

DOI: 10.15825/1995-1191-2017-4-104-112

ОПЫТ ОРГАНИЗАЦИИ И ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ФГБУ «НМИЦ ТИО ИМЕНИ АКАД. В.И. ШУМАКОВА»

М.Ю. Шагидулин^{1, 2}, Е.А. Волкова¹, С.Т. Метельский¹, В.И. Севастьянов¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Кратко рассмотрены опыт организации, правила планирования и проведения экспериментальных работ в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России. Каждая научно-исследовательская работа, в которой предполагается использование лабораторных животных, должна быть организована, спланирована и выполнена в соответствии с национальными и международными стандартами, определяющими основные положения и правила гуманного отношения к животным. Рассмотрен общий алгоритм проведения экспериментального исследования: формулировка цели и задачи исследования с обоснованием необходимости использования лабораторных животных; выбор видов животных и методов исследования; разработка дизайна эксперимента с определением массива регистрируемых показателей, частоты их мониторинга и сроков проведения ЭИ; проведение эксперимента; статистическая обработка и интерпретация полученных результатов; подготовка научного отчета.

Ключевые слова: экспериментальные исследования, лабораторные животные, национальные и международные стандарты, правила проведения экспериментов.

EXPERIENCE OF ORGANIZING AND MANAGEMENT OF EXPERIMENTAL RESEARCHES ON ANIMALS IN V.I. SHUMAKOV NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTER OF TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS

M.Yu. Shagidulin^{1, 2}, E.A. Volkova¹, S.T. Metelsky¹, V.I. Sevastianov¹

¹ V.I. Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

This review briefly discusses the experience of organizing and carrying out experimental studies in our center in order to increase the validity of the researches. The rules of organizational and methodological approaches aimed at increasing the suitability of the results of experimental studies are also given. Each research work in which experiments on laboratory animals are supposed to be carried out should be organized, planned and carried out in accordance with national and international ethical standards. Discussion and publication of both planned and conducted experimental work makes it possible to make the research process more open and objective. The experimental investigation is carried out in the following algorithm: the formulation of the problem and

Для корреспонденции: Шагидулин Мурат Юнусович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (915) 260-82-84. E-mail: dr.shagidulin@mail.ru

For correspondence: Shagidulin Murat Yunusovich. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. (915) 260-82-84. E-mail: dr.shagidulin@mail.ru

the hypothesis on the basis of the literature data; development of the purpose and objectives of the study with adequate methods and selection of equipment; distribution of material to control and trial groups; creation of a plan for monitoring the indicators during the experiment; processing and interpretation of results; preparation of a scientific report.

Key words: experimental research, laboratory animals, national and international standards, regulation of management experiments.

ВВЕДЕНИЕ

Необходимость гармонизации отечественных норм и правил проведения доклинических исследований с международными документами требует стандартизации методических подходов и принципов, разработки и внедрения алгоритма планирования и проведения экспериментальных исследований с использованием лабораторных животных.

В настоящее время лабораторные животные используются в биомедицинских исследованиях для проверки научных гипотез и идей, для разработки и проведения доклинических испытаний биологической безопасности и функциональной эффективности новых медицинских изделий и лекарственных препаратов и технологий лечения различных заболеваний на их основе. Экспериментальные исследования (ЭИ) с использованием лабораторных животных проводятся в строгом соответствии с законодательством Российской Федерации и с соблюдением определенных этических норм. Основные нормативные и этические принципы проведения экспериментов с использованием животных изложены в целом ряде международных [1–3], государственных [4, 5] и национальных и ведомственных [6–13] нормативных документах.

ЭИ на животных являются важным, а часто и единственным методом изучения биологических реакций на воздействие различных факторов. И хотя для реализации задач в экспериментах на животных часто приходится применять методические приемы, недоступные в исследованиях на человеке, существует общепризнанная необходимость строго придерживаться принципов гуманного отношения к животным как объектам исследования. К числу наиболее общих из этих принципов относятся:

- наличие убедительных обоснований в необходимости планируемых ЭИ при невозможности замены животного какой-либо моделью или альтернативным объектом исследования;
- минимизация количества привлекаемых к исследованию животных за счет стандартизации условий эксперимента, повышения информативности методических приемов, исключения факторов, увеличивающих разброс экспериментальных данных;
- принятие мер, исключающих страдания животных;

- обеспечение надлежащего ухода за животными с учетом особенностей их экологии.

