

# Использование морских свинок в доклинических исследованиях

М.Н. Макарова\*, В.Г. Макаров

АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., Россия

\* E-mail: makarova.mn@doclinika.ru

**Резюме.** Морская свинка (*Cavia porcellus*) принадлежит к отряду грызунов (*Rodentia*), подотряд дикобразообразные (*Hystriocomorpha*). Морские свинки филогенетически более тесно связаны с дикобразами и шиншиллами, чем с мышами или крысами. Эти животные используются в биомедицинских исследованиях при изучении метаболических нарушений, астмы, слуха, сердечно-сосудистой системы, в иммунологии, при изучении инфекционных заболеваний. Однако в исследованиях фармакологической безопасности и в токсикологии морские свинки используются несколько реже. При изучении фармакологической безопасности в отношении сердечно-сосудистой системы морская свинка является единственным из рекомендуемых для этого типа исследований видом лабораторных грызунов. Морские свинки используются в исследованиях сенситизации, фототоксичности, ототоксичности, токсичности при накожном нанесении, а также в определении влияния на онтогенетическое развитие. Как и в случае со всеми другими видами лабораторных животных, у морских свинок есть ряд особенностей, которые необходимо учитывать при планировании экспериментов. У морских свинок наблюдается значительная потребность в витамине С. Содержащиеся на диете животные с дефицитом витамина С имеют симптомы, напоминающие цингу. Пищевая депривация и недостаток воды могут стать причиной гибели морских свинок. Они с трудом адаптируются к диете, отличной от той, к которой привыкли. Животные очень чувствительны к антибиотикам. У морских свинок сложнее взять образцы крови и им труднее ввести препарат внутривенно по сравнению с другими видами лабораторных животных, так как у них сосуды расположены глубже, вены маленькие и хрупкие. Поскольку морские свинки чувствительны к тератогенным эффектам, вызванным различными экологическими и химическими агентами, животные могут служить альтернативной моделью для исследований влияния на онтогенез, когда традиционные модели не подходят. Однако морские свинки обладают характеристиками, которые отличают их от других видов, обычно используемых для исследований токсического воздействия на развитие (кроликов, крыс). Беременность длится дольше, чем у других грызунов, детеныши рождаются полностью сформировавшимися. Для морских свинок целесообразно использовать модифицированные протоколы исследований репродуктивной токсичности. Наиболее часто в токсикологии животных используют в исследованиях сенситизации и фотосенсибилизации. Морская свинка является прекрасной моделью для исследования анафилаксии и других иммунологических процессов, что обусловлено тем фактом, что иммунные реакции у них (как клеточные, так и гуморальные) более выражены по сравнению с реакциями у человека. Морские свинки — наиболее часто используемые лабораторные грызуны при оценке фототоксичности.

**Ключевые слова:** морская свинка, *Cavia porcellus*, биомедицинские исследования, токсикология

**Благодарности.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Для цитирования:** Макарова М.Н., Макаров В.Г. Использование морских свинок в доклинических исследованиях. Лабораторные животные для научных исследований. 2024; 2. 4–26. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-02-01>.

Review

## Guinea pig in preclinical research

М.Н. Makarova\*, V.G. Makarov

Research and manufacturing company "Home of Pharmacy", Leningrad oblast, Russia

\* E-mail: makarova.mn@doclinika.ru

**Abstract.** The guinea pig (*Cavia porcellus*) belongs to the order of rodents (*Rodentia*) in the suborder *Hystriocomorpha*. Guinea pigs are more closely related to porcupines and chinchillas than to mice or rats. Guinea pigs are used in biomedical research: metabolic disorders, asthma research, audiology, cardiovascular system research, immunology, infectious diseases research. In safety assessment and toxicology studies, however, the use of the guinea pig is a bit narrower. The guinea pig is the only species of laboratory

