина А.В., Щербаков А.В. и др. Разработка и валидация тест-системы зав-ифа для обнаружения антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыворотках крови крупного и мелкого рогатого скота // *Ветеринария сегодня*. 2015. № 4. С. 36–42.

Rus-LASA: история организации, вклад в развитие науки о лабораторных животных и участие в работе конференции GLP-PLANET

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-s9>

Е.А. Кушнир¹, И.В. Белозерцева², М.С. Дуброва¹, Е.Д. Ивлиев³, М.С. Красильщикова⁴,
А.О. Кузьмичева⁵, Е.А. Литвинова⁶, М.Л. Ловать¹, В.С. Попов¹, К.И. Петрова⁷, Д.М. Савина⁸

¹ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия,

² ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия,

³ ФГБНУ «МГНЦ», Москва, Россия,

⁴ ГНЦ ИБХ РАН, Москва, Россия,

⁵ Филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, Москва, Россия,

⁶ ФГБОУ ВО НГТУ, Новосибирск, Россия,

⁷ ООО «НИИ ХимРар», Химки, Россия,

⁸ ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

Русская ассоциация специалистов по лабораторным животным (Rus-LASA) (изначально — Некоммерческое партнерство) была создана инициативной группой исследователей, — д.м.н., заведующим лабораторией биологических испытаний Филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН Аркадием Николаевичем Мурашевым, к.б.н., заведующим лабораторией экспериментальных животных биологического факультета МГУ Владимиром Сергеевичем Поповым и к.б.н., заведующей отделом экспериментальной биологии с виварием Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН Мариной Сергеевной Красильщиковой и зарегистрирована в Министерстве юстиции 08.08.11.

Основными задачами Rus-LASA являются формирование в российском научном сообществе представлений о современных правилах и нормах работы с лабораторными животными, повышение качества экспериментальных *in vivo* исследований и обеспечение гуманного обращения с животными.

Rus-LASA — некоммерческая организация, ее возглавляет президент, а руководство осуществляется правлением, выборы которого происходят раз в 2 года на основе

самовыдвижения и открытого голосования всех членов Ассоциации. Первым президентом Rus-LASA был избран А.Н. Мурашев, его заместителем — В.С. Попов. Из членов правления и других представителей Rus-LASA было сформировано несколько рабочих групп: по вопросам ветеринарии, разработки стандартных операционных процедур, перевода и публикации международной нормативной базы и рекомендательных документов. Группой по переводам профессиональной литературы [при участии членов Rus-LASA к.б.н. Ирины Владимировны Белозерцевой, заведующей отделом психофармакологии и лаборатории экспериментальных доклинических исследований с виварием и к.б.н. Марины Сергеевны Красильщиковой и при поддержке гранта, учрежденного благотворительной организацией Laboratory Animals Limited (LAL)] уже в 2012 г. были переведены и изданы для безвозмездного распространения Ассоциацией первые документы: отчет рабочей группы FELASA о принципах и порядке проведения этической экспертизы экспериментов на животных в Европе¹ и Директива 2010/63/EU².

В 2014 г. было переведено приложение А к Европейской конвенции ETS N 123³, которое до настоящего момента является Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных в странах Европы. В том же году на основе данного документа началась подготовка ГОСТов, регламентирующих содержание и обращение с различными видами лабораторных животных в России: ГОСТ 33215–2014⁴, ГОСТ 33216–2014⁵, ГОСТ 33217–2014⁶, ГОСТ 33218–2014⁷, ГОСТ 33219–2014⁸, ГОСТ 34088–2017⁹. ГОСТы были введены в действие в 2014–2018 гг. в качестве национальных стандартов, имеющих статус рекомендательных документов.

В 2016–2018 гг. при поддержке Rus-LASA была издана трехтомная монография «Патоморфология лабораторной мыши» гистолога д.м.н. Василия Николаевича Манских, не имеющая аналогов на территории РФ, которая содержит атлас с фотографиями патологий, выявляемых у лабораторных мышей [4–6].

¹ Принципы и порядок проведения этической экспертизы экспериментов на животных в Европе. Краткий отчет рабочей группы FELASA по этической оценке экспериментов на животных (апрель, 2012 г.). https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Translation-Ethic-Report-FELASA_2012.pdf (дата обращения: 09.2025).

² Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (декабрь, 2012). https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf (дата обращения: 09.2025).

³ Приложение А к Европейской конвенции ETS № 123 «Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и в других научных целях». <https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Evropejskaya-Konvencziya-ETS123.pdf> (дата обращения: 09.2025).

⁴ ГОСТ 33215–2014 Межгосударственный стандарт руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур при работе с лабораторными животными.

⁵ ГОСТ 33216–2014 Межгосударственный стандарт руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами.

⁶ ГОСТ 33217–2014 Межгосударственный стандарт руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила работы с лабораторными хищными млекопитающими.

⁷ ГОСТ 33218–2014 Межгосударственный стандарт руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила работы с нечеловекообразными приматами.

⁸ ГОСТ 33219–2014 Межгосударственный стандарт руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила работы с рыбами, амфибиями и рептилиями.

⁹ ГОСТ 34088–2017 Межгосударственный стандарт руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за сельскохозяйственными животными



Рис. 1. Члены первого правления Rus-LASA и участники первого курса обучения вместе с проводившими его представителями FELASA, Jan-Bas Prins и Gemma Peretta

К 2017 г. членами Rus-LASA было подготовлено издание перевода 8-го американского «Руководства по содержанию и использованию лабораторных животных»¹⁰.

Кроме этого, с 2013 г. члены Rus-LASA занимаются организацией образовательных мероприятий — курсов и семинаров, способствующих повышению квалификации сотрудников, вовлеченных в экспериментальную работу с лабораторными животными. Для этого на начальном этапе были приглашены зарубежные специалисты, представители FELASA, прочитавшие в Москве курс «Caring for animals more specific (genetically altered) rodents» (при поддержке Fondazione Guido Bernardini, Италия), см. рис. 1.