Использование лабораторных животных в ЭИ в трансплантологии и искусственных органах является важнейшим этапом доклинических исследований новых медицинских продуктов (МП), а именно биомедицинских технологий, медицинских изделий, лекарственных препаратов, клеточно- и тканеинженерных медицинских продуктов.

В ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» в рамках государственных заданий Минздрава России, грантов и субсидий РФФИ, РНФ, Минобрнауки и Минпромторга проводятся уникальные экспериментальные исследования, направленные на клиническое внедрение полученных результатов.

ЭИ в Центре осуществляются по следующим направлениям: 1) трансплантация жизненно важных органов на этапе доклинических исследований; 2) экстракорпоральные системы жизнеобеспечения и искусственные органы; 3) технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины.

В настоящем обзоре кратко рассмотрены опыт организации, правила планирования и проведения экспериментальных работ в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России. Также приведены правила организационных и методических подходов, направленных на повышение пригодности результатов экспериментальных исследований. Особое внимание уделено соблюдению международных и национальных регламентирующих документов и стандартов.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Проведение экспериментальных исследований на животных в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России (*далее* Центр) осуществляется с применением принципов доказательной медицины после положительного решения этического комитета Центра.

При планировании экспериментальных, в том числе доклинических, исследований необходимо решить ряд ключевых задач – выбрать релевантную(ые) модель(и) животных и эксперимента, разработать перечень исследуемых параметров и методы их оценки, обосновать дизайн исследования для получения объективных результатов и адекватного их переноса на клиническую модель исследования [6, 7, 17, 18].

Выбор релевантной модели животного

Выбор модели животного является одной из критических точек дизайна экспериментальных исследований (ЭИ). Модель животного должна позволять получить убедительные доказательства безопасности исследуемого медицинского продукта (МП), в том числе медицинские технологии, материалы и изделия, лекарственные препараты, клеточно- и тканеинженерные медицинские продукты, а также подходить для демонстрации функциональной эффективности МП.

Модели животных используют на всех этапах ЭИ, а именно: на этапе обоснования ключевой концепции МП, в первичных исследованиях в ходе проверки эффективности МП, в токсикологических исследованиях для проверки безопасности.

При проведении ЭИ следует отдавать предпочтение животным, анатомические и физиологические особенности которых близки к таковым у человека настолько, насколько это возможно. В ЭИ желательно использовать в том числе крупных животных (например, овец или свиней). Однако технические и этические требования к использованию моделей крупных животных часто ограничивают их использование. Существенным недостатком крупных животных по сравнению с грызунами (мышьями и крысами) является также отсутствие генетически модифицированных иммунодефицитных линий.

В качестве лабораторных моделей на грызунах могут использоваться мыши; иные модели (так называемые «большие» модели), включают различные гетерогенные группы животных: приматов, собак, свиней, овец, кроликов, ламантинов и др. Собаки и приматы широко используются при моделировании болезней органов кровотока, тогда как свиньи – сердечно-сосудистых заболеваний и нарушений обмена веществ. Несмотря на то что в количественном отношении «большие» модели в научных целях используются реже, в ряде случаев их использование является незаменимым.

В ряде случаев использование стандартных моделей животных затруднено из-за возможности развития иммунного ответа на исследуемый МП, что обуславливает необходимость использования иммунодефицитных / гуманизированных животных.

Наиболее часто в ЭИ *in vivo* в качестве реципиентов используются линии мышья с иммунодефицитом, что позволяет предупредить отторжение трансплантатов. Существует большое количество линий мышья с различным уровнем иммунодефицита. Линии иммунокомпрометированных мышья являются надежными, хорошо отработанными моделями, которые позволяют проводить ЭИ на выборках значительного размера.

Данные линии мышья возникают в результате спонтанных мутаций либо получаются путем ген-

но-инженерных манипуляций с целью устранения иммунных функций. Одной из наиболее широко используемых линий являются так называемые бестимусные «голые» мыши с мутацией по гену *nude*, обладающие дисфункцией Т-клеточного звена иммунитета. Как следствие функциональность В-лимфоцитов у таких животных существенно снижена.

