

Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным

А. В. Рыбакова^{1,*}, М. Н. Макарова¹, А. Е. Кухаренко², А. С. Вичаре³, Ф.-Р. Рюффер⁴

¹ Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»,
Заводская ул., 3, к. 245, г.п. Кузьмолровский, Всеволожский р-н, Ленинградская обл.,
188663, Российская Федерация

² Общество с ограниченной ответственностью «Эбботт Лэбораториз»,
Ленинградское ш., 16А, стр. 1, Москва, 125171, Российская Федерация

³ Abbott Healthcare Pvt. Ltd., Марол Индастриал Эриа, Андхери Ист, Мумбаи, 400093, Индия

⁴ Abbott Laboratories GmbH, Фреундалле 9А, Ганновер, 30173, Германия

Резюме. В рамках гармонизации требований на международном фармацевтическом рынке наблюдается тенденция к разработке единых стандартов, в том числе в области доклинических исследований лекарственных средств. Достоверность и воспроизводимость экспериментальных данных, полученных с использованием животных в различных лабораториях, невозможно обеспечить без соблюдения принципов «3Rs» (принципов гуманной методики эксперимента), обеспечивающих благополучие животных. В настоящей работе представлен анализ российских и зарубежных рекомендаций по различным способам и объемам введения лекарственных средств мышам, крысам, морским свинкам и кроликам как наиболее часто используемым видам лабораторных животных. Систематизированы данные литературы относительно введения лекарственных средств пероральным/внутрижелудочным, подкожным, внутримышечным, внутривенным и внутрибрюшинным путем. Оценены возможные осложнения при каждом пути введения лекарственного средства и негативные последствия как для здоровья и благополучия лабораторного животного, так и для результатов, полученных в ходе исследования. Также в работе представлены некоторые анатомические и физиологические особенности лабораторных животных, возможности депривации кормом и водой, способы снижения болезненных ощущений для животных. На основании проведенного сравнения объемов введения лабораторным животным предложены оптимальные рекомендованные и максимальные объемы введения лекарственных средств.

Ключевые слова: объем введения; дозирование; лабораторные животные; благополучие лабораторных животных; гуманное обращение с лабораторными животными

Для цитирования: Рыбакова АВ, Макарова МН, Кухаренко АЕ, Вичаре АС, Рюффер Ф-Р. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(4):207-217. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217>

***Контактное лицо:** Рыбакова Анна Владимировна; rybakova.av@doclinika.ru

Current Requirements for and Approaches to Dosing in Animal Studies

A. V. Rybakova^{1,*}, M. N. Makarova¹, A. E. Kukharensko², A. S. Vichare³, F.-R. Rueffer⁴

¹ Scientific and Production Association «HOME OF PHARMACY»,
3-245 Zavodskaya St., Kuzmolovskiy, Vsevolozhskiy District, Leningrad Oblast 188663, Russian Federation

² Abbott Laboratories LLC, 16A/1, Leningradskoye shosse, Moscow 125171, Russian Federation

³ Abbott Healthcare Pvt. Ltd., Marol Industrial Area, Andheri East, Mumbai-400093, India

⁴ Abbott Laboratories GmbH, Freundallee 9A, Hannover 30173, Germany

Abstract. Today, within the context of harmonisation of requirements in the international pharmaceutical market, there is a trend towards development of common standards, including in the field of preclinical studies. The reliability and reproducibility of experimental data obtained in various laboratories using animals cannot be guaranteed unless the 3Rs principles are observed (the principles of humane experimental technique) to ensure the welfare of animals. The present paper analyses Russian and foreign recommendations on different administration routes and administered volumes as applied to mice, rats, guinea pigs, and rabbits — the most frequently used laboratory animals. The paper systematises literature data on oral/intragastric, subcutaneous, intramuscular, intravenous and intraperitoneal routes of administration. It assesses potential complications of each route of administration, and negative effects on both health and well-being of laboratory animals, as well as on the results of experiments. The paper also touches upon some anatomical and physiological characteristics of laboratory animals, potential opportunities for feed and water deprivation, ways of reducing pain in animals. The results of comparison of administered volumes helped to determine optimal recommended and maximum administered volumes.

Key words: administered volume; dosing; laboratory animals; well-being of laboratory animals; humane treatment of laboratory animals

For citation: Rybakova AV, Makarova MN, Kukharensko AE, Vichare AS, Rueffer F-R. Current requirements for and approaches to dosing in animal studies. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(4):207-217. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217>

***Corresponding author:** Anna V. Rybakova; rybakova.av@doclinika.ru

В настоящее время на фармацевтическом рынке наблюдается тенденция к разработке единых стандартов в области доклинических исследований лекарственных средств. Гарантировать достоверность и воспроизводимость экспериментальных данных, полученных в различных лабораториях, невозможно без соблюдения принципов «3Rs» (принципов гуманной методики эксперимента), обеспечивающих благополучие животных в целом [1, 2]. При разработке программы исследования важным вопросом является выбор способа и объемов введения лекарственного средства лабораторным животным как с точки зрения поставленной задачи исследования, так и с точки зрения благополучия животных. Неправильно подобранный объем исследуемого лекарственного средства способен привести к страданию животного и оказать неблагоприятное воздействие на его организм, а полученные данные могут быть искажены или неверно интерпретированы.