© Макарова М.Н., Макаров В.Г., 2023

rodent recommended for cardiovascular safety pharmacology research. Guinea pigs are used in studies of sensitization, phototoxicity, ototoxicity, in dermal toxicity studies, in developmental toxicity studies. As with all other laboratory animal species, guinea pigs have a number of characteristics that must be taken into account when planning experiments. Guinea pigs require a dietary source of vitamin C. The animal maintained on a vitamin C-deficient diet develops scurvylike symptoms. Food deprivation and lack of water can cause death in guinea pigs. They have difficulty adapting to a diet different from the one they are used to. Guinea pigs are very sensitive to antibiotics. In guinea pigs, the procedures for collecting blood samples and intravenous administration of drugs are more complex than in other types of laboratory animals, since in guinea pigs the vessels are located deeper and the veins are small and fragile. Because guinea pigs are sensitive to teratogenic effects caused by various environmental and chemical agents, these animals can serve as an alternative model for studies of developmental effects when traditional models are not suitable. Guinea pigs have characteristics that make them unlike any of the other species commonly used for developmental toxicity studies (rabbits, rats). Pregnancy lasts longer than in other rodents, and the young are quite mature at birth. It is advisable to use modified reproductive toxicity study protocols. The most common use of guinea pigs in toxicology is in various studies of sensitization and photosensitization. The guinea pig is an excellent model for anaphylaxis and other immunological processes, this excellence is founded on the fact that the immune responses in the guinea pig (both cellular and humoral) are exaggerated compared to humans. Guinea pigs are one of the most commonly used laboratory rodents in phototoxicity assessments.

**Keywords:** Guinea pigs, *Cavia porcellus*, biomedical research, toxicology

**Acknowledgements.** The study was performed without external funding.

**For citation:** Makarova M.N., Makarov V.G. Guinea pig in preclinical research. *Laboratory Animals for Science*. 2024; 2. 4–26. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-02-01>.

## Введение

Морская свинка (*Cavia porcellus*) принадлежит к отряду грызунов (*Rodentia*), подотряд дикобразообразные (*Hystricomorpha*). Филогенетически морские свинки более тесно связаны с дикобразами и шиншиллами, чем с мышами или крысами [1].

Морские свинки родом из горных районов Южной Америки, где они были одомашнены еще 3000 лет назад. Дикие виды морских свинок до сих пор обитают в Колумбии, Перу, Венесуэле, Аргентине, Бразилии и Парагвае. Одомашненных свинок в этих странах используют в пищу. В дикой природе морские свинки живут небольшими группами и поэтому часто чувствуют себя более комфортно в присутствии других морских свинок, когда их содержат в качестве домашних питомцев [2].

Впервые морские свинки были описаны в XVI веке. Первые упоминания об использовании морских свинок как лабораторных животных относятся к 1780-м годам в работах французского естествоиспытателя А.Л. Лавуазье, который применял их для измерения теплопродукции животных. С тех пор морские свинки широко применяются в качестве экспериментальных в биомедицинских исследованиях. По данным американских ученых, за 1965 г. в США для исследований ежегодно использовалось около 2,5 млн морских свинок. К 1983 г. общее количество участвовавших в экспериментах морских свинок существенно снизилось и составило 521 237 особей (из них 28 753 использовались в токсикологии) [1].

Популярность морских свинок в качестве домашних питомцев и лабораторных живот-

ных во многом обусловлена их послушным характером. Они редко кусаются и царапаются. Кроме того, морские свинки представляют собой промежуточный вид по простоте и стоимости ухода. Хотя их значительно легче и дешевле содержать, чем приматов, собак или кроликов, но явно дороже и труднее, чем крыс или мышей. Морские свинки относительно крупные животные, что требует достаточно просторных клеток и больших пространств. Масса тела взрослых особей зависит от линии. Например, масса самок морских свинок линии Hartley в возрасте 12 нед около 600 г, самцов — 800 г. У свинок линии 13 масса взрослых самцов в среднем 1040 г, самок — 940 г. Продолжительность жизни составляет от 2 до 6 лет. Полового созревания животные достигают в возрасте 45–70 дней, возраст для размножения 12–14 нед [1].

Морские свинки используются в различных экспериментах при исследовании метаболических нарушений, астмы, слуха, сердечно-сосудистой системы, в иммунологии, при изучении инфекционных заболеваний. Морская свинка очень восприимчива к возбудителю туберкулеза человека. Еще одна болезнь человека, которая также свойственна морским свинкам, — это цинга, неинфекционное заболевание, вызванное дефицитом витамина С в рационе.