Требования к отбору и подготовке лабораторных животных и условиям проведения эксперимента

При проведении ЭИ исследователю следует руководствоваться следующими требованиями к отбору и подготовке лабораторных животных, в том числе к условиям проведения эксперимента.

В основу экспериментов положено гуманное использование животных. Уход и условия содержания должны соответствовать национальным или международным нормативам ухода за животными, условий содержания и животноводства [4–6].

При любой возможности должны использоваться специально выведенные животные. Животные чистых линий дают лучшую воспроизводимость результатов, возможно повторение исследования в любой другой лаборатории на этих же линиях. Экспериментальными животными могут быть: здоровые интактные животные, трансгенные или нокаутные животные; гуманизированные животные, содержащие функционирующие человеческие гены, клетки, ткани или органы.

Если специально выведенные животные не используются, обоснование и подробности происхождения экспериментальных животных должны быть отражены документально. При работе с беспородными лабораторными животными следует помнить, что они могут являться источником антропозоонозов и аллергенов.

Выбор вида лабораторных животных должен быть адекватен целям эксперимента. Количество лабораторных животных должно быть минимальным, но достаточным для получения достоверных результатов. Для проведения экспериментальных исследований отбираем здоровых лабораторных животных одного пола и возраста с одинаковой массой тела. Использование разнополых, разновозрастных или различающихся по иным признакам животных возможно, если это входит в задачи эксперимента. Для уменьшения статистического разброса данных желательно использовать экспериментальных животных чистых линий, без патогенной микрофлоры.

Транспортировка лабораторных животных осуществляется в специальных контейнерах с соблюдением нормальных условий существования

и кормления. В тех случаях, когда лабораторные животные плохо переносят длительную транспортировку, необходимо определить промежуточные пункты транспортировки для отдыха и адаптации к новым условиям. После транспортировки лабораторным животным необходим период адаптации. При подготовке эксперимента и после его окончания лабораторные животные должны содержаться в стандартных условиях, получать питание в соответствии с установленными нормами.

Надлежащие условия должны быть созданы для дооперационного, операционного и послеоперационного ухода за животными, включая ответственное и эффективное использование анальгетиков в соответствии со стандартами современной клинической ветеринарной практики. Используемые режимы должны быть отражены документально.

Порядок проведения процедур на лабораторных животных [14]

На каждом этапе проведения ЭИ *in vivo* необходимо придерживаться следующих правил, регламентируемых соответствующими нормативными документами [1–13].

1. Подготовка лабораторных животных к экспериментам.

1.1. При введении в эксперимент лабораторные животные должны быть адаптированы к новой среде обитания, обслуживающему персоналу и экспериментатору.

1.2. При транспортировке в лабораторию крупных животных запрещается применение силовых или болезненных приемов. В тех случаях, когда животное агрессивное, возможно использовать предварительную премедикацию.

1.3. При работе с мелкими лабораторными животными их необходимо брать руками осторожно, сильно не сжимать. При использовании корнцангов необходимо на корнцанги надеть резиновые насадки. Запрещается оставлять лабораторных животных в ожидании эксперимента больше, чем это необходимо для проведения премедикации.

1.4. Запрещено переносить лабораторных животных в неутепленных клетках по холоду.

2. Премедикация. Фиксация лабораторных животных.

2.1. Премедикация лабораторных животных осуществляется ответственным исполнителем эксперимента или под его наблюдением.

2.2. Фиксировать лабораторных животных необходимо только после того, как подействует наркоз.

2.3. Имобилизация бодрствующих лабораторных животных возможна только на непродолжительное время. В случае длительной имобилизации лабораторных животных необходимо применять

ящики-домики и щитки-ошейники. Повязки на конечностях животного должны быть мягкими, не препятствовать кровообращению. Недопустимо использование неудобных поз с вывернутыми конечностями.

3. Обезболивание.

3.1. Инвазивные экспериментальные вмешательства необходимо выполнять с применением седативных, обезболивающих и наркотических препаратов в соответствии с нормами, принятыми в ветеринарной практике. Запрещено проводить болезненные процедуры на обездвиженных с помощью миорелаксантов животных без препаратов для наркоза. При введении лабораторных животных в наркоз необходим постоянный контроль за вводимой дозой. Запрещается применение средств, не обеспечивающих контроль за уровнем наркоза. Доза, время введения наркотических веществ фиксируется в журнале эксперимента.