Цель работы — анализ международных и отечественных рекомендаций по объемам введения лекарственных средств наиболее часто используемым видам лабораторных животных для дальнейшей разработки единых стандартов, учитывающих нормы гуманного обращения с животными.

На сегодняшний день, с точки зрения гуманных принципов обращения с животными, используются такие понятия, как рекомендованный объем и максимальный объем для введения препаратов животным [2–5]. Рекомендованный объем для однократного введения — это объем вводимого лекарственного средства, который не вызывает у животного дискомфорт, болевые ощущения и не влияет на его поведение. Максимальный объем вводимого лекарственного средства для однократного введения — это объем, который является физиологически возможным, но может вызвать кратковременный дискомфорт у животного и потребовать дополнительной подготовки перед проведением манипуляции (депривация кормом, установка внутривенного или артериального катетера, анестезия и другие). Информационная доступность и использование сведений о рекомендованных и максимальных объемах для введения лекарственных средств позволит более рационально подходить к вопросу разработки плана исследования, сводя к минимуму страдания животного.

Наиболее часто при проведении доклинических исследований используют следующие способы введения лекарственных средств: пероральный, внутрижелудочный, подкожный, внутримышечный, внутривенный и внутрибрюшинный. К более редким способам введения относятся: эндотра-

хеальный, интраназальный, внутрисердечный, внутрикожный, ректальный, интравагинальный, интратекальный. При подготовке плана исследования, выборе биологической тест-системы, способа и объема введения неизбежно возникают вопросы, связанные с особенностями анатомии животных, протеканием биохимических процессов в их организме, наличием или отсутствием активности ферментов и/или их изоформ.

ПЕРОРАЛЬНЫЙ И ВНУТРИЖЕЛУДОЧНЫЙ ПУТИ ВВЕДЕНИЯ

Значительное число лекарственных препаратов на сегодняшний день представляют собой жидкие или твердые формы, предназначенные для приема внутрь (перорально). При пероральном введении препарата животное получает его через ротовую полость (препарат или плацебо могут поступать в составе корма или воды). Необходимо учитывать, что часть исследуемого вещества попадает на слизистую ротовой полости и может всасываться уже здесь или оказывать местное биологическое действие (например, раздражение слизистой оболочки). При внутрижелудочном пути введения используется внутрижелудочный зонд соответствующего калибра, и попадание препарата на слизистую ротовой полости практически исключено. Лабораторным животным препараты могут вводиться как в виде суспензий, растворов, так и в виде таблеток при помощи зондов или таблеткодавателей. При внутрижелудочном способе введения необходимо учитывать такие физиологические особенности животного, как наличие остаточного количества пищи и воды в его желудке. В таблице 1 приведены данные о суточном потреблении корма и воды у четырех видов наиболее распространенных лабораторных животных [3, 4].

При выборе вида животного для проведения эксперимента необходимо учитывать, что существуют значительные видовые различия в строении желудочно-кишечного тракта [6, 7]. Диаметр и длина зонда для внутрижелудочного введения лекарственного средства должны соответствовать диаметру и длине пищевода лабораторного животного, используемого в эксперименте. При неправильном выборе исследователь может травмировать стенку глотки и пищевода или выполнить введение препарата в пищевод, что приведет к его растяжению, разрыву или попаданию исследуемого вещества в трахею.

В литературе чаще всего указаны усредненные показатели размеров желудка животных. Проводились исследования, которые позволили получить значения максимального объема желудка у лабораторных животных путем заполнения органа водой *post mortale* [6, 7]. Полученные данные представлены

Таблица 1. Потребление корма и воды у различных видов животных

Table 1. Feed and water consumption by different animals

Компоненты	Потребление на 100 г массы животного в сутки			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
Корм, г	12–18	5–6	6	4–5
Вода, мл	15	10–12	10	5–15

Таблица 2. Размер желудка у различных видов лабораторных животных

Table 2. Stomach capacity of different laboratory animals

Показатели размера желудка	Вид животного			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
Средний объем желудка, мл	1–1,5	3–5	20–30	200
Максимальный объем желудка, мл	1,1–3,5	5–20	50–80	160–210
Время прохождения корма из желудка в кишечник, ч	1–2*	0,15–1,5**	2***	3–6***

* F. Mule и др. [8]; ** S.-C. Wang и др. [9] и Э. Кибл и др. [4]; *** M.A. Suckow и др. [3].

в таблице 2. Однако значения максимальной вместимости желудка нельзя рассматривать в качестве выбора максимального объема вводимого лекарственного средства. Наличие таких данных дает лишь возможность проанализировать и сопоставить вводимые объемы препарата с объемом желудка животного. Большое значение при проведении исследований также имеет структура вводимого вещества. Лекарственные средства в виде водного раствора лучше переносятся животными, чем маслянистые и густые, из-за их удельной массы.

При введении максимальных объемов исследуемых препаратов рекомендуется изменить время кормления животных для того, чтобы на момент введения основная масса корма уже переместилась из желудка в кишечник. Необходимо учитывать, что грызуны и кролики являются истинными копрофагами, их желудочно-кишечный тракт никогда не бывает пустым [3, 10]. Так, например, желудок кролика может быть абсолютно пустым только на девятые сутки голодания, что недопустимо по этическим нормам содержания животных [11]. Длительное голодание противопоказано также для грызунов, к которым относится большая часть лабораторных животных, обладающих высокой скоростью обмена

веществ и относительно маленьким запасом печеночного гликогена [4]. Длительность депривации кормом лабораторных животных должна учитывать скорость и особенности метаболизма, время эвакуации пищевых масс из желудка и длительность их прохождения по всей длине пищеварительного тракта. Время депривации кормом, предусмотренное планом исследования, должно быть согласовано с биоэтической комиссией и строго контролироваться.