Курс был разработан с учетом новых европейских рекомендаций по обучению и повышению квалификации будущих преподавателей в соответствии с концепцией «обучи тренера». Обучение прошли 20 человек из разных городов России — руководители вивариев, ветеринарные врачи, научные сотрудники, старшие технические специалисты и представители компаний, занимающихся поставкой лабораторного оборудования. После данного обучения уже в 2014 г. членами правления Rus-LASA был разработан и зарегистрирован в МГУ им. М.В. Ломоносова курс повышения квалификации «Современные методы научной работы с лабораторными грызунами в ходе доклинической разработки лекарственных средств» общей продолжительностью 50 ч (13 лекций и практические занятия). Особенность

¹⁰ Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных, 8-е издание. Перевод с английского И.В. Белозерцевой, Д.В. Блинова, М.С. Красильщиковой. Москва: Ирбис, 2017.

данного курса — высокие требования к качеству освоения знаний слушателями в соответствии с рекомендациями FELASA: в ходе практических занятий каждый обучающийся должен самостоятельно выполнять все манипуляции с животными, при этом кураторы контролируют корректность их проведения. В случае успешного прохождения тестирования по теоретической части и получения положительной оценки практических навыков слушатель наряду с сертификатом государственного образца также получает сертификат от Rus-LASA, в котором детально перечислены освоенные им манипуляции. К настоящему моменту данный курс был проведен в МГУ более 20 раз.

Кроме того, в 2013 г. в Москве на базе МГУ им. М.В. Ломоносова и в Санкт-Петербурге на базе ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России представителями компании Charles River Laboratories International, Inc были проведены два однодневных семинара, посвященных генетике и микробиологии лабораторных животных, организатором которых стала И.В. Белозерцева.

Rus-LASA — полноправный член мирового сообщества, популяризирующего в научной среде знания о лабораторных животных: с 2014 г. входит в Международный совет по науке о лабораторных животных (International Council of the Laboratory Animal Science, ICLAS) и является членом Федерации европейских ассоциаций по науке о лабораторных животных (Federation of European Laboratory Animal Science Associations, FELASA).

ICLAS задействована в сертификации лабораторий, анализирующих биологические образцы. Российская компания ООО «Белки-биотехнологии», занимавшаяся под руководством к.б.н. Екатерины Анатольевны Литвиновой (научный сотрудник Новосибирского государственного технического университета, член первого правления Rus-LASA) выявлением патогенов в образцах от лабораторных грызунов, успешно прошла проверку качества своей работы по программе ICLAS. Кроме того, ICLAS распределяет гранты на стажировку ветеринарных врачей и специалистов в области работы с лабораторными животными, и за период с 2013 по 2022 г. 9 членов Rus-LASA получили эти гранты и прошли обучение в научно-исследовательских центрах Испании, Италии, Греции, Франции и Ирландии. Нашим соотечественникам доступны также гранты ICLAS на магистерские программы для ветеринарных врачей, работающих с лабораторными животными. Такой грант дал возможность закончить полный курс обучения к.б.н. Дарье Михайловне Савиной (ветеринарный врач и заведующая виварием лабораторных животных ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, президент Rus-LASA с 2025 г.).

FELASA занимается разработкой международных рекомендаций по содержанию, ветеринарному обеспечению, манипуляциям с экспериментальными животными, организацией обучающих семинаров, аккредитацией учебных курсов в области LAS, а также 1 раз в 3 года проводит международный конгресс FELASA. Члены правления Rus-LASA ежегодно принимают участие в собраниях правления FELASA, в ходе которых определяются текущие задачи организации, контролируется активность рабочих групп, формируется стратегия деятельности FELASA на текущий год. С 2013 г. члены Rus-LASA принимают участие в конгрессах FELASA, проходящих в различных городах [2013, Барселона, Испания; 2016, Брюссель, Бельгия; 2019, Прага, Чехия; 2022, Марсель, Франция (онлайн); 2025, Афины, Греция]. По окончании Конгресса FELASA

Rus-LASA проводит открытые семинары, сообщая членам российского сообщества о современных мировых тенденциях в области LAS.

В FELASA действуют различные рабочие группы, собирающие и анализирующие научные данные, позволяющие разрабатывать и публиковать рекомендации по содержанию, уходу и использованию животных; в такую рабочую группу по вопросам отбора крови у лабораторных грызунов входит представитель Rus-LASA Олег Николаевич Демидов (профессор Научного центра генетики и наук о жизни университета «Сириус»). Другая рабочая группа FELASA отвечает за обучение тренеров в области классификации экспериментальных процедур на лабораторных животных по степени тяжести. В 2017 г. член правления Rus-LASA Екатерина Александровна Кушнир (к.б.н., руководитель отдела обеспечения качества ООО «НИИ Митоинженерии МГУ», ассистент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета, секретарь комиссии по биоэтике МГУ им. М.В. Ломоносова) прошла это обучение и впоследствии организовала 4 официальных семинара в России (Severity Workshops, SWs). Слушатели SWs получают сертификаты о прохождении обучения не только от FELASA, но и от Rus-LASA.

На регулярной основе Rus-LASA проводит собственные образовательные, научные и научно-практические семинары, доступные как очно, так и онлайн. В качестве докладчиков на семинарах Rus-LASA выступают ведущие эксперты, использующие лабораторных животных в своей научно-исследовательской деятельности, разработчики лабораторного оборудования, представители компаний-производителей.

В 2019 г. Rus-LASA при финансовой поддержке компании ООО «Фармбилайн» (генеральный директор Андрей Святославович Старовойтов) объявила конкурс на краткосрочные исследовательские проекты в области LAS, по результатам которого были поддержаны 3 проекта, а статьи по выполненным исследованиям опубликованы в отраслевом научно-практическом журнале «Лабораторные животные для научных исследований»¹¹ [2, 3, 7].