3.2. Если по условиям эксперимента животному планируются болезненные раздражения, необходимо проводить эксперимент с отключением сознания у лабораторного животного при обязательном присутствии ветеринарного специалиста и анестезиолога.

3.3. В тех случаях, когда изучаются механизмы боли и влияния на организм анальгетиков и анестетиков, допускается достижение пороговой боли.

3.4. Все процедуры на лабораторных животных проводятся в щадящих для животного условиях; болезненные процедуры должны проводиться под местной анестезией или общим обезболиванием.

3.5. Животные могут подвергаться только одной серьезной операции, если повторное оперативное вмешательство не предусмотрено убедительно обоснованными задачами эксперимента.

3.6. Условия содержания и питания лабораторных животных во время экспериментального исследования определяются целями эксперимента, но не должны причинять лабораторным животным боль и страдания.

3.7. Крупные экспериментальные животные должны иметь индивидуальную экспериментальную карту, в которой отражаются все манипуляции по ходу эксперимента вплоть до его завершения. Срок хранения карты – в течение 1 года после опубликования статьи или подачи отчета. В случае не предусмотренной экспериментом гибели животного оно подлежит патологоанатомическому вскрытию в присутствии ответственного исполнителя и ветеринарного специалиста.

3.8. В послеоперационном периоде лабораторным животным необходимо обеспечить квалифицированный уход и ветеринарную помощь. Животное, оказавшееся после эксперимента нежизнеспособным или испытывающим физические страдания, не

поддающиеся устранению, должно быть своевременно подвергнуто эвтаназии с соблюдением всех требований гуманности.

3.9. Уборка трупа животного может производиться только после того, как смерть будет констатирована лицом, ответственным за работу с животным.

Уход за животными

в послеоперационном периоде

Транспортировка лабораторных животных в клетку после оперативных вмешательств осуществляется на удобных носилках без травм животному и сдвигания повязок. В случаях применения миорелаксантов и искусственного дыхания лабораторные животные остаются в лаборатории до полного восстановления дыхания. При получении травм во время экспериментов лабораторные животные отсаживаются в отдельную клетку.

Лабораторные животные при хроническом эксперименте должны находиться в удобных клетках. С момента появления у животного боли оно должно получать седативные и обезболивающие препараты. Экспериментальные животные должны получать квалифицированный уход под контролем экспериментатора и ветеринара.

В особо сложных и ответственных оперативных вмешательствах необходимо первые сутки (или более) устанавливать круглосуточное дежурство квалифицированных специалистов около животного. Состояние животного и назначения препаратов должны отмечаться в протоколе эксперимента.

Требования к экспериментатору и вспомогательному персоналу

Экспериментальную работу с лабораторными животными имеют право вести только лица, допущенные к этой работе с разрешения руководства учреждения, имеющего лицензию на проведение исследовательских работ с использованием животных. Лица, допущенные к экспериментальной работе с животными и ознакомленные с настоящими правилами, несут ответственность за соблюдение правил содержания и использования животных.

Руководители учреждений и отделов, в которых используются животные, несут ответственность за то, чтобы исследователи, проводящие эксперименты, и вспомогательный персонал имели достаточную подготовку и опыт проведения таких работ. Администрация научного учреждения должна создать условия для обучения и подготовки экспериментаторов и вспомогательного персонала методам работы, уходу и гуманному обращению с животными.

Лица со средним медицинским, ветеринарным и зоотехническим образованием, а также аспиранты

и студенты допускаются к проведению несложных и безболезненных процедур на животных под контролем ответственного исполнителя.

Ответственность и контроль за выполнением работ

Ответственность за нарушение Правил проведения экспериментальных исследований и испытаний на животных несут руководители учреждений, заведующие лабораториями и ответственные исполнители эксперимента. За подготовку экспериментатора к работе с животными и за соблюдение правил использования животных в целом отвечают заведующие лабораторией и ответственный исполнитель.

Непосредственный контроль за условиями содержания животных, их состоянием и соблюдением санитарно-гигиенических норм помещений, где содержатся лабораторные животные, включая правила личной гигиены обслуживающего персонала, осуществляет ветеринарный специалист.