Выбор вида животного должен основываться на возможности прохождения по пищеводу исследуемой лекарственной формы препарата (таблетка или капсула определенного типоразмера) без разрушения их целостности. Такая возможность определяется анатомическими размерами и особенностями пищевода у разных видов животных. Сравнительные размеры этого органа у лабораторных животных и рекомендованные размеры внутрижелудочного зонда представлены в таблице 3. Для лучшего прохождения лекарственных форм по пищеводу многими авторами рекомендуется использовать обволакивающие или маслянистые вещества, применение которых облегчит процедуру введения и снизит дискомфорт у животного [4]. Однако пред-

Таблица 3. Сравнительные размеры пищевода животных и рекомендованные размеры внутрижелудочного зонда [6, 7]

Table 3. Comparison of the sizes of laboratory animals esophagi and recommended sizes of gastric tubes [6, 7]

Размеры пищевода и зонда	Вид животного			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
Пищевод, длина, мм	30–50	70–100	80–150	140–200
Пищевод, средний диаметр, мм	0,9–2,25	1,7–2,5	1,7–2,5	8,5–11
Фаренгиальное сужение, мм	1	2,3	2,0	8,9
Наиболее широкая часть пищевода, мм	1,5	3,5	2,4	10
Диафрагмальное сужение пищевода, мм	1	1,5	1,7	9
Калибр зонда, G	16–22	13–18	13	13
Диаметр оливы, мм	1,2–1,6	2,3–3,0	3,5	3,5
Длина зонда, мм	2,5–3,8	3,0–8,8	90–150	90–150

Таблица 4. Объемы внутрижелудочного однократного введения препаратов лабораторным животным**Table 4.** Medicine volumes for single intragastric administration to laboratory animals

Источник литературы	Объемы введения (мл/кг) для животных			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	10–16	25	25	2,5
J. Nau и др. [2]	10	5	5	1,9
K.-H. Diehl и др. [13]	10	10	—	10
F.C. Hankenson [14]	10	10	—	—
J. Fox и др. [15]	5–10	—	—	—
M.A. Suckow и др. [3]	—	—	—	10–15
И.П. Западнюк и др. [16]	50	15	—	—
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств ¹	25–33	26,6–30	16–20	50–67
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	25–33	26,6–30	16–20	50–67
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств ²	25–33	26,6–30	16–20	50–100

Примечание. Знак «—» — отсутствие сведений.

¹ Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств. М.: Русский врач; 2005.

² Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

варительно должно быть проанализировано и учтено возможное влияние этих веществ на изменение биодоступности исследуемых лекарственных форм.

В таблице 4 представлены данные, опубликованные российскими и зарубежными исследователями, в отношении допустимых объемов внутрижелудочного введения лекарственных препаратов для некоторых видов животных.

При анализе представленных данных можно отметить различные точки зрения по допустимым объемам для внутрижелудочного введения у кроликов. Так, российские исследователи указывают, что максимальный объем для однократного введения исследуемого препарата кролику со средней массой тела 3 кг составляет 300 мл (50–100 мл/кг). По данным иностранных ученых, эта цифра варьируется от 6 до 30 мл, причем максимальный объем однократного введения лимитирован от 10 до 15 мл. При сопоставлении данных о количестве потребляемого корма (табл. 1) можно отметить, что взрослый кролик с массой тела 3 кг потребляет от 120 до 150 г комбикорма в сутки, при этом объем пустого желудка взрослого кролика составляет в среднем 200 мл (табл. 2). С учетом того, что желудок кролика никогда не бывает пустым, введение 300 мл препарата кролику является недопустимым и лишает животное возможности потреблять пищу, а также может привести к повреждению желудка (вплоть до его разрыва).

У лабораторных мышей с максимальным объемом желудка от 1,1 до 3,5 мл (в зависимости от массы тела) рекомендуемый объем введения, по данным зарубежных авторов, составляет от 10 до 16 мл/кг (0,2–0,32 мл/мышь). Согласно российским рекомендациям допускается введение препарата в объеме от 0,5 до 1 мл/мышь.

У крыс максимальный объем желудка составляет от 5 до 20 мл (в зависимости от массы тела), рекомендуемый объем введения, по данным зарубежных авторов, составляет от 5 до 25 мл/кг (1–5 мл/крысу). Российские ученые допускают введение сопоставимых объемов до 6 мл/крысу.

У морских свинок максимальный объем желудка от 50 до 80 мл (в зависимости от массы тела), рекомендуемый объем введения, по данным зарубежных авторов, составляет от 5 до 25 мл/кг (1,8–8,8 мл/морскую свинку). Российские рекомендации допускают введение аналогичных объемов 5,6–7,0 мл/морскую свинку.

Введение максимально допустимых объемов требует дополнительной подготовки животного (как минимум депривация кормом) и медленного введения лекарственных препаратов. При составлении плана проведения исследования необходимо обосновывать объемы вводимых препаратов. Введение лекарственных средств лабораторным животным внутрижелудочно в объемах, превышающих максимальные значения, может привести к перерастяжению и разрыву желудка, вызвать кишечную непроходимость, заброс пищевых масс в пищевод или трахею, что может вызвать растяжение пищевода, передавливание трахеи и острую пневмонию.

ПОДКОЖНЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

Подкожные инъекции являются наиболее предпочтительным методом парентерального введения лекарственных препаратов у грызунов и кроликов, так как позволяют вводить относительно большие объемы лекарственных средств. Данный вид введения препаратов очень часто используется в лабораторной и ветеринарной практике. Наиболее комфортным местом для инъекции является кожная

Таблица 5. Объемы подкожного введения препаратов лабораторным животным и калибр иглы для инъекции

Table 5. Medicine volumes for subcutaneous injection to laboratory animals, and injection needle gauge

Источник литературы	Объемы введения (мл/кг) для животных и калибр иглы			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	8–10 25G	5 23–25G	5 23–25G	1 21–25G
J. Nau и др. [2]	10 26G	5 25G	5 25G	1 23G
F.C. Hankenson [14]	10	5	—	—
K.-H. Diehl и др. [13]	10 (не более 2–3 инъекций в день)	5 (не более 2–3 инъекций в день)	—	1
J. Fox и др. [15]	10–40 (максимум 2–3 мл на животное) ≤20G	—	—	—
D.J. Clemons и др. [18]	—	—	5–10	—
M.A. Suckow и др. [3]	—	—	—	5
И.П. Западнюк и др. [16]	50	100	60	15
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств	50	50–100	60	15
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	50	105	60	15
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств	50	100	60	15
Э. Кибл и др. [4]	80–120 при высоком % дегидратации тканей	15–20; 25–50 при высоком % дегидратации тканей	—	—

Примечание. Знак «—» — отсутствие сведений.

складка в области холки животного, вводимые объемы препаратов не должны чрезмерно растягивать кожу. Введение водных растворов, близких по pH к физиологическому уровню, будет в меньшей степени беспокоить животное. Желательно, чтобы вводимые растворы были подогреты как минимум до комнатной температуры, так как это минимизирует проявление адаптивных реакций у животного. В таблице 5 представлены данные обзора литературы по объемам вводимого препарата лабораторным животным.

Таблица 5 иллюстрирует, что объемы подкожного введения, представленные в отечественной научной литературе, превышают в несколько раз нормы, указанные в иностранных источниках. Так, например, по большинству рекомендаций российских исследователей лабораторной мыши с массой тела 20 г можно ввести подкожно до 1 мл препарата, при этом в момент инъекции под кожей у животного образуется припухлость, которая в дальнейшем может преобразоваться в кистозную полость. Зарубежные же ученые не рекомендуют вводить мышам более 0,2 мл препарата. Согласно рекомендациям по терапии грызунов, допустимый объем подкожного введения лекарственного средства при высокой степени дегидратации тканей животного составляет 80 мл/кг, что соответствует 1,6 мл на мышь массой 20 г. Таким образом, для данного вида животного можно принять

0,2 мл как рекомендованный объем введения и 1 мл как максимальный объем подкожного введения.

Для крыс рекомендуемый объем введения препаратов, по данным зарубежных авторов, составляет 5 мл/кг (1,25 мл на крысу массой 250 г). Российские рекомендации допускают объем подкожного введения от 12,5 до 25 мл на крысу массой тела 250 г. При таких объемах в момент инъекции под кожей также будет образовываться припухлость, которая в дальнейшем может преобразоваться в кистозную полость.

У морских свинок рекомендуемый объем введения, по данным зарубежных исследователей, составляет от 5 до 10 мл/кг (1,75–3,5 мл/морскую свинку массой тела 350 г). Российские ученые допускают введение до 60 мл/кг, что соответствует 21 мл/морскую свинку массой тела 350 г, осложнения при этом будут наблюдаться такие же, как у мышей и крыс.

Для кролика рекомендованный объем введения препарата, по данным зарубежных авторов, составляет от 1 до 5 мл/кг, что соответствует от 3 до 15 мл на животное массой тела 3 кг. По данным российских исследователей, для кролика рекомендуется объем введения 15 мл/кг, что для животного со средней массой тела 3 кг будет уже составлять 45 мл. Такой объем вызывает образование припухлости, которая

в дальнейшем может преобразоваться в кистозную полость.

Необходимо также отметить, что в большинстве экспериментальных вивариев грызунов кормят сухими полнорационными комбикормами, применение которых требует повышенного потребления воды. При введении подкожно больших объемов исследуемых растворов у животного не будет происходить раздражение центральных и периферических осморецепторов, а также рефлекторное возбуждение питьевого центра, т.е. не будет возникать жажда. Отказ животного потреблять воду, необходимую для набухания комбикорма в желудке, приведет к снижению моторики желудочно-кишечного тракта, в результате чего может развиваться язвенное поражение слизистой желудка.

В большинстве случаев объемы препаратов для подкожного введения, рекомендованные российскими руководствами, сопоставимы с объемами, которые используются в ветеринарной практике при неотложных ситуациях в качестве плазмозаместительной или экстренной терапии. Например, при гипотензивных состояниях, когда животное не может самостоятельно восполнить объем циркулирующей крови за счет потребления воды, а также активно теряет воду с мочой, потом и калом. Необходимо четкое понимание, что экстремальные объемы не подходят для ежедневного введения исследуемых препаратов подкожно.