С 2020 г. члены Rus-LASA входят в научный и организационный комитет ежегодной конференции «Экспериментальная хирургия, анестезиология и реаниматология»¹². На конференции обсуждаются вопросы анестезии и хирургических вмешательств при моделировании различных критических состояний организма (тяжелая травма, кровопотеря, шок, сепсис, тяжелая органная дисфункция и др.) на лабораторных животных. По итогам конференции, прошедшей в 2022 г., членами Rus-LASA была выпущена статья, касающаяся этической экспертизы экспериментальных исследований на лабораторных животных, включающих хирургические вмешательства [1].

Одним из важнейших мероприятий Rus-LASA, направленных на создание сообщества специалистов по лабораторным животным, являются ежегодные научно-практические конференции. На конференциях Rus-LASA широко представлена выставка оборудования и материалов для работы с лабораторными животными, организуются обучающие мастер-классы по устройству вивариев, работе с лабора-

¹¹ <https://labanimalsjournal.ru> (дата обращения: 09.2025).

¹² <https://preclinical.confreg.org> (дата обращения: 09.2025).



Рис. 2. Члены правления Rus-LASA на научно-практической Школе «Технологические процессы в современном виварии — 2025»

торным оборудованием, манипуляциям с грызунами, по организации деятельности этических комиссий, ведению документооборота в области доклинических испытаний и т.п. С 2011 г. конференции Rus-LASA проводились в разных городах и регионах России: Москве (2011 г.), Санкт-Петербурге (2012, 2014 г.), Новосибирске (2013 г.), Белгороде (2015 г.), Рязани (2017 г.), Нижнем Новгороде (2018 г.), Пущино (2020 г.), Сколково (2021 г.), а участие в них принимали не только российские специалисты, но и ученые из ближнего (Белоруссия, Казахстан) и дальнего зарубежья (Италия, Испания, Франция, Бельгия, Чехия, Финляндия, Швеция, Голландия, Китай).

После 2022 г. тематический акцент на ежегодных мероприятиях Rus-LASA сместился в направлении обучения технического персонала вивариев. С 2023 г. они проводятся в формате школ-конференций, на которых лекции, а также мастер-классы ориентированы в первую очередь на повышение квалификации сотрудников, ухаживающих за лабораторными животными и проводящих с ними простые манипуляции (рис. 2). В то же время на занятиях школы, намеченной на второй квартал 2026 г. и посвященной юбилею Rus-LASA (Ассоциации исполняется 15 лет!) планируется проводить не только лекции и мастер-классы для технического персонала, но и научные сессии для всех интересующихся LAS.

В 2020 г. д.м.н. Марина Николаевна Макарова, директор АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» и д.м.н., профессор Валерий Геннадьевич Макаров, научный руководитель данного АО, учредившие конференцию GLP-PLANET¹³, пригласили Rus-LASA участвовать в организации этого мероприятия. В итоге, с 2020 года Rus-LASA проводит в его рамках научные сессии и мастер-классы по тематике LAS.

¹³ <https://glp-planet.com> (дата обращения: 09.2025).

На площадке VI конференции GLP-PLANET (2–4 августа 2025 г.) вот уже второй раз члены правления Rus-LASA Максим Львович Ловать (ведущий научный сотрудник кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ, руководитель испытательного центра «Виварно-экспериментальный комплекс ООО «НИИ Митоинженерии МГУ») и Егор Дмитриевич Ивлев (научный сотрудник лаборатории функционального анализа ФГБНУ «МГНЦ») организовали и провели сессию «Нейробиология *in vivo*». На сессии выступили 14 ведущих специалистов, среди которых были сотрудники, занимающиеся изучением теоретических основ работы мозга и лучшие методисты в области нейробиологии. В их докладах были освещены вопросы моделирования патологии нервной системы на позвоночных животных, а также представлены новые фармакологические средства и подходы к изучению их эффективности в терапии нейродегенеративных заболеваний. Особенностью данной сессии стало внимание к техническим деталям постановки экспериментов, нюансам их методик, условиям содержания и ухода за животными, к влиянию этих факторов на эффекты изучаемых препаратов, а также анализу и трактовке получаемых результатов. В частности, было показано, что в ряде традиционно используемых поведенческих установок у животных разных линий/стоков, пола, возраста могут наблюдаться неожиданные или невоспроизводимые результаты. Отсутствие внимания к некоторым, на первый взгляд мелким деталям проведения процедуры, может оказывать существенное влияние на исход экспериментов. Осмысление подобных сведений позволяет улучшать качество планируемых экспериментов и адекватно оценивать опубликованные исследования.

На конференции 2025 г. впервые была организована сессия «Лабораторное животноводство» (председатель Е.Д. Ивлев), на которую были приглашены представители питомников, институтов и других учреждений, занимающихся разведением различных лабораторных животных. К сожалению, в нашей стране отсутствуют единые правила и стандарты содержания и разведения лабораторных животных в питомниках, и на сессии было представлено 12 докладов, в которых обсуждались современные проблемы и направления развития этой отрасли. По мнению многих участников, только совместная работа и централизованный подход питомников помогут решить эти вопросы, а дальнейшая работа в рамках сессии конференции GLP-PLANET позволит двигаться в этом направлении.

Д.М. Савина организовала и провела мастер-класс «Подводные камни при планировании и проведении экспериментальной работы или откуда берутся результаты исследований, которым нельзя слепо верить». В рамках мастер-класса обсуждали такие важные аспекты, как определение экспериментальной единицы, способы рандомизации, ослепление, номенклатура животных и др. Д.М. Савина представила современные информационные ресурсы и инструменты по перечисленным темам. В частности, обсуждали способ оценки качества публикаций экспериментальных работ на животных с использованием инструмента определения риска смещения (SYRCLE's Risk of Bias tool) [8].

