



# ЗАО «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ», Санкт-Петербург

## Объем выборки животных, необходимый для проведения доклинических исследований

**Рыбакова Анна Владимировна**

**Макарова М.Н., Шекунова Е.В., Макаров В.Г.**

[rybakova.av@doclinika.ru](mailto:rybakova.av@doclinika.ru)

В соответствии с принципами биоэтики, установленными Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях, а также в соответствии с требованиями концепции «3R» [1, 2], при проведении доклинических исследований на животных, необходимым является изучение общей токсичности и специфической активности новых или воспроизведенных лекарственных препаратов.

Для изучения острой токсичности, где необходимо определить ЛД50, количество животных, необходимых для проведения этих экспериментов зависит от метода, который будет применен для расчета ЛД50. Чаще всего, для этого используется метод пробит-анализа. Изучение острой токсичности обычно проводят на грызунах, и крайне редко на не грызунах. В среднем на эксперимент необходимо 55 самцов и 55 самок грызунов. Сегодня широкое распространение приобретают методы, позволяющие использовать только одну дозу исследуемого вещества или резко сократить количество животных за счет использования эскалации доз и тщательного клинического наблюдения за каждым животным, например, метод up-and-down.

На основании протоколов ОЭСР [3], ГОСТ 32519-2013, EPA OPPTS и FDA при изучении субхронической и хронической токсичности на грызунах рекомендовано использовать не менее 4-х групп и не менее 10-20 особей каждого пола в группе. Общее количество животных при этом составляет 50-100 голов. При использовании не грызунов в соответствии с протоколами ОЭСР, EPA OPPTS и FDA необходимо как минимум 4 группы по 4 особи каждого пола. Итого общее минимальное количество не грызунов необходимые для исследования и получения достоверных результатов составляет 32 особи.

В таблице приведен вариант расчета количества животных в группе для выявления статистических различий по ряду показателей биохимического анализа крови между контрольной группой и группой, получавшей препарат. В случае введения препарата 1 статистически достоверные (и клинически значимые) отличия были выявлены в эксперименте по показателям АСТ, АЛТ, ЩФ. При введении препарата 2 статистически достоверные (и клинически значимые) отличия были выявлены в эксперименте по показателям АСТ, АЛТ, триглицериды, общий билирубин, креатинин, мочевины. Как видно из таблицы 1, расчетное количество животных в группе, которого было бы достаточно для сравнения двух групп при наличии эффекта препарата на данный показатель, колеблется от 1 до 10.

В случае отсутствия клинически значимого эффекта количество животных должно быть увеличено многократно, при этом даже выявленная статистическая значимость не будет гарантировать наличие клинически значимого изменения показателя, как, например, снижение уровня глюкозы с 7,6 в контроле до 7,1 в группе, получавшей препарат 1, не является клинически значимым.

Таким образом, при определении объема выборки животных для исследования хронической токсичности, необходимо учесть доступные литературные данные о влиянии исследуемого препарата на планируемые к изучению показатели (биометрические, биохимические, гистологические и др.).

Названия исследованных параметров	Ед. измерения	Контроль (20 животных) M±SD	Препарат 1 (10 животных) M	Необходимое количество животных (при мощности – 80%, альфа= 5%)	Препарат 2 (10 животных) M	Необходимое количество животных (при мощности – 80%, альфа= 5%)
Аспаргатаминотрансфераза (АСТ)	Ед/л	122±18	178*	2	181*	2
Аланинаминотрансфераза (АЛТ)	Ед/л	54±12	77*	5	75*	5
Щелочная фосфатаза	Ед/л	169±13	203*	3	186	10
Холестерин	ммоль/л	2,0±0,35	2,1	192	1,9	195
Триглицериды	ммоль/л	0,9±0,3	1,0	132	1,3*	9
Общий билирубин	мкмоль/л	48±9	48	3455	75*	2
Общий белок	г/л	75±5	75	1209	75	888
Альбумин	г/л	32±2	31	33	31	59
Глобулины	г/л	42±4	44	43	44	52
Креатинин	мкмоль/л	72±8	77	30	107*	1
Мочевина	ммоль/л	5,8±1,0	6,4	46	10,9*	1
Глюкоза	ммоль/л	7,6±1,3	7,1	110	8,2	76

\* - клинически значимое отклонение по сравнению с контрольной группой  
M - среднее значение  
SD - стандартное отклонение  
Вычисление числа животных в группе, которое необходимо для выявления статистических отличий между двумя группами, проведено с помощью он-лайн калькулятора (<http://powerandsamplesize.com/Calculators/>)

Параметры исследования	Грызуны						Крупные животные (не-грызуны)					
	Субхроническая токсичность			Хроническая токсичность			Субхроническая токсичность			Хроническая токсичность		
	OECD	FDA	EPA	OECD	FDA	EPA	OECD	FDA	EPA	OECD	FDA	EPA
Длительность исследования	≥ 90 дней	≥ 90 дней	≥ 90 дней	≥ 12 месяцев	≥ 12 месяцев	≥ 12 месяцев	≥ 90 дней	≥ 90 дней	≥ 90 дней	≥ 12 месяцев	≥ 12 месяцев	≥ 12 месяцев
Количество групп	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4
Количество животных в группе каждого пола	≥ 10	≥ 20	≥ 10	≥ 20	≥ 20	≥ 20	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≥ 4
Возраст животных (на начало исследования)	< 9 недель	< 6 недель	< 8-9 недель	< 8 недель	< 6 недель	< 8 недель	4-6 месяцев	4-6 месяцев	4-6 месяцев	-	4-6 месяцев	4-6 месяцев

При изучении специфической активности, мощность выборки может быть определена с помощью статистических методов, когда используются параметры с известной вариабельностью или хорошо отработанные в лаборатории. При использовании мелких лабораторных животных количество животных в группе обычно составляет от 6 до 15 особей.

- Russell W.M.S. and Birch R.L. *The principles of humane experimental technique*. Methuen, London (1959).
- Van Zutphen B.F.M. and van der Valk J.B.F. *Education and training a basis for the introduction of the Three Rs alternatives into animal research.*, ATLA, 23, 123-128 (1995)
- OECD Guideline for testing of chemicals. *Chronic Toxicity Studies.*, № 452. (2009)



[www.doclinika.ru](http://www.doclinika.ru)  
[info@doclinika.ru](mailto:info@doclinika.ru)

188663, Ленинградская область,  
Всеволожский район, гп Кузьмоловский,  
ул. Заводская, д. 3, к. 245