Следует отметить, что в зависимости от состава и объема вводимого препарата может варьировать степень выраженности ответной реакции животного. Так, при введении больших объемов маслянистых веществ у животного будет наблюдаться дискомфорт, и после завершения манипуляции существует высокий риск расчесывания места укола. Введение адъювантов или веществ, обладающих агрессивными свойствами, требует особого подхода к фиксации животного при проведении манипуляции и может вызвать некротические изменения в области инъекции. Большие объемы вводимых лекарственных препаратов могут привести к передавливанию сосудов и нервов, расслоению жировой ткани, нарушению двигательной активности. Использование меньших объемов введения при инъекциях не вызывает у животного физиологических нарушений и не окажет влияния на его зоосоциальное поведение.

ВНУТРИМЫШЕЧНЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

Внутримышечный путь введения лекарственных препаратов животным — это еще один вариант, часто используемый в практике доклинических исследований. Проведение внутримышечных инъекций лабораторным грызунам осложнено малой массой их тела и, соответственно, мышц. Как правило, инъекции этим животным делают в четырехглавую мышцу бедра (*Musculus quadriceps femoris*). Введения препаратов в заднюю поверхность бедра следует избегать, так как это может привести к травматизации седалищного нерва и, как следствие, к хромоте или параличу конечности животного. Также целесообразно разделять внутримышечную инъекцию на

два введения в транслатеральные области. У кроликов введение проводят в четырехглавую мышцу бедра и в спинную поясничную мышцу.

Объем инъекции следует минимизировать, чтобы избежать болезненных ощущений и дискомфорта у животных и свести к минимуму неблагоприятные последствия от манипуляции. В таблице 6 представлены данные по объемам одноразового внутримышечного введения препарата, рекомендованные отечественными и зарубежными авторами.

Анализ данных, приведенных в таблице 6, показывает существенные отличия среди результатов, полученных разными исследователями. По отечественным рекомендациям крысе массой тела 200 г можно ввести 10 мл препарата, тогда как по зарубежным руководствам эта цифра составляет от 0,2 до 0,4 мл. Обращают на себя внимание рекомендации F.C. Hankenson [14], в которых для мышей в качестве допустимого объема рассматривается 0,05 мл/кг, что при пересчете на мышь массой 20 г составляет 0,001 мл (1 мкл). Такой объем невозможно ввести с использованием обычных шприцов, и требуется применение шприцов Гамильтона.

При введении больших объемов препарата у животного может произойти инкапсуляция исследуемого вещества, образование кист и дальнейшее асептическое абсцедирование в месте инъекции [4, 5]. В ветеринарной медицине для лечения грызунов и зайцеобразных многими авторами рекомендовано по возможности избегать внутримышечных инъекций из-за высокого риска травматизации седалищного нерва, а также вероятности болевых ощущений и повреждения мышц у животного [4, 5].

В большинстве зарубежных рекомендаций, согласно представленным данным (табл. 6), сделан акцент на максимальном объеме однократного внутримышечного введения, что подразумевает различия в объемах однократных и многократных инъекций. В работах российских исследователей не обсуждается вопрос об ограничении объема препарата при однократном и многократном внутримышечном введении, что может привести к недопониманию допустимых объемов и нарушению этических норм и ветеринарных правил. Например, может быть сделан ложный вывод о допустимости однократной внутримышечной инъекции в объеме 25 мл/кг массы тела лабораторной мыши, т.е. 0,5 мл (!) на одно животное массой 20 г, что неизбежно приведет к болевым ощущениям и расслоению мышц животного.

ВНУТРИВЕННЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

Внутривенные инъекции являются разновидностью парентерального введения лекарственных препаратов и широко используются в ветеринарной и экспериментальной практике. Однако при выполнении данного вида манипуляции существуют сложности, такие как: небольшой размер животных, маленький диаметр кровеносных сосудов, плохая визуализация периферических сосудов, что обуславливает необходимость в дополнительном оборудовании для фиксации животного и визуализации

Таблица 6. Объемы внутримышечного введения препаратов лабораторным животным и калибр иглы для инъекций

Table 6. Medicine volumes for intramuscular injection to laboratory animals, and injection needle gauge

Источник литературы	Объемы введения (мл/кг) для животных и калибр иглы			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	2,0 (не более 0,05 мл за одно введение) 27G	0,5 (не более 0,1 мл за одно введение) 25G	0,5 (не более 0,1 мл за одно введение) 25G	0,06 (не более 0,25 мл за одно введение) 23–25G
J. Nau и др. [2]	2,0 (не более 0,05 мл за одно введение) 27G	0,5 (не более 0,1 мл за одно введение) 25G	0,5 (не более 0,1 мл за одно введение) 25G	0,06 (не более 0,25 мл за одно введение) 25G
K.-H. Diehl и др. [13]	2,0 (не более 0,1 мл за одно введение, не более двух инъекций в день)	0,5–1,0 (не более 0,1–0,2 мл за одно введение, не более двух инъекций в день)	—	0,25–0,5
F.C. Hankenson [14]	0,05 (не более 0,001 мл за одно введение)	0,1 (не более 0,02 мл за одно введение)	—	—
J. Fox и др. [15]	1,2–2 (не более 0,05 мл за одно введение) ≤23G	—	—	—
D.J. Clemons и др. [18]	—	—	0,06	—
M.A. Suckow и др. [3]	—	—	—	0,05 (не более 1,0 мл за одно введение)
И.П. Западнюк и др. [16]	25	50	5	4–6
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств	25	50	20	7,5
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	25	50	20	7,5
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств	25	50	20	7,5
Э. Кибл и др. [4]	2	2,5	—	—

Примечание. Знак «—» — отсутствие сведений.