Е.А. Кушнир во второй раз в рамках конференции GLP-PLANET провела круглый стол, касающийся этической экспертизы исследований с использованием животных — «Как организовать деятельность этической комиссии?». На этом мероприятии были представлены сообщения специалистов разных профилей — философов,

регуляторов, членов локальных «этических» органов различных организаций, рассматривающих вопросы использования лабораторных животных в научно-исследовательской практике. Сообщения касались наименования органов, осуществляющих оценку проектов исследований на животных; полномочий и границ сферы их деятельности; критериев для принятия решений об одобрении или отклонении заявок на использование животных в экспериментах; их ретроспективной оценки и др. Каждый доклад вызывал оживленную дискуссию, поскольку в отсутствие нормативного регулирования процедуры этической экспертизы в России в учреждении формировались собственные подходы к решению обсуждавшихся вопросов. В продолжение работы круглого стола планируется публикация собственных рекомендаций Rus-LASA, касающихся процедуры оценки проектов исследований на животных российскими комиссиями по биоэтике, основанная на собранных мнениях и предложениях.

В рамках конференции GLP-PLANET VI был уже не впервые проведен мастер-класс по оценке степени тяжести процедур (Severity Workshop, SW) на примере модели с иммунодефицитными мышами. В этот раз обучение проходило на английском языке под наблюдением Dolores Bonaparte (Португалия) — руководителя группы основных тренеров FELASA по проведению SWs. Мастер-класс организовала и проводила кандидат в официальные тренеры Ксения Игоревна Петрова (руководитель отдела обеспечения качества ООО «НИИ ХимПар») при ассистировании Е.А. Кушнир — официального тренера SWs. В нем приняли участие 9 слушателей, по окончании получившие сертификаты участия от Rus-LASA и FELASA.

Кроме прочего, в рамках конференции GLP-PLANET VI прошло общее собрание членов Ассоциации (16 человек присутствовали очно и 8 — онлайн, что соответствовало кворуму по требованиям устава Ассоциации) под председательством президента Ассоциации Д.М. Савиной (секретарь — член правления Rus-LASA Мария Сергеевна Дуброва). На собрании был заслушан годовой отчет президента Ассоциации с информацией об организованных Rus-LASA образовательных мероприятиях, а также представлены финансовый отчет и данные о количественном составе Ассоциации (41 участник). Кроме того, обсуждали новости в работе FELASA, текущую деятельность и планы на следующий отчетный период.

Особое внимание было уделено обсуждению новой инициативы Ассоциации, а именно — принятию текста Декларации Rus-LASA2025 о защите животных, используемых в научных, технологических и образовательных целях. Декларация Rus-LASA2025 является официальной позицией сообщества специалистов по лабораторным животным и содержит указание на этические ориентиры, лежащие в основе правил содержания и обращения с животными при использовании их в исследованиях, обучении, а также разработке и тестировании медицинских продуктов (лекарственных препаратов и медицинских изделий). Все желающие могут добровольно присоединиться к Декларации Rus-LASA2025 (приложение 1). Солидарность с Декларацией будет означать согласие со всеми ее тезисами и готовность содействовать их выполнению в работе с лабораторными животными. Присоединение к Декларации может иметь репутационный смысл для организации и ее представителей. Процедура добровольного присоединения (как лично, так и от лица организации) к Декларации Rus-LASA2025 заключается в заполнении

электронной формы¹⁴. На сайте Rus-LASA могут быть размещены логотипы добровольно присоединившихся к Декларации учреждений.

Представители Rus-LASA придерживаются мнения о том, что наука — это фундамент, позволяющий человечеству развиваться и созидать, а лабораторные животные — один из столпов биомедицинских исследований. Любое развитие возможно лишь при сотрудничестве и обмене опытом, в связи с чем Rus-LASA стремится сохранять научные и практические связи, объединять коллег как внутри страны, так и за ее пределами, прикладывая все усилия для максимально широкого распространения знаний LAS и повышения качества исследований на животных.

Все новости и информация, касающаяся мероприятий Rus-LASA, публикуются на сайте Ассоциации¹⁵, а также освещаются в телеграм-канале Rus-LASA Live¹⁶.

¹⁴ <https://forms.yandex.ru/u/685be72f068ff01070032caa/> (дата обращения: 09.2025).

¹⁵ www.ruslasa.ru (дата обращения: 09.2025).

¹⁶ Rus-LASA Live. <https://t.me/+nGCIfPNuPC5iYzgy>.

Приложение 1

Декларация Rus-LASA2025

1. На данном этапе развития науки прогресс познания невозможен без использования животных как объектов исследования и в качестве тест-систем.
2. Использование в научных, технологических и образовательных целях животных, в отношении которых установлено, что они могут испытывать боль, дистресс и страдания, допускается при условии этического одобрения соответствующего проекта.
3. Этическую экспертизу проектов экспериментальных работ с животными должны осуществлять специальные компетентные органы учреждений, руководствующиеся оценкой соотношения вреда, наносимого животным в процессе их использования, и потенциальной пользы от реализованного проекта.
4. Одобрение проекта использования животных в научных, технологических и образовательных целях допускается при соблюдении в нем принципов замещения, сокращения и усовершенствования (принципы 3Rs — replacement, reduction and refinement). В проекте должно быть обосновано отсутствие возможности замены животных альтернативными методами и объектами (принцип замещения). Исследователи должны применять методы, позволяющие минимизировать количество используемых животных (принцип сокращения). Должны быть описаны все возможные меры по предотвращению (или своевременному устранению) боли, дистресса, страдания и повреждений, имеющих долговременные негативные последствия, которых можно избежать (принцип усовершенствования).
5. Условия содержания животных должны соответствовать их видовым потребностям, им необходимо предоставить все жизненно важные ресурсы, а также уход, учитывающий состояние их здоровья и обеспечивающий их благополучие. Все ограничения, из-за которых животные не могут полностью удовлетворять свои физиологические и этологические потребности, должны быть обоснованы в условиях запланированного эксперимента, сведены к минимуму и отражены в заявке на этическую экспертизу. Животным необходимо обеспечить своевременную и достаточную ветеринарную помощь.
6. При проведении болезненных манипуляций надлежит применять эффективные для данного вида животных и разрешенные нормативными документами приемы и методы обезболивания. Тяжесть страданий животных должна быть сведена к минимуму, а их состояние в ходе содержания и во время экспериментов должно контролировать лицо, ответственное за благополучие животных, с периодичностью, позволяющей предотвратить его ухудшение. Тяжелые и длительные страдания животных без возможности их скорейшего облегчения недопустимы.