Нарушение Правил гуманного обращения с животными и проведение экспериментов в условиях, ставящих под сомнение научную достоверность полученных данных, может повлечь за собой в установленном порядке применение к виновным лицам мер дисциплинарного воздействия, а также запрещение научных публикаций, защиты диссертационных работ и запрещение дальнейшего использования экспериментальных животных.

Эвтаназия

Методы эвтаназии должны приводить к быстрой потере сознания, сопровождающейся остановкой сердца и дыхания, окончательной потерей функции мозга, а также быть надежными и необратимыми. Кроме того, используемая техника должна минимизировать боль и эмоциональный стресс, испытываемые животным до момента потери сознания.

Уход за животными

Условия содержания лабораторных животных должны обеспечивать им нормальный биологический фон. Основными факторами при этом являются:

- содержание животного в вентилируемом, освещаемом, отапливаемом помещении;
- обеспечение его полноценным питанием и водопоем;
- своевременная уборка помещения;
- в помещении, где содержатся лабораторные животные, недопустим шум.

Санитарно-гигиенические требования к помещению, где содержатся лабораторные животные, должны соответствовать требованиям Санитарных правил.

Кормление и водопой животных должны производиться в соответствии с действующими нормами кормления. В помещении, где содержатся лабораторные животные, должны быть ввешены рационы кормления и выход продуктов (в том числе и вареных кормов) для животных всех видов с указанием времени, в которое производится кормление и смена воды в поилках. Выдача кормов должна производиться по весу. Выдаваемые корма должны отвечать нормам по весу, ассортименту, качеству. Во всех клетках должны находиться неопрокидывающиеся поилки со свежей водой. Режим кормления в выходные и праздничные дни должен быть таким же, как и в будни.

Размер клеток для экспериментальных животных определен в соответствующем разделе Санитарных правил, но он должен обеспечивать животному во всех случаях свободное передвижение.

Общие критерии, которым должна отвечать экспериментальная модель *in vivo*

Еще одной критической точкой дизайна эксперимента является выбор экспериментальной модели *in vivo* для проведения доклинических исследований МП.

Можно выделить два общих критерия, которым должна отвечать экспериментальная модель *in vivo*:

- 1) модель должна обеспечивать максимально возможное сходство симптомов, этиологии и способов лечения моделируемой патологии;
- 2) модель должна быть специфичной для конкретного патологического состояния, для лечения которого предназначен МП (технология, изделие, лекарственный препарат, клеточно- или тканеинженерная конструкция).

Приступая к экспериментальным исследованиям на животных, необходимо сформулировать цель исследования, основанную на понимании патогенеза заболевания, и описание мишеней для последующего применения в клинике; изучение эффективности и безопасности терапии/вмешательства. Кроме того, необходимо использовать адекватную заболеванию человека экспериментальную модель соответствующего патологического состояния.

Ключевым понятием, позволяющим имплементировать в клиническую практику полученные в ходе экспериментальных исследований технологии, протоколы и результаты, является их валидность – обоснованность и пригодность применения методик и результатов исследования в конкретных условиях.

Требуются значительные организационные усилия и финансовые затраты для повышения валидности доклинических исследований, которая во

многом определяется выбором адекватной экспериментальной модели [15–18].

Считается, что «идеальная» экспериментальная модель заболевания/повреждения на животных должна удовлетворять следующим критериям: 1) сходная генетическая основа (в случае если речь идет о биомодели); 2) сходство исходных анатомо-физиологических характеристик лабораторного животного и человека; 3) сходный механизм развития (патогенез) заболевания; 4) сходные фенотипические проявления, включая биохимические, функциональные и морфологические признаки; 5) наличие терапевтического эффекта от применения известных лекарств. Повышение валидности экспериментов может быть обеспечено за счет использования максимально стандартизированных выборок животных.

Наиболее часто на валидность эксперимента влияют 4 типа систематических ошибок: 1) ошибки отбора; 2) ошибки, связанные с отсевом (гибелью) животных в процессе эксперимента; 3) ошибки, связанные с ходом исследования; 4) ошибки измерений [19, 20].

Наличие систематических ошибок обусловлены несколькими причинами: неслучайное распределение животных в группы; различие в уходе за животными разных групп; искажение результатов исследования, связанное с тем, что исследователь, оценивающий исходы, знает принадлежность животного к той или иной группе; неодинаковая частота возникновения отклонений от протокола и отсутствие тактики в таких случаях.