защиты сосудов. Внутривенное введение препаратов лабораторным грызунам может быть осуществлено в следующие периферические сосуды: латеральная хвостовая вена, латеральная подкожная вена бедра, латеральная метатарсальная вена, вены ушной раковины. Инъекции исследуемых лекарственных средств зайцеобразным могут осуществляться в краевые ушные вены. Также для всех видов животных возможно использование яремной вены, но многими авторами не рекомендуются многократные введения в этот сосуд.

При парентеральных способах введения лекарственных препаратов следует учитывать объем циркулирующей крови у разных видов лабораторных животных. В таблице 7 представлены рекомендованные нормы по объему введения препаратов, которые зависят от способа внутривенной инъекции.

В практике разделяют однократное болюсное введение малых объемов и длительное введение больших объемов при помощи инфузии.

При анализе литературы необходимо отметить, что в отечественных рекомендациях объемы внутривенных инъекций при инфузионном способе схожи с данными зарубежных исследователей, при этом по болюсному способу введения объемы не представлены, что может привести к недопониманию допустимых объемов. Например, может быть сделан ложный вывод о допустимости болюсного внутривенного введения в объеме 60 мл/кг массы тела крысы, т.е. 12 мл на животное массой 200 г, в то время как большинство зарубежных ученых рекомендуют ограничить максимальный объем болюсного введения до 5 мл. Если сравнить эти величины с объемом циркулирующей крови (ОЦК) крысы (65 мл/кг) [3], то

Таблица 7. Объемы однократного внутривенного введения препаратов лабораторным животным и калибр иглы для инъекции

Table 7. Medicine volumes for single intravenous injection to laboratory animals

Источник литературы	Способ введения препарата	Объемы введения (мл/кг) для животных и калибр иглы			
		мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	болюсное	5–8 27–28G	5 25–27G	5 25–27G	2 23–25G
	инфузия	25	20	20	10
J. Nau и др. [2]	болюсное	8	5	5	1,25
	инфузия	12 26G	20 25G	20 26G	10 23G
K.-H. Diehl и др. [13]	болюсное	5	5	—	2
	инфузия	25	20	—	10
F.C. Hankenson [14]	болюсное	5	5	—	—
	инфузия	25	20	—	—
J. Fox и др. [15]	болюсное	5*	—	—	—
	инфузия	25 ≤25G	—	—	—
M.A. Suckow и др. [3]	болюсное	—	—	—	5
	инфузия	—	—	—	10–20
И.П. Западнюк и др. [16]	инфузия	25	60	16	10
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств	инфузия	10–25	20	20–32	10
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	инфузия	10–25	20	20–32	10
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств	инфузия	25	20	32	10
Э. Кибл и др. [4]	инфузия	8	2,5	—	—

Примечание. Знак «—» — отсутствие сведений.

* Максимальное введение в хвостовую вену не более 0,2 мл.

становится очевидным, что данный объем (60 мл/кг) замешает практически 100 % ОЦК (!). Даже в клинической практике при применении кровозамещающих растворов объем введения обычно не превышает 30 % от ОЦК.

Быстрое введение лекарственного препарата в больших объемах внутривенно влечет за собой необратимые изменения в организме животного, которые напрямую не связаны с вводимым препаратом. Избыточная и особенно быстрая инфузия растворов ведет к увеличению объема ОЦК, прежде всего в сосудах легких, жидкость не успевает переместиться в интерстиций и депонируется в легочных венах. Из-за спазма легочных артериол наступает объемная перегрузка правых отделов сердца, в первую очередь правого желудочка, ухудшается отток в правое предсердие значительной части крови из коронарных вен. Затруднение оттока по коронарным венам приводит к замедлению притока крови по коронарным артериям и доставки кислорода к миокарду, все это может обусловить возникновение острой коронарной недостаточности у животного, вплоть до возникновения острого инфаркта миокарда с дальнейшим развитием острой сердечной

лево-желудочковой недостаточности. Поэтому наиболее часто в качестве осложнений при больших объемах внутривенной инъекции встречаются отеки легких и головного мозга, разрывы магистральных сосудов и кровоизлияния. Введение больших объемов внутривенно может существенно влиять на свертывающую систему крови и приводить в дальнейшем к отсроченной гибели животного.

ВНУТРИБРЮШИННЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

При внутрибрюшинном пути введения инъекция осуществляется в область апоневроза, отступив 1 см вниз от области пупочного сращения под углом 30–40 °С к брюшной стенке. Несмотря на то что такой метод используется на лабораторных грызунах, в лечебной практике внутрибрюшинное введение обычно не применяется, так как введенные препараты должны сначала пройти через круг кровообращения в системе воротной вены, где они метаболизируются до того, как достигнут общего кровотока. Важными недостатками при проведении данной манипуляции являются: высокая вероятность повреждения или перфорации внутренних органов, болезненные ощущения и дискомфорт у животного. При

длительном (многократном) использовании данного метода может происходить накопление препарата в брюшной полости (между париетальным и висцеральным листками брюшины, на серозных покровах внутренних органов), образование абсцессов, наложений фибрина или остатков препарата на внутренних органах, а также перитонит.