Однако в исследованиях фармакологической безопасности и токсикологических экспериментах морские свинки участвуют несколько реже. Свинки используются в основном в исследованиях сенситизации, фототоксичности, ототоксичности, токсичности при накожном нанесении, в изучении влияния на онтогенетическое развитие [1].

## Использование морских свинок для моделирования различных заболеваний

### Метаболические нарушения

Показано, что липидный обмен у морских свинок имеет некоторое сходство с метаболизмом липидов у человека. В частности, большая часть холестерина плазмы у морских свинок находится в составе липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Для морских свинок характерно высокое значение отношения ЛПНП к липопротеинам высокой плотности (ЛПВП), концентрация в печени свободного холестерина выше, чем этерифицированного. У морских свинок есть различные ферменты, которые метаболизируют липопротеины, в частности, CETP (cholesterol ester transfer protein, белок-переносчик эфиров холестерина), LCAT (lecithin-cholesterol acyltransferase, лецитинхолестеринацилтрансфераза). Система обратного транспорта холестерина морских свинок во многом сходна с системой человека. Более того, у морских свинок, как и у людей, наблюдаются ограниченный синтез холестерина в печени и скорость катаболизма. Для крыс, например, характерны высокая скорость катаболизма холестерина и преобладание синтеза холестерина в печени. У самок морских свинок более высокое содержание ЛПВП, чем у самцов. Большая часть редактирования мРНК аполипопротеина В у них осуществляется в кишечнике с незначительным редактированием в печени. У морских свинок и людей имеется сходство в механизме удаления ЛПНП из плазмы, при этом печень служит основным местом рецепторзависимого клиренса ЛПНП. В ответ на физическую нагрузку у морских свинок наблюдаются такие же изменения в метаболизме липопротеинов, как и у людей [3, 4].

На морских свинках достаточно подробно изучено влияние различных диет на липидный метаболизм. Например, диета с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот (кукурузное масло) снижала ЛПНП в отличие от диеты, содержащей насыщенные жирные кислоты (пальмовое масло или диета с добавлением сала). В целом показано, что изменения липидного обмена, развивающиеся у морских свинок в ответ на различные типы жиров, поступающих с пищей, сходны с таковыми, наблюдаемыми у людей [3].

В исследованиях 1960–1970-х годов по изучению влияния поступления холестерина при соответствующей диете сообщалось, что это может приводить к таким последствиям у морских свинок, как гемолитическая анемия, появление абнормальных липопротеинов, изменения метаболизма липидов, которые трактовали как видоспецифические особенности. В этих экспериментах при определенной диете животные получали холестерин в концентрации 1–2%, что соответствует потреблению

7500–15 000 мг холестерина в день для человека, поэтому клиническое значение таких исследований ограничено. Позднее было показано, что использование диеты, содержащей 0,08%, 0,17% или 0,33% холестерина (что эквивалентно 600–2500 мг холестерина в день для человека), приводило к дозозависимому увеличению содержания не только ЛПНП в плазме крови, но и холестерина в печени. Кроме того, реакция морских свинок на поступление холестерина с пищей весьма разнообразна, есть животные, у которых отмечается выраженное увеличение холестерина в плазме, другие практически не реагируют на поступление холестерина с пищей, что соотносится с клинической ситуацией. Показано также, что характерные для ранней стадии атеросклероза изменения у морских свинок наблюдаются при поступлении холестерина с пищей в объеме, сопоставимом потреблению холестерина человеком в количестве 2000 мг в день [3].

На морских свинках также изучается влияние различных типов пищевых волокон на снижение уровня ЛПНП. Например, введение в их рацион пектина растительного происхождения снижало уровень ЛПНП на 33% по сравнению с животными, получавшими обычный рацион [3].

Установлено, что физические упражнения благотворно влияют на липидный профиль у человека, снижая уровень триглицеридов в плазме крови и увеличивая содержание ЛПВП. У морских свинок, которые в течение 6 нед проводили по 30–40 мин в день на специальной беговой дорожке, наблюдались аналогичные изменения — снижение уровня триглицеридов и увеличение уровня ЛПВП в плазме крови [3].