7. При наступлении тяжелых страданий экспериментальное воздействие необходимо прекращать. В случае, когда облегчить страдание животного не представляется возможным, немедленно применяется гуманное умерщвление (эвтаназия).
8. Умерщвление животных должно осуществляться приемлемым для конкретного вида животных методом, не оказывающим влияния на результат и ход эксперимента. Утилизация мертвых тел животных допускается только после констатации квалифицированным сотрудником факта наступления смерти животных.
9. Все приемы, позволяющие обеспечить соблюдение принципов 3Rs, должны быть описаны в проекте использования животных, подаваемом на этическую экспертизу.
10. Сотрудники, работающие с животными, должны обладать достаточной квалификацией и опытом, чтобы соблюдать принципы 3Rs на практике.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акимов Д.Ю., Кушнир Е.А., Ловать М.Л. и др. Подходы к организации этической экспертизы научно-исследовательских работ, выполняемых на лабораторных животных. В книге: Консультант GLP-PLANET 2023. Мнение фармацевтической отрасли. Санкт-Петербург, 2023. С. 221–246. DOI: [10.57034/978-5-6048955-2-8-s10](https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-2-8-s10).
2. Андреев-Андриевский А.А., Лагерева Е.А., Панькова Н.В. и др. Хроническая катетеризация мочевого пузыря, но не метаболические камеры, позволяет получать точные данные о диурезе мышей // Лабораторные животные для научных исследований. 2022. № 2. С. 4–13. DOI: [10.29296/2618723X-2022-02-01](https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-02-01).
3. Кибиткина А.А., Василевская Е.Р., Толмачева Г.С. и др. Поведенческие и репродуктивные характеристики гетерозиготных нокаутных мышей по гену TRH2 // Лабораторные животные для научных исследований. 2021. № 3. С. 3–10. DOI: [10.29296/2618723X-2021-03-01](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-03-01).
4. Манских В.Н. Патоморфология лабораторной мыши Т. 1. Технические аспекты. Общая и органная патология. Москва: ВАКО, 2016.
5. Манских В.Н. Патоморфология лабораторной мыши. Т. 2. Патоморфология заболеваний. Характеристика патологий у отдельных линий. Определение причин смерти. Москва: ВАКО, 2018.
6. Манских В.Н. Патоморфология лабораторной мыши Т. 3. Атлас. Москва: ВАКО, 2017.
7. Морозова М.В., Калмыкова Г.В., Акулова Н.И. и др. Определение содержания бактерий рода *Bacillus* в корме и фекалиях лабораторных мышей при содержании в стерильных и нестерильных условиях // Лабораторные животные для научных исследований. 2021. № 3. С. 11–16. DOI: [10.29296/2618723X-2021-03-02](https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-03-02).
8. Hooijmans C.R., Rovers M.M., de Vries R.B. et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies // BMC Med. Res. Methodol. 2014. Vol. 14. P. 43. DOI: [10.1186/1471-2288-14-43](https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43).

**Тезисы конференции
GLP-PLANET VI**

Исследование анальгетической и противовоспалительной активности производных 3-пирролин-2-онов

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-t1>

Агафонова Милена Александровна
Сенокосова О. О., Рудакова И. П., Дианова Д. Г.

ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, Пермь
rudakova.i@list.ru

Для современной медицины и фармации актуальным является поиск веществ, обладающих суммой анальгетического и противовоспалительного действия (Каратаев А.Е., Каратаев Д.Е., 2017).

Цель работы

Изучение анальгетической и противовоспалительной активности производных 3-пирролин-2-онов, синтезированных на кафедре общей и органической химии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия».

Методы

Анальгетическую активность определяли на белых нелинейных мышах обоего пола, половозрелых, массой 22–30 г, содержащихся на обычном рационе вивария, по методике «уксусных корчей» (Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. и др., 2012). Противовоспалительную активность исследовали на крысах массой 220–250 г., обоего пола на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы водного раствора каррагинина (Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. и др., 2012). Исследуемые вещества вводили перорально в дозе 50 мг/кг. В качестве эталонов сравнения использованы метамизол натрия и нимесулид. Данные эксперимента обработаны статистически.

Благополучие животных

Изучение биологической активности проводилось с разрешения Этического комитета ПГФА (протокол № 8, заявка № 08-24-н-ж от 25.03.2024 г.). Исследование соединения *in vivo* проведено на достаточном количестве животных с соблюдением всех мер по биологической безопасности.

Результаты

В ряду производных 3-пирролин-2-онов обнаружены соединения, которые проявили статистически значимую по сравнению с контрольными результатами анальгетическую и противовоспалительную активность, их эффекты оказались сопоставимы с действием препаратов сравнения — метамизола натрия и нимесулида. Наиболее активное вещество вызывает торможение патологических реакций, достигающее 53%.

Выводы

Полученные данные свидетельствуют о перспективности поиска активных соединений в ряду производных 3-пирролин-2-онов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каратаев А.Е., Каратаев Д.Е., Давыдов О.С. Боль и воспаление. Часть 2. Анальгетический потенциал противовоспалительных препаратов // Научно-практическая ревматология. 2017. Т. 55. №. 1. С. 58–67. DOI: [10.14412/1995-4484-2017-58-67](https://doi.org/10.14412/1995-4484-2017-58-67).
2. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств // Миронов А.Н., Бунатян Н. Д и др. // Часть первая. М.: 2012. 944 с.