При анализе данных по разрешенным объемам для внутрибрюшинного введения исследуемых препаратов отмечаются существенные отличия между отечественными и иностранными источниками литературы (табл. 8). Отказ от введения внутрибрюшинно больших объемов может быть мотивирован теми же причинами, что и при подкожном пути введения, которые изложены выше.

В соответствии с российскими рекомендациями данный вид введения является альтернативным при проведении доклинических исследований и довольно часто используется в токсикологических исследованиях, как правило, при изучении острой токсичности как второй путь введения для лекарственных средств, предназначенных для парентерального введения. Доказательная база, подтверждающая альтернативность данного вида введения лекарственных средств в клинической практике, в литературе не отмечена, так же как и сведения о биодоступности препаратов при внутрибрюшинном введении по сравнению с внутримышечным, внутривенным или подкожным путями введения.

При анализе источников литературы следует обратить внимание, что мнения российских и зарубежных исследователей по допустимым объемам

внутрибрюшинного введения у лабораторных мышей и морских свинок практически совпадают, а у крыс и кроликов зарубежные рекомендации по объему введения существенно ниже. При выборе объема внутрибрюшинного введения необходимо учитывать — однократное или многократное введение предполагается провести.

В доступной литературе, проанализированной при подготовке данной статьи, не удалось обнаружить результатов исследований по безопасности внутрибрюшинного введения и возможных осложнений, поэтому целесообразно было бы использовать в практике минимальные объемы для снижения потенциального риска для животного и предотвращения получения недостоверных результатов в эксперименте.

На основании проведенного анализа опубликованных данных можно предложить оптимальные объемы вводимых препаратов при проведении доклинических исследований. В таблице 9 представлены рекомендованные и максимальные объемы введения лекарственных средств при различных путях введения лабораторным животным, которые можно использовать как соответствующие принципам «3Rs».

Предложенные рекомендованные и максимальные объемы для однократного введения исследуемых препаратов животным требуют дополнительной проверки в различных лабораториях. Это обусловлено необходимостью получения сопоставимых результатов в стандартизированных экспериментальных условиях и, что еще более важно, с учетом соблюдения норм гуманного обращения

Таблица 8. Объемы однократного внутрибрюшинного введения препаратов лабораторным животным

Table 8. Medicine volumes for single intraperitoneal injection to laboratory animals

Источник литературы	Объемы введения (мл/кг) для животных			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	20–80	10–20	10–20	2,5–3,75
J. Hau и др. [2]	20	10	10	5
K.-H. Diehl и др. [13]	20	10	—	5
F.C. Hankenson [14]	20	10	—	—
J. Fox и др. [15]	20–80 (максимальный объем введения животному 2–3 мл)	—	—	—
D.J. Clemons и др. [18]	—	—	10–15	—
M.A. Suckow и др. [3]	—	—	—	10–20
И.П. Западнюк и др. [16]	100	50	—	15
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств	50	50	20	10–15
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	50	50	20	10–15
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств	50	50	20	10–15
Э. Кибл и др. [4]	80–120	50–75	—	—

Примечание. Знак «—» — отсутствие сведений.

Таблица 9. Оптимальные рекомендованные и максимальные объемы однократного введения лекарственных препаратов лабораторным животным

Table 9. Optimal recommended and maximum medicine volumes administered to laboratory animals

Вид введения		Объемы введения (мл/кг) для животных			
		мышь	крыса	морская свинка	кролик
Внутрижелудочное	рекомендованный объем	5–10	5–10	5–10	2–10
	максимальный объем	11–16	11–25	11–20	11–15
Подкожное	рекомендованный объем	8	5	5	1
	максимальный объем	10	5	10	1
Внутримышечное	рекомендованный объем	1	0,5	0,5	0,06
	максимальный объем	2	1	0,5	0,25
Внутривенное	болюсное введение	5–8	5	5	1,25–2
	инфузионное введение	12–25	20	20	10
Внутрибрюшинное	рекомендованный объем	20	10	10	2,5–5
	максимальный объем	80	20	20	10–15

с лабораторными животными. В случае выбора максимальных объемов для введения препарата животным этот дизайн исследования должен быть дополнительно обоснован, например, невозможностью получения данных о токсичности исследуемого вещества без использования больших объемов, введенных за один раз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ российских и зарубежных рекомендаций по различным способам и объемам введения лекарственных средств мышам, крысам, морским свинкам и кроликам позволил систематизировать эти данные с учетом анатомических и физиологических особенностей лабораторных животных, возможности депривации кормом и водой, способов снижения болезненных ощущений для животных и предложить оптимальные рекомендованные и максимальные объемы введения.

Проведенная работа позволит в дальнейшем гармонизировать общие вопросы дизайна доклинических исследований и ускорить процесс взаимного признания результатов, полученных в разных странах, а также будет способствовать сокращению количества лабораторных животных, ежегодно используемых для проведения экспериментов, и предотвращению получения недостоверных данных.