Известно, что высокие уровни триглицеридов и низкие уровни ЛПВП в плазме крови являются факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у женщин, тогда как основной фактор риска у мужчин — увеличение уровня ЛПНП. У женщин в постменопаузе увеличивается риск развития сердечно-сосудистых заболеваний из-за увеличения уровня ЛПНП, аполипопротеина В и триглицеридов. Морские свинки могут служить моделью для изучения механизмов этих различий и терапевтических вмешательств, так как у этих животных также наблюдаются сходные половые различия липидного профиля и метаболизма. В частности, самки морских свинок более чувствительны к поступлению холестерина с пищей, чем самцы. У самок концентрация ЛПВП выше, чем у самцов. У овариэктомированных самок увеличивается уровень триглицеридов и ЛПНП [3].

Морские свинки — наиболее подходящая модель для изучения роли витамина С в жировом обмене в печени, регуляции содержания липидов в плазме и развития атеросклероза, так как морские свинки — один из видов млекопитающих, которым требуется поступление витамина С с пищей. Эпидемиологические ис-

следования выявили негативную корреляцию между потреблением витамина С и уровнем холестерина в плазме. В исследованиях на морских свинках показано, что недостаточное потребление витамина С с пищей ведет к развитию гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии, и это может способствовать развитию атеросклероза [3].

В 1980–1990-х годах был проведен ряд исследований, в которых показано, что дефицитная по витамину С диета способствует развитию атеросклеротических изменений в сосудах у морских свинок, причем выраженность этих изменений усиливалась, если животные получали диету с дефицитом витамина С и с добавлением холестерина [3].

Ранние атеросклеротические изменения воспроизводились на самцах, самках морских свинок и на овариэктомированных самках, получавших диету с добавлением холестерина в течение 12 нед. Замечено также, что у самок патологические изменения были менее выражены по сравнению с самцами и овариэктомированными самками [5].

Влияние диеты с высоким содержанием жиров и холестерина изучали в сравнительном исследовании на трех видах грызунов. Группы хомяков, песчанок и морских свинок получали либо обычный рацион, либо диету с высоким содержанием жиров и холестерина в течение 7 дней. 50% животных из каждой группы лишали корма за 12 ч до сбора крови для анализа концентрации общего холестерина и триглицеридов. У всех видов грызунов диета с высоким содержанием жиров и холестерина приводила к увеличению концентрации общего холестерина как минимум на 370%. Лишение корма значительно снижало концентрацию общего холестерина у хомяков и песчанок, получавших модифицированную диету, но не оказывало влияния на животных, имевших обычный рацион. Концентрации триглицеридов повышались под влиянием модифицированной диеты у хомяков и песчанок. Как и в случае с общим холестерином, концентрация триглицеридов снижалась на фоне пищевой депривации у этих видов животных. Авторы полагают, что морская свинка является наиболее подходящей моделью для изучения гиперхолестеринемии, поскольку у этих животных наблюдалось умеренное повышение уровня холестерина в плазме крови и не регистрировалось увеличения триглицеридов в ответ на высокожировую диету. Хомяков целесообразно использовать как модель для изучения гипертриглицеридемии, поскольку повышенные концентрации триглицеридов в сыворотке можно легко поддерживать с помощью высокожировой диеты [6].

#### **Атеросклероз**

Морские свинки используются в исследованиях атеросклероза. Наиболее часто опыты проводят на аутбредных свинках линии Данкин—

Хартли (Dunkin—Hartley), а также на инбредных линиях 2 и 13.

Как и у других грызунов, гиперхолестеринемия у морских свинок развивается при потреблении диеты, богатой холестерином (от 0,2% до 2,5%) и жирами (от 7,5% до 45%). Как правило, одна из наиболее широко применяемых диет с высоким содержанием холестерина (15% сала, 0,25% холестерина) позволяет достигать у морских свинок уровня холестерина около 300 мг/дл (7,8 ммоль/л) и ЛПНП около 260 мг/дл (6,7 ммоль/л) [4].

На морских свинках изучали эффективность таких групп лекарственных препаратов, как статины, агонисты PPAR- $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptors, рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом), а также препарата эзетимиб (ингибитор абсорбции холестерина). В целом морские свинки широко используются для оценки эффективности статинов, но реже (по сравнению с мышами и крысами) выбираются в качестве модели для изучения эффективности новых препаратов, регулирующих жировой обмен. Преимуществом использования морских свинок является то, что у них, как и у людей, большая часть холестерина находится в составе ЛПНП и в меньшей степени — ЛПВП [4, 7].