Фармакологическая активность новых 4-арил-3-R- 2,4-диоксобутеноатов гетериламмония

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-t2>

Канахина Алиса Сергеевна
Пономарева Ю.В., Собин Ф.В., Пулина Н.А., Старкова А.В., Зыкова С.С., Рудакова И.П.,
Намятова К.В.

*Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь
fff-2005@mail.ru*

Актуальность

Антикоагулянты широко применяются в медицинской практике. Однако, ассортимент их ограничен, а известные лекарственные препараты не лишены некоторых побочных действий и нежелательных явлений. Таким образом, поиск новых биологически активных соединений с антикоагулянтным действием и сопутствующими синергическими эффектами является актуальным.

Цель работы

Изучить антикоагулянтную и антиоксидантную активность новых 4-арил-3-R-2,4-диоксобутеноатов гетериламмония.

Методы

Антикоагулянтное действие 4-арил-3-R-2,4-диоксобутеноатов гетериламмония проводили на коагулометре «Минилаб 701 с использованием цитратной (3,8%) крови кроликов «шиншилла» в соотношении 9:1. В кювету помещали 100 мкл крови и добавляли 100 мкл 0,2% раствора исследуемого соединения; в контрольных исследованиях вместо вещества добавляли 100 мкл изотонического раствора хлорида натрия. В качестве препарата сравнения использовали 50 мкл раствора этамзилата в концентрации 0,2% и гепарина в концентрации 1 ед на мл крови. Пробы инку-

бирова́ли в течение 60 с, затем добавляли 100 мкл 1% раствора хлорида кальция и измеряли время свертывания крови механическим способом (Анализатор показателей гемостаза МИНИЛАБ 701). Оценка антиоксидантной активности проводилась на модели окислительного стресса с использованием биосенсора *E. coli* штамм «Эколюм». Индукция окислительного стресса создавалась путем добавления 3% раствора пероксида водорода. Измерение флуоресценции проводили с применением микропланшетного ридера Synergy H1 (Biotek, США). В качестве эталона сравнения использовался Тролокс.

Благополучие животных

Содержание животных и все исследования проводились согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ с учетом рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных.

Результаты

Изучена антикоагулянтная и антирадикальная активность новых 4-арил-3-R-2,4-диоксобутеноатов гетериламмония. Обнаружены соединения с выраженной фармакологической активностью, два из которых превышают показатели антиоксидантной активности препарата сравнения.

Выводы

Результаты исследований показывают перспективность проводимых исследований, и будут нами использованы в дальнейшем целенаправленном поиске биологически активных соединений в ряду 4-арил-3-R-2,4-диоксобутеноатов гетериламмония.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализатор показателей гемостаза МИНИЛАБ 701. Техническое описание и инструкция по эксплуатации. Москва: АО Юнимед, 2002. 36 с.

Изучение фармако-токсикологических показателей оксованадиевого комплекса КАИ-19, проявляющего гипогликемическую активность

<https://doi.org/10.57034/978-5-6048955-3-5-t3>

Павлова Анна Николаевна
Краснова А.И., Пулина Н.А.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь
krasnova_ai@mail.ru*

Поиск новых высокоэффективных и безопасных сахароснижающих средств является актуальной задачей здравоохранения Российской Федерации.

Цель работы

Изучение нейротоксичности комплекса КАИ-19, у которого ранее была выявлена гипогликемическая активность (Краснова А.И., Юшкова Т.А. и др., 2024).

Методы

Скрининг ряда показателей нейротоксичности хелата КАИ-19 проводили на белых нелинейных крысах обоего пола в тестах: «удерживание на вращающемся стержне», «подтягивание на горизонтальной перекладине» и «адгезивный тест» (Миронов А.Н., Бунятян Н.Д. и др., 2012). В тесте «вращающийся стержень» регистрировали способность животных удерживаться на вращающемся со скоростью 8 об/мин стержне в течение 1 минуты и латентный период первого падения. В тесте «подтягивание на горизонтальной перекладине» крыс подвешивали передними лапами на натянутую проволоку и фиксировали возможность животных подтянуться. Адгезивный тест моделировали путем нанесения на передние лапы животных полосок клейкой

ленты с фиксацией в течение 3-х минут времени их обнаружения и удаления с каждой из лап. КАИ-19 вводили в дозе 50 мг/кг за 60 минут до начала экспериментов, контрольной группе вводили воду очищенную. Осуществлен статистический анализ полученных данных. Экспериментальные работы были одобрены комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава РФ (протокол № 5 от 15.01.2024). Исследовательский персонал имеет соответствующую квалификацию и обладает достаточным практическим опытом в данной области исследований.

Благополучие животных

Животные содержались в стандартных условиях вивария группами не более шести особей в одной клетке со свободным доступом к пище и воде. Содержание животных и все манипуляции с ними во время проведения исследований выполнялись с соблюдением всех правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ.

Результаты

Установлено, что при применении оксованадиевого хелата КАИ-19 не наблюдалось падений с вращающегося стержня, показатели подтягивания крыс также статистически значимо не отличались от данных контрольной группы. Введение КАИ-19 не сопровождалось нарушениями сенсорной чувствительности и моторных функций — латентный период обнаружения животными адгезивного материала статистически значимо сокращался, его удаление с обеих конечностей происходило в приблизительно равные промежутки времени, что свидетельствует об отсутствии неврологических нарушений.

Выводы

Результаты свидетельствуют об отсутствии острых проявлений нейротоксичности у животных в описанных фармакологических тестах при введении хелата КАИ-19.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Краснова А.И., Юшкова Т.А. и др. Гипогликемическая активность бис [3-(4-хлорфенил)-1-(4-метилфенил)карбоксамидо-1,3-пропандионато] оксованадия в условиях экспериментального сахарного диабета // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2024. Т. 87. № 10. С. 8–12. DOI: [10.30906/0869-2092-2024-87-10-8-12](https://doi.org/10.30906/0869-2092-2024-87-10-8-12).
2. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Москва: Гриф и К, 2012.