Благодарности. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Acknowledgements. The study was performed with no external funding.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Franco NH, Olsson IA. Scientists and the 3Rs: attitudes to animal use in biomedical research and the effect of mandatory training in laboratory animal science. *Lab Anim.* 2014;48(1):50–60. <https://doi.org/10.1177/0023677213498717>
2. Hau J, Schapiro SJ. *Handbook of laboratory animal science*. 3rd ed. New York: CRC Press; 2011.
3. Suckow MA, Stevens KA, Wilson RP. *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents*. New York: Academic Press; 2012.
4. Кибл Э, Мередит А, ред. *Грызуны и хорьки. Болезни и лечение*. М.: Аквариум-Принт; 2013. [Keeble E, Meredith A, eds. *Rodents and ferrets. Diseases and treatment*. Moscow: Aquarium Print; 2013 (In Russ.)]
5. Turner PV, Brabb T, Pekow C, Vasbinder MA. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2011;50(5):600–13. PMID: 22330705
6. Макарова МН, Рыбакова АВ, Гушчин ЯА, Шедько ВВ, Музыкян АА, Макаров ВГ. Анатомо-физиологическая характеристика пищеварительного тракта у человека и лабораторных животных. *Международный вестник ветеринарии*. 2016;(1):82–104. [Makarova MN, Rybakova AV, Gushchin YaA, Shed'ko VV, Muzhikyan AA, Makarov VG. Anatomical and physiological characteristics of digestive tract in humans and laboratory animals. *Mezhdunarodny vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2016;(1):82–104 (In Russ.)]
7. Гушчин ЯА, Музыкян АА, Шедько ВА, Макарова МН, Макаров ВГ. Сравнительная анатомия верхнего отдела желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных и человека. *Международный вестник ветеринарии*. 2017;(3):116–29. [Gushchin YaA, Muzhikyan AA, Shed'ko VV, Makarova MN, Makarov VG. Comparative anatomy of the upper gastrointestinal tract of experimental animals and humans. *Mezhdunarodny vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2017;(3):116–29 (In Russ.)]
8. Mule F, Amato A, Serio R. Gastric emptying, small intestinal transit and fecal output in dystrophic (MDX) mice. *J Physiol Sci.* 2010;60(1):75–9. <https://doi.org/10.1007/s12576-009-0060-8>
9. Wang SC, Lu KY, Chen SM, Young TK. Gastric emptying and intestinal transit of liquid and solid markers in rats with chronic uremia. *Chin J Physiol.* 2001;44(2):81–7. PMID: 11530948
10. Макарова МН, Крышень КЛ, Алякринская АА, Рыбакова АВ, Макаров ВГ. Характеристика микрофлоры кишечника у человека и лабораторных животных. *Международный вестник ветеринарии*. 2016;(4):97–105. [Makarova MN, Kryshen KL, Alyakrin-

- skaya AA, Rybakova AV, Makarov VG. Characteristics of the intestinal microflora in humans and laboratory animals. *Mezhdunarodny vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2016;(4):97–105 (In Russ.)]
11. Manning PJ, Ringler DH, Newcomer CE, eds. *The biology of the laboratory rabbit*. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 1994.
 12. Wolfensohn S, Lloyd M. *Handbook of laboratory animal management and welfare*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2003.
 13. Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J Appl Toxicol*. 2001;21(1):15–23. PMID: 11180276
 14. Hankenson FC. *Critical care management for laboratory mice and rats*. New York: CRC Press; 2013.
 15. Fox J, Barthold S, eds. *The mouse in biomedical research: normative biology, husbandry, and models*. 2nd ed. Elsevier; 2007.
 16. Западнюк ИП, Западнюк ВИ, Захария ЕА, Западнюк БВ. *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте*. 3-е изд. Киев: Вища школа; 1983. [Zapadnyuk IP, Zapadnyuk VI, Zakhariya EA, Zapadnyuk BV. *Laboratory animals. breeding, maintenance, use in the experiment*. 3rd ed. Kiev: Vishcha shkola; 1983 (In Russ.)]
 17. Каркищенко НН, Грачев СВ, ред. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. М.: Профиль-2С; 2010. [Karkishchenko NN, Grachev SV, eds. *Guidance on laboratory animals and alternative models in biomedical research*. Moscow: Profile-2S; 2010 (In Russ.)]
 18. Clemons DJ, Seeman JL. *The laboratory guinea pig*. 2nd ed. New York: CRC Press; 2011.

ОБ АВТОРАХ

Рыбакова Анна Владимировна, канд. вет. наук, заместитель директора по ветеринарии НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»

Макарова Марина Николаевна, д-р мед. наук, директор НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2686-0952>

Кухаренко Андрей Евгеньевич, канд. фарм. наук, менеджер по клинической безопасности «Эбботт Лэбораториз»

Абхижит Суреш Вичаре, магистр вет. наук, менеджер по токсикологии Abbott Healthcare Pvt. Ltd., **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9107-4029>

Фрауке-Регина Рюффер, д-р вет. наук, инспектор по благополучию животных Abbott Laboratories GmbH

AUTHORS

Anna V. Rybakova, Cand. Sci. (Vet.), Deputy Director for Veterinary Medicine of Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY»

Marina N. Makarova, Dr. Sci. (Med.), Director of Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY», **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2686-0952>

Andrey E. Kukharensko, Cand. Sci. (Pharm.), Manager for Preclinical Safety of Abbott Laboratories LLC

Abhijit Suresh Vichare, MVSc, Toxicology Manager of Abbott Healthcare Pvt. Ltd., **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9107-4029>

Frauke-Regina Rueffer, PhD (Vet.), Animal Welfare Officer of Abbott Laboratories GmbH

Статья поступила 04.05.2018

После доработки 26.07.2018

Принята к печати 19.11.2018

Article was received 4 May 2018

Revised 26 July 2018

Accepted for publication 19 November 2018