Несмотря на упомянутые выше преимущества использования морских свинок в исследованиях атеросклероза, изменения, которые удается получить на морских свинках, не воспроизводят в полном объеме наблюдаемые у людей. При моделировании атеросклеротических изменений у морских свинок не происходит разрывов бляшки и инфаркта миокарда. В экспериментальных исследованиях используются разные диеты и разные методы оценки атеросклеротических поражений, что затрудняет проведение прямого сравнения результатов. Для количественной оценки поражений аорты используются многочисленные методы, в том числе анализ всей аорты, оценка толщины аорты, образования бляшек. В большинстве исследований на морских свинках сообщалось об успешном воспроизведении только ранних маркеров формирования атеросклеротических поражений. Типичными ранними маркерами атеросклероза у морских свинок являются поражения аорты (нарушение внутренней эластичной пластинки и образование липидных клеток). Так, у морских свинок, которые получали в течение 120 дней диету, содержащую 15% жира и 0,2% холестерина, образовалась область, насыщенная липидами, которая составляла 15% интимы аорты. Было показано, что у морских свинок, находящихся на диете с высоким содержанием жиров, развивается ожирение печени, но отложение холестерина в аорте минимально. Вопрос о том, подходят ли морские свинки для моделирования вызванного диетой атеросклероза, остается открытым [4].

### Инфекционные заболевания

В ряде исследований выявлено существенное иммунологическое сходство между рядом иммунных белков морских свинок и людей. Главный комплекс гистосовместимости (МНС) морской свинки гомологичен таковому человека. Система комплемента морской свинки в большей степени, чем мыши, напоминает таковую человека. В отличие от мышей или крыс у морских свинок есть несколько гомологов человеческих белков CD1 группы 1 (то есть CD1b, CD1c и CD1e), которые экспрессируются в лимфоидных и нелимфоидных тканях. Сходные, но генетически отличающиеся от МНС эти белки являются антигенпрезентирующими молекулами при инфекциях, таких как туберкулез, что делает морскую свинку незаменимой в исследовании этого и других заболеваний. Человек и морские свинки, по-видимому, имеют схожие закономерности генетической экспрессии IFN $\gamma$  и индуцибельной синтазы оксида азота при инфицировании. Морская свинка является хорошей моделью для изучения цитокина интерлейкин-8 (IL-8), поскольку ни гена *IL-8*, ни его рецептора CXCR1 нет у мышей или крыс, но они присутствуют у морской свинки. Аминокислотные последовательности другого цитокина (IL-12) морских свинок по сравнению с крысами и мышами также демонстрируют большее сходство с таковыми человека [8].

### Туберкулез

Морские свинки восприимчивы к возбудителю туберкулеза человека *Mycobacterium tuberculosis*. Туберкулез индуцируется у морских свинок путем воздействия на животное низких доз аэрозоля, содержащего возбудитель (от 10 до 50 КОЕ), что хорошо воспроизводит способ заражения человека. Действительно, в отличие от других моделей животных (например, мышей) исследования показывают, что морская свинка является подходящей моделью первичного туберкулеза человека из-за ее чрезвычайной восприимчивости к инфекции, сходных симптомов и патофизиологии, реакции гиперчувствительности замедленного типа. Морские свинки хорошо отвечают на терапию стандартными препаратами, химиотерапию, а также на вакцинацию БЦЖ (бацилла Кальметта—Герена). У инфицированных морских свинок также наблюдается лимфаденит, который обычно встречается у детей, больных туберкулезом. Морские свинки считаются «золотым стандартом» в доклинических исследованиях новых лекарств и вакцин, нацеленных на лечение и профилактику туберкулеза [8].

Морских свинок часто используют в исследованиях для определения влияния туберкулезной инфекции на иммунную систему или прививок микобактериальными компонентами. Тесты по оценке пролиферативной активности лимфоцитов и кожной реакции применяются для характеристики и сравнения

реакций гиперчувствительности замедленного типа. Морские свинки используются для исследования реагентов, предназначенных для диагностических кожных тестов [9].