Можно выделить несколько путей снижения систематических ошибок, таких как рандомизация, случайное размещение животных и отсутствие информации у персонала о характере распределения животных по группам, и какое именно вмешательство выполнялось каждому животному. В большинстве своем эксперименты на животных характеризуются относительно небольшими группами (в среднем от 5 до 10). Поэтому необходимо применение более сложных методов рандомизации, например, блоковой или стратифицированной [21]. Наилучшим методом рандомизации является использование генераторов случайных чисел. Ошибки отбора также могут возникать в случае отсутствия или недостаточно четкой формулировки критериев включения. Они должны быть сформулированы до начала исследования. Отсутствие рандомизации приводит к увеличению ошибки в выявлении эффекта исследуемого воздействия. Суррогаты рандомизации, например, «случайный» отбор животных из клетки, нельзя рассматривать как истинную рандомизацию.

Отсутствие информации считается полным в том случае, если не только исследователь, но и весь прочий персонал, вовлеченный в эксперимент (ла-

боранты, статистики), не имеет доступа к данным о том, к какой группе относится то или иное животное [22]. Кодировка групп должна полностью исключать представление о характере воздействия.

Такие условия выполняются при проведении рандомизированных контролируемых двойных слепых исследований, которые являются эталонным дизайном как экспериментальных/доклинических, так и клинических исследований.

Следует придерживаться следующего алгоритма проведения ЭИ: формулировка цели и задачи исследования с обоснованием необходимости использования лабораторных животных; выбор видов животных и методов исследования; разработка дизайна эксперимента с определением массива регистрируемых показателей, частоты их мониторинга и сроков проведения ЭИ; проведение эксперимента; статистическая обработка и интерпретация полученных результатов; подготовка научного отчета.

При разработке алгоритма специфика проведения ЭИ учитывается введением следующих дополнений [23]:

1. Упорядочивание критериев включения/исключения на начальном этапе исследования.
2. Более подробное и четкое описание метода рандомизации, в частности способа генерации последовательности случайных чисел.
3. Указание исходных характеристик в группах после рандомизации и статистическая верификация отсутствия различий, что является также проверкой успешности рандомизации.
4. Указание метода ослепления персонала, выполняющего рандомизацию, сбор и обработку данных, а также анализ результатов относительно принадлежности животных к той или иной группе.
5. Контроль за уменьшением количества животных в процессе эксперимента. В связи с этим рекомендуется использовать блок-схему, иллюстрирующую количество животных на следующих этапах эксперимента: а) в момент их получения, б) после акклиматизации, в) после рандомизации в каждой группе, г) на момент оценки исходов.
6. Недопущение добавления животных в группы «до момента появления значимого отличия».
7. Использование критериев исключения в ходе исследования, если они сформулированы заранее, как основание для исключения «выбросов» и их замены другими экспериментами.

Общие требования, предъявляемые к экспериментальным моделям *in vivo*

Соблюдая общие нормативные и этические принципы при проведении в Центре конкретных экспериментальных исследований на лабораторных животных, к используемой экспериментальной мо-

дели *in vivo* той или иной патологии предъявляется целый ряд требований.

Экспериментальная модель, проводимая на млекопитающих, должна быть сопоставимой по физиологическим реакциям в части, относящейся к механизму действия и способу применения у человека. Животные должны обладать иммунной толерантностью к вводимому продукту, позволяющей ему осуществить свое биологическое действие.

Кроме того, выбранная экспериментальная модель *in vivo* должна быть:

- актуальной – нацеленной на текущие и предстоящие задачи, учитывая современное состояние решаемой проблемы;
- результативной – полученные результаты моделирования должны быть полезными для клиники;
- достоверной и адекватной;
- экономичной (затраты на создание модели не могут превышать ресурсов на ее создание и исследование);
- существенной, способной получать неочевидные результаты, характеризующие функциональную эффективность;
- открытой – с возможностью тиражирования в других лабораториях, а также возможностью создания ее модификации.

Право на использование лабораторных животных в экспериментах имеют научно-исследовательские, лечебные и высшие учебные учреждения, имеющие:

- оборудованное помещение, где содержатся лабораторные животные;
- оснащенную экспериментальную лабораторию;
- штат сотрудников, обеспечивающий уход за животными и выполняющий требования гуманного обращения с ними.