FarmBioLine

Подходит ли предложенное оборудование под задачи объекта?

Принятые проектные решения вызывают сомнения?

Находитесь в поиске проектной организации?

Компания «Фармбилайн» занимает ключевую позицию на российском рынке, предоставляя современное оборудование и комплексные решения для вивариев **более 20 лет**



Услуги по экспертизе и разработке планировочных решений и технологий:

Питомников лабораторных животных, вивариев с биодемиями различного статуса здоровья и работы с ПБА (1-4) групп.



Поставка Оборудования

Для содержания лабораторных животных, моечно-дезинфекционных отделений, проведения физиологических и поведенческих исследований, а также различных манипуляций



Установка оборудования, ввод в эксплуатацию и обслуживание

Сертифицированные специалисты компании выполняют монтаж и ввод в эксплуатацию оборудования, проведут обучающие тренинги персонала Заказчика, обеспечат сервисное и гарантийное обслуживание



8 (812) 500-71-72



194100, г. Санкт-Петербург, пр-кт Большой Сампсониевский, дом 82, литера А



WWW.FARMBIOLINE.RU



INFO@FARMBIOLINE.RU

«СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ»



ООО БИОГЕН-АНАЛИТИКА специализируется на поставках лабораторного оборудования широкого спектра. Главная цель – содействие развитию российской науки путем внедрения передовых технологий и инноваций.

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ СИСТЕМА VINNO 8

Интеллектуальный рабочий процесс

15-дюймовый монитор с высоким разрешением

Компактный и легкий дизайн

Сверхчувствительная интеллектуальная сенсорная панель 8 дюймов



VINNO – премиальный китайский производитель ультразвуковых аппаратов уровня ведущих мировых брендов с превосходным изображением и широким набором инновационных приложений по доступной цене.

Эксклюзивный дизайн в сочетании с мощнейшими возможностями.

Экспертная система премиум-класса с уникальнейшей производительностью, которая сочетает в себе передовую технологию зональной визуализации, интеллектуальный рабочий процесс, компактный и легкий дизайн.

Основное преимущество портативных аппаратов VINNO – вес 3,5 кг.

На сегодняшний день это одна из самых лёгких систем в своём классе.

СИСТЕМА 3D-ВИЗУАЛИЗАЦИИ МЕЛКИХ ЖИВОТНЫХ ANIVIEW KIRIN IN VIVO

AniView Kirin In Vivo – высокочувствительная, многофункциональная, биолюминесцентная и флуоресцентная система 3D-визуализации мелких лабораторных животных.

Сочетает 2D и 3D-визуализации, имея функции оптической визуализации in vivo: биолюминесценция, флуоресценция, черенковская визуализация, 3D-реконструкция и спектральное разделение.

Лучшее соотношение цены и качества!

Высокая чувствительность обнаружения – сверхчувствительная научная ПЗС-камера обеспечивает ранний мониторинг роста опухоли и отслеживание метастазов в режиме реального времени.

Точная 3D-визуализация – система объединяет 3D-лазерный сканер и передовые алгоритмы реконструкции для получения точной локализации и информации о глубине биолюминесцентных и флуоресцентных сигналов внутри животного.

Мощный источник проходящего света – обеспечивает более глубокое проникновение в ткани, что позволяет более эффективно обнаруживать сигналы из глубоко расположенных органов.

Широкий спектр исследований – идеально подходит для исследований в области онкологии, иммунологии, отслеживания стволовых клеток, генной терапии и др.

Сверхчувствительная научная ПЗС-камера

Охлаждение до -100С

12 световых фильтров возбуждения, 18 фильтров эмиссии

Точное моделирование животного и источника сигнала в 3D режиме

Встроенная система анестезии и обогрева животных



**ВАШИ ЗАДАЧИ –
НАШИ РЕШЕНИЯ!**



+7 499 704 62 44
+7 495 220 94 85

info@bga.ru
84997046244@bga.su

www.bga.ru

127422, г. Москва, Тимирязевская ул., д. 1, корп. 2



AWTech
Advanced Worldwide Technologies

INPREN
Институт Инновационного
Проектирования и Инжиниринга

Мы не просто строим виварии. Мы проектируем среду для научных прорывов. От концепции «на бумаге» до обучения вашего персонала — реализуем проекты «под ключ» в полном соответствии с российскими и международными стандартами (СанПиН, ГОСТ, ISO, GLP и др.).

ВИВАРИЙ ПОД КЛЮЧ!

От идеи до Нобелевской премии!!!

Узнайте подробности о технологиях,
которые изменят ваш подход
к исследованиям!



Группа компаний «АВТех»

127566 Россия, Москва,
Алтуфьевское шоссе, д. 48, корп. 1
+7 (499) 322-99-34 | +7 (999) 078-72-69
info@awt.ru | www.awt.ru

КОМПЛЕКСНЫЕ ПОСТАВКИ КОРМОВ И ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ РАБОТЫ С ЛАБОРАТОРНЫМИ ЖИВОТНЫМИ

- стеллажи
- модульные клетки
- подстилы
- корма
- оборудование для изучения поведения лабораторных животных

+74997058565
gz@vetkt.ru



производим по индивидуальным требованиям

BIO LINE LIFE SCIENCE



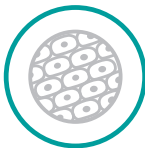
Группа компаний «БиоЛайн» сотрудничает с ведущими инновационными мировыми компаниями, предлагая различные технологии и оборудование для исследований *in vivo* и *in vitro* при разработке лекарственных препаратов