Хотя морские свинки восприимчивы к туберкулезу, внешне признаки заражения проявляются только на поздних стадиях заболевания. Снижение массы тела является хорошим индикатором прогрессирующей инфекции, который в совокупности с такими показателями, как общее поведение, состояние шерсти, потребление пищи и воды, обычно используемыми для мониторинга благополучия животных и при необходимости для определения гуманной конечной точки. Патологические изменения, возникающие в легких и внелегочных отделах у морских свинок после инфицирования, хорошо изучены. Ключевые особенности патологии включают образование (как и у людей) гранулемы с центральным некрозом, окруженной лимфоцитами, макрофагами и многоядерными гигантскими клетками, и фиброзной капсулы [9].

### Болезнь легионеров

Болезнь легионеров начала изучаться более активно в 1980-х годах после печально известной вспышки болезни 1976 г. в Филадельфии, когда примерно у 220 человек, присутствовавших на съезде Американского легиона, появились симптомы, похожие на пневмонию, причем 34 из заболевших умерли. В этот период в экспериментах на морских свинках был выделен возбудитель заболевания — *Legionella pneumophila Philadelphia* (серогруппа 1). Использование морских свинок для изучения этого заболевания получило дальнейшее развитие, так как морские свинки оказались более восприимчивы к этой бактерии по сравнению с другими видами грызунов, а также из-за сходства развития заболевания и симптомов с наблюдаемыми у инфицированных людей. Для заражения морских свинок инфицируют *L. pneumophila* путем введения аэрозоля или эндотрахеальной, внутрибрюшинной, интраназальной инокуляции. Примерно через 1 нед после инокуляции у морских свинок появляются такие же клинические и патофизиологические симптомы, как у людей: лихорадка, потеря массы тела, затруднение дыхания и (в некоторых случаях) смерть. Кроме того, как и у людей, у морских свинок обнаружен антиген к *L. pneumophila* [8].

### Хламидиоз

Заражение морских свинок хламидийным возбудителем конъюнктивита напоминает передачу половым путем и заражение людей *Chlamydia trachomatis*. В этой модели самцов морских свинок заражают внутриуретрально возбудителем конъюнктивита, а затем ссаживают с самками морских свинок для передачи заболевания половым путем. Симптомы инфекции могут включать острую воспалительную реак-

цию. Обильных выделений из уретры у самцов морских свинок не наблюдается, но это сходно с клинической ситуацией, когда заболевание часто протекает бессимптомно. Беременные самки морских свинок могут передать инфекцию своему потомству во время родов, что приводит к врожденному конъюнктивиту. Как и у людей, повторное заражение у морских свинок приводит к хронической воспалительной реакции и повреждению маточных труб [8].

#### **Золотистый стафилококк**

*Staphylococcus aureus*, наиболее распространенный источник внутрибольничных инфекций, часто приводит к тяжелым осложнениям, таким как сепсис, эндотоксикоз и, возможно, к смерти пациентов с контаминированными хирургическими ранами. Было установлено, что модели на морских свинках-альбиносах и свинках, лишенных шерстного покрова, инфицированных *S. aureus*, позволяют изучать различные характеристики этой бактерии. Как и человек, морские свинки очень восприимчивы к стафилококковой инфекции, поэтому их используют в различных исследованиях для оценки метициллинрезистентного *S. aureus*, стафилококковых дермонекротических реакций, диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, инфекционного эндокардита, а также для определения бактериальных факторов, таких как стафопаины (то есть цистеиновые протеазы), которые приводят к септическому шоку [8].

#### **Астма**

Ряд лекарственных кандидатов, которые снижали гиперчувствительность дыхательных путей и воспаление на моделях-мышцах, оказался неэффективным при астме в клинических исследованиях. Поэтому возникла большая потребность в новых, более релевантных моделях астмы на животных. Морские свинки широко используются в исследованиях астмы. Одной из причин является большее анатомическое и физиологическое сходство между дыхательными путями человека и морской свинки по сравнению с таковыми мышей, особенно в отношении разветвления дыхательных путей, нейрофизиологии, кровообращения и распределения гладких мышц, а также локализации тучных клеток и секреции медиаторов [10].