В штате должен быть ветеринарный врач, на которого возложены обязанности по контролю условий содержания лабораторных животных и их состояния; подготовку персонала, проводящего эксперимент; проведение профилактических мероприятий в помещении, где содержатся лабораторные животные; лечение лабораторных животных; решение вопросов, связанных с эвтаназией животных.

При выполнении ЭИ следует руководствоваться следующими правилами.

При разработке протокола экспериментов необходимо проводить ранжирование каждого из этапов по научной значимости. При использовании лабораторного животного в нескольких экспериментах избегать чрезмерной экспериментальной нагрузки на него. Исключать дублирование экспериментов. При работе с лабораторными животными экспериментатор и обслуживающий персонал строго соблюдают правила личной гигиены.

Перед началом проведения исследований следует установить критерии прекращения эксперимента

в случаях отклонения в условиях содержания лабораторных животных, стрессовых факторов и болезненных воздействий, которые перекрывают или видоизменяют эффект изучаемого фактора.

При планировании эксперимента с животными экспериментатор должен руководствоваться принципами «трех R» (reduction/уменьшение, replacement/замена, refinement/уточнение). Применение этих принципов обосновывает необходимость минимизации числа лабораторных животных в эксперименте; замену животных при возможности альтернативными объектами или моделями; необходимость щадить животных и устранять их страдания, усовершенствовать условия эксперимента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, эксперименты на животных в ряде случаев являются важным этапом при разработке медицинских технологий и продуктов. Каждая научно-исследовательская работа, в которой предполагается проведение экспериментов на лабораторных животных, должна быть организована, спланирована и выполнена в соответствии с национальными и международными стандартами, определяющими основные положения и правила гуманного отношения к животным.

Ключевой задачей каждого исследователя, при наличии неоспоримого обоснования необходимости проведения экспериментов *in vivo*, является выполнение обязательных условий, обеспечивающих гуманное отношение к лабораторным животным на всех стадиях проведения эксперимента.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. Страсбург, 1987. *Yevropeyskaya konventsiya po zashchite pozvonochnykh zhyvotnykh, ispol'zuyemykh v eksperimental'nykh i drugikh nauchnykh tselyakh*. Strasburg, 1987.
2. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. 2000. *Mezhdunarodnyye rekomendatsii po provedeniyu mediko-biologicheskikh issledovaniy s ispol'zovaniyem zhyvotnykh Khel'sinkskoy deklaratsii Vsemirnoy meditsinskoy assotsiatsii*. 2000.
3. Европейская конвенция по защите домашних животных, Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных за № 755 от 12.08.1977 г. *Yevropeyskaya konventsiya po zashchite domashnykh zhyvotnykh, Pravila provedeniya rabot s ispol'zovaniyem eksperimental'nykh zhyvotnykh za № 755 ot 12.08.1977 g.*
4. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33216–2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными, правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами, 2014 г. *Mezghosudarstvennyy standart GOST 33216–2014. Rukovodstvo po sodержaniyu i ukhodu za laboratornymi zhyvotnymi, pravila sodержaniya i ukhoda za laboratornymi gryzunami i krolikami*, 2014 g.
5. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33215–2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными, правила оборудования помещений и организации процедур. *Mezghosudarstvennyy standart GOST 33215–2014. Rukovodstvo po sodержaniyu i ukhodu za laboratornymi zhyvotnymi, pravila oborudovaniya pomeshcheniy i organizatsii protsedur*.
6. Национальный стандарт ГОСТ Р ИСО 10993-2. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 2. Требования к условиям содержания животных. М.: Стандартинформ, 2009. *International Standard ISO 10993-2:2006. Biological evaluation of medical devices. Part 2: Animal welfare requirements*. ISO, 2006.
7. Национальный стандарт ГОСТ Р ИСО 13022. Продукты медицинские, содержащие жизнеспособные человеческие клетки. Применение менеджмента риска и требований к методикам обработки. М.: Стандартинформ, 2016. *International Standard ISO 13022:2012 Medical products containing viable human cells – Application of risk management and requirements for processing practices*. ISO, 2012.
8. Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев), СП 2.2.1.3218-14. М., 2014. *Sanitarno-epidemiologicheskiye trebovaniya k ustroystvu, oborudovaniyu i sodержaniyu eksperimental'no-biologicheskikh klinik (vivariyev)*, SP 2.2.1.3218-14. М., 2014.
9. Методические рекомендации «Обезболивание животных в эксперименте». М., 1985. *Metodicheskiye rekomendatsii «Obezbolivaniye zhyvotnykh v eksperimente»*. М., 1985.
10. Методические рекомендации «Эвтаназия экспериментальных животных». М., 1985. *Metodicheskiye rekomendatsii «Evtanaziya eksperimental'nykh zhyvotnykh»*. М., 1985.
11. Методические рекомендации «Приемы работы с экспериментальными животными». М., 1989. *Metodicheskiye rekomendatsii «Priyemy raboty s eksperimental'nymi zhyvotnymi»*. М., 1989.
12. Приказ МЗ РСФСР № 1179 от 10.10.1983 «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения». *Prikaz MZ RSFSR № 1179 ot 10.10.1983 «Ob utverzhdenii normativov zatrat kormov dlya laboratornykh zhyvotnykh v uchrezhdeniyakh zdравookhraneniya»*.
13. Методические рекомендации по проведению доклинических исследований биомедицинских клеточных продуктов. Под ред. В.А. Ткачука. М.: МГУ, 2017. *Metodicheskiye rekomendatsii po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy biomeditsinskikh kletochnykh produktov*. Pod red. V.A. Tkachuka. М.: MGU, 2017.