Молекулярная биология
и протеомика



Клеточная биология



Гистология



Исследования
на лабораторных животных



Общелабораторное
оборудование

ООО «БиоЛайн»
Россия, 197022,
Санкт-Петербург,
ул. Профессора Попова,
дом 23, литера Е
тел.: +7 (812) 320 49 49
e-mail: main@bioline.ru
bioline.ru

Москва, тел.: +7 (800) 555 49 40
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (928) 192 90 40
Н. Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47
Екатеринбург, тел.: +7 (922) 119 70 44
Уфа, тел.: +7 (937) 855 78 52
Казань, тел.: +7 (937) 593 39 44
Самара, тел.: +7 (927) 688 28 49
Хабаровск, тел.: +7 (924) 203 10 5

РЕШЕНИЯ ДЛЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ



ЛИНЕЙКА ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ И РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ EPREDIA

обеспечивает полный цикл подготовки гистологического препарата для исследования под микроскопом, от маркировки образцов до специализированных методов окрашивания, в том числе иммуногистохимии.

МРТ ДЛЯ МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

QMR06-90H – анализатор композиционного состава тела мелких лабораторных животных.

Экспресс метод для определения содержания жировой, мышечной ткани и свободной воды.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ:

- Доклинические исследования роли и механизма действия препаратов для лечения ожирения и осложнений, вызванных ожирением, диабета
- Исследования генной терапии резистентности к инсулину, токсикологии



СКАНЕРЫ С ВЫСОКОЙ РАЗРЕШАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ ZNHISTECH PANNORAMIC –

это уникальные системы получения высокоточных изображений гистологических и цитологических препаратов.

- Широкая линейка приборов
- Качественная оптика
- Мультиканальная флуоресценция
- Программное обеспечение для автоматического количественного анализа
- Телеконсультации и обучение



**РЕШЕНИЕ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ
ПРОИЗВОДСТВ** – от разработки стабильных клеточных линий до контроля биотехнологического процесса.



ТехноИнфо
Технологии открытий

Ваши задачи —
наши решения!

Аналитическое оборудование для LifeScience



ПОВЕРХНОСТНЫЙ
ПЛАЗМОННЫЙ РЕЗОНАНС

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ
СПЕКТРОСКОПИЯ

ИМИДЖИНГ IN VIVO

ТОМОГРАФИЯ

СТАНЦИИ
ПРОБОПОДГОТОВКИ

СПЕКТРОСКОПИЯ
КРУГОВОГО ДИХРОИЗМ

Мы обеспечиваем полный комплекс услуг:



Подбор
оборудования



Поставка
и пусконаладка



Обучение и
методическая
поддержка



Сервисное
обслуживание

ООО «Техноинфо»

info@technoinfo.ru





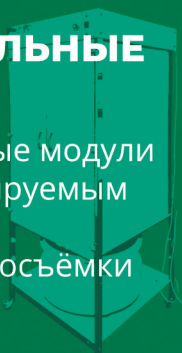
Компания «НПК Открытая Наука» производит лабораторное оборудование для исследований в области поведенческой нейронауки, а также доклинических испытаний биологически-активных соединений



20 ЛЕТ
мы развиваем
ОСНОВНЫХ
4 направления

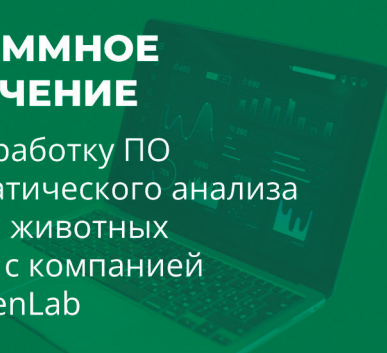
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ

Производим разборные модули со встроенным регулируемым освещением и возможностью видеосъёмки поведения животных



ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ

Ведём разработку ПО для автоматического анализа поведения животных совместно с компанией NeuroScreenLab



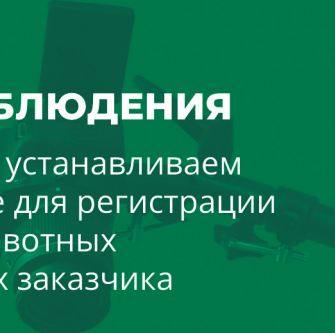
ЛАБОРАТОРНЫЕ УСТАНОВКИ

Производим арены и лабиринты для оценки моторных, ассоциативных и когнитивных функций у различных животных



СИСТЕМЫ ВИДЕОНАБЛЮДЕНИЯ

Проектируем, устанавливаем оборудование для регистрации поведения животных в помещениях заказчика



Мы поддерживаем горячую линию по вопросам поведенческого эксперимента

+ 7 915 251-90-10

✉ info@openscience.ru

🌐 openscience.ru



ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

для научных исследований

Миссией журнала «Лабораторные животные для научных исследований» является популяризация гуманного обращения с лабораторными животными, расширение знаний в области зоотехнии разных видов и референсных интервалов различных показателей. Освещаются вопросы, связанные с разработкой и стандартизацией новых экспериментальных моделей, а также с использованием альтернативных видов животных. Журнал является открытой площадкой для свободной дискуссии, обмена опытом и идеями ученых.

ПОДПИШИТЕСЬ
БЕСПЛАТНО



ЖУРНАЛ
ВЫХОДИТ

4 раз
в год

В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

ВАК (К2), РИНЦ

САЙТ ЖУРНАЛА www.labanimalsjournal.ru

E-MAIL

info@labanimalsjournal.ru

submit@labanimalsjournal.ru

(для общих вопросов)

(для подачи рукописей)

Консультант GLP-PLANET 2025 Мнение фармацевтической отрасли

Монография

Ответственный редактор: Л.В. Кузнецова

Корректор: В.М. Замаева

Дизайн обложки: А.Г. Асеева

Компьютерная верстка: А.В. Замараев

Координаторы проекта: М.А. Ковалева и А.И. Мискарян

НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»

<https://doclinika.ru>

E-mail: info@doclinika.ru

ISBN 978-5-6048955-3-5



9 785604 895535