Реакция гиперчувствительности немедленного типа легких была описана у морских свинок более 100 лет назад. Исследования, проведенные на морских свинках, внесли огромный вклад в разработку методов фармакотерапии широкого спектра респираторных заболеваний. К ним относятся селективные агонисты  $\beta_2$ -адренорецепторов, антихолинергические средства, анти-IL-5, антагонисты рецепторов цистеиниллейкотриена (CysLT1) и ингибиторы 5-липноксигеназы. Эффективность многих препаратов этих групп впервые была показана ли-

бо в исследованиях *in vitro* с использованием изолированных препаратов дыхательных путей морских свинок, либо в экспериментах *in vivo* на моделях воспалительных реакций, вызванных аллергеном и/или на моделях бронхоспазма [10].

Морские свинки в большей степени, чем другие грызуны, удовлетворяют критериям, необходимым для моделей респираторных заболеваний человека, как сопоставимость физиологических, иммунологических механизмов и/или механизмов передачи сигналов, способствующих развитию патологии у человека. Например, в исследованиях реакции гиперчувствительности немедленного типа (аллергической) в дыхательных путях эффекты на орган-мишень, связанные с аллергениндуцированной активацией тучных клеток, включают сокращение гладких мышц дыхательных путей, секрецию слизи, экссудацию плазмы из посткапиллярных венул слизистой оболочки дыхательных путей, эозинофильный клеточный инфильтрат и ассоциированное с этим увеличение гиперчувствительности дыхательных путей. Эти острые эффекты, вызываемые аллергеном в дыхательных путях человека, опосредуются активацией гистаминового рецептора H1 и лейкотриенового рецептора cysLT1. Реакция дыхательных путей морских свинок на острое воздействие аллергена точно имитирует таковую, наблюдаемую у людей, и аналогичным образом включает активацию рецепторов H1 и cysLT1 [10–12].

В отличие от морских свинок, модели на мышцах имеют ограниченную прогностическую ценность для изучения патогенеза респираторных заболеваний человека. Например, хотя бронхоспазм, индуцированный аллергеном, у людей и морских свинок зависит в первую очередь от активации гистаминового H1 и лейкотриенового рецептора CysLT1, ни гистамин, ни лейкотриен не вызывают сокращение гладких мышц дыхательных путей *in vitro* и бронхоспазм *in vivo* у мышей. Скорее бронхоспазм, обусловленный аллергеном у мышей и крыс, зависит от высвобождения серотонина тучными клетками и активации парасимпатических нервов дыхательных путей. Тучные клетки человека и морской свинки содержат и выделяют мало серотонина, если вообще его выделяют, и этот биогенный амин не влияет на изолированные гладкие мышцы дыхательных путей человека [10, 13].

В дыхательных путях мышей также отсутствуют бронхиальное кровообращение и слизистые железы, которые есть в дыхательных путях человека и морских свинок, и в отличие от людей и морских свинок дыхательные пути мышей не имеют ингибирующей иннервации гладких мышц, чтобы противодействовать физиологическим эффектам острого приступа астмы. Даже подтипы  $\beta$ -адренорецепторов, которые можно активировать терапевтически

для купирования острого астматического бронхоспазма, отличаются у мышей от таковых человека или морских свинок [10].

Экспериментальная модель астмы на морских свинках была впервые представлена в 1937 г. P. Kallós и W. Pagel [14], с тех пор было разработано несколько протоколов. Влияние на успешность моделирования оказывают возраст животных, тип аллергена, дозы, пути введения и частота сенсibilизации аллергеном.