14. Полоз АИ, Финогенов АЮ. Методические указания по гуманной эвтаназии животных. Минск, 2008: 41. *Poloz AI, Finogenov AYU. Metodicheskiye ukazaniya po gumannoy evtanazii zhivotnykh. Minsk, 2008: 41.*
15. McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: challenges in enabling translation. *Biochem. Pharmacol.* 2014; 87 (1): 162–171.
16. Александров ИВ, Егорова ЕИ, Васина ЕЮ, Новиков ВК, Матыко ПГ, Галагудза ММ. Экспериментальные исследования на животных в эпоху трансляционной медицины. Какими им быть? *Трансляционная медицина.* 2017; 4 (2). 52–70. *Aleksandrov IV, Yegorova YeI, Vasina YeYu, Novikov VK, Matyko PG, Galagudza MM. Eksperimental'nyye issledovaniya na zhivotnykh v epokhu translyatsionnoy meditsiny. Kakimi im byt'?' Translyatsionnaya meditsina.* 2017; 4 (2): 52–70.
17. Щербак НС, Галагудза ММ. Экспериментальные модели ишемического инсульта. *Бюллетень Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова.* 2011; 3: 39–46. *Shcherbak NS, Galagudza MM. Eksperimental'nyye modeli ishemicheskogo insul'ta. Byulleten' Federal'nogo tsentra serdtsa, krovi i endokrinologii im. V.A. Almazova.* 2011; 3: 39–46.
18. Галагудза ММ, Костарева АА. Экспериментальные модели рестриктивной кардиомиопатии. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2015; 14 (3): 14–21. *Galagudza MM, Kostareva AA. Eksperimental'nyye modeli restriktivnoy kardiomiopatii. Regionarnoye krovoobrashcheniye i mikrotsirkulyatsiya.* 2015; 14 (3): 14–21.
19. van der Worp HB, Howells DW, Sena ES et al. Can animal models of disease reliably inform human studies? *PLoS Med.* 2010; 7 (3): e1000245.
20. O'Connor AM, Sargeant JM. Critical appraisal of studies using laboratory animal models. *ILAR J.* 2014; 55 (3): 405–417.
21. Altman DG, Bland JM. Ho to randomise. *BMJ.* 1999; 319 (7211): 703–704.
22. Sorge RE, Martin LJ, Isbester KA et al. Olfactory exposure to males, including men, causes stress and related analgesia in rodents. *Nat. Methods.* 2014; 11 (6): 629–632.
23. Muhlhausler BS, Bloomfield FH, Gillman MW. Whole animal experiments should be more like human randomized controlled trials. *PLoS Biol.* 2013; 11 (2): e1001481.

*Статья поступила в редакцию 17.10.2017 г.
The article was submitted to the journal on 17.10.2017*