В моделях астмы у морских свинок беспородные животные-альбиносы являются наиболее распространенной лабораторной линией, хотя в ранних исследованиях использовались и другие, в том числе инбредные линии. Овальбумин — основной антиген, который используется в экспериментальных моделях астмы на морских свинках. Однократное или многократное введение овальбумина воспроизводит многие аспекты развития астмы. Установлено, что сенсibilизация морских свинок низкой дозой овальбумина (10 мкг) способствует развитию ранней астматической реакции с индукцией синтеза IgG<sub>1</sub> и IgE [15, 16], тогда как большая доза овальбумина (100 мкг) индуцирует как раннюю, так и позднюю астматическую реакцию с продукцией IgG<sub>1</sub> [10, 15]. Примечательно, что такая динамика развития реакции в зависимости от дозы антигена отмечена при применении протоколов сенсibilизации с помощью внутрибрюшинных инъекций овальбумина. Сенсibilизация низкой дозой овальбумина в виде аэрозоля индуцирует как раннюю, так и позднюю астматическую реакцию с продукцией IgG<sub>1</sub> и IgE, а большая доза вызывает позднюю астматическую реакцию, гиперчувствительность дыхательных путей и эозинофилию. Более того, сочетание внутрибрюшинных и подкожных инъекций вместе с введением в виде аэрозоля вызывает раннюю астматическую реакцию и появление овальбуминспецифичных IgG<sub>1</sub> и IgE, помимо гиперчувствительности дыхательных путей и эозинофилии, но не позднюю астматическую реакцию [10].

Некоторые другие соединения использовались в качестве аллергенов на моделях морских свинок, такие как очищенные белки насекомых (клещей, тараканов), тримеллитовый ангидрид. Однако эти модели не получили широкого распространения [10].

Наиболее распространенный режим воздействия аллергена состоит из фаз сенсibilизации и разрешения. Сенсibilизация обычно достигается однократным или многократным введением аллергена, тем не менее в некоторых протоколах используется периодическое введение аллергена в виде аэрозоля без четкой фазы сенсibilизации. При сенсibilизации возникает патологическая реакция иммунной системы на раздражитель (аллерген) без видимых изменений или симптомов. Фаза разрешения индуцирует острую реакцию, проявляющуюся быстро наступающим временным бронхоспаз-

мом (ранняя астматическая реакция). Одна из важных целей — смоделировать развитие поздней астматической реакции (сокращение мышц дыхательных путей и воспаление). Однако в ряде исследований указывается, что у морских свинок не наблюдается заметной поздней астматической реакции. У них бронхоконстрикция, вызванная аллергеном, имеет высокую индивидуальную вариабельность, как и у людей, страдающих астмой. Кроме этого, выраженность реакции, наблюдаемая на моделях морских свинок, связана в первую очередь со способом сенсibilизации и дозой аллергена. Доза аллергена тщательно подбирается в протоколах из-за высокого риска развития у морских свинок фатальной анафилаксии. Важную роль в воспроизводимости модели могут играть и другие факторы, такие как анестезия и использование антигистаминных препаратов для предотвращения анафилаксии. Часто морские свинки, у которых не наблюдается аллергической реакции, не включаются в исследование [10].

Инфекции являются причиной обострения астмы. Риновирус человека — наиболее часто выявляемый патоген, за ним следуют респираторно-синцитиальный вирус человека, метапневмовирус человека, вирус парагриппа человека, энтеровирус человека, бокавирус человека и коронавирус человека [17].

На морских свинках разработаны модели обострения астматической реакции на фоне вирусной инфекции, но их относительно мало по сравнению с моделями этого типа на мышах [10].

Респираторно-синцитиальный вирус человека является основной причиной серьезных респираторных заболеваний у детей грудного и раннего возраста. Вирус был впервые выделен от шимпанзе, экспериментальное заражение шимпанзе вызывает заболевание верхних дыхательных путей, напоминающее симптомами такового у людей. Однако признаков патологии нижних дыхательных путей у шимпанзе обнаружено не было. У морских свинок инфицирование респираторно-синцитиальным вирусом человека вызывает острый бронхолит без клинических признаков ухудшения состояния животных, в том числе без снижения массы тела. Вирусные антигены обнаруживаются преимущественно в эпителии дыхательных путей и альвеолярных макрофагах. Присутствие вируса наблюдалось в легких инфицированных морских свинок до 60 дней. Инфекция также увеличивает экспрессию цитокинов, количество лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и вызывает гиперреактивность дыхательных путей, возникающую у наивных или сенсibilизированных овальбумином морских свинок [17].

Были разработаны модели обострения астмы с использованием липополисахарида (ЛПС) для имитации воздействия грамотрицательных бактерий (например, *Haemophilus influenzae*). Показано, что воздействие ЛПС усиливало

воспалительные и функциональные реакции дыхательных путей на овальбумин и снижало чувствительность к кортикостероидам [18].

#### Исследования слуха

На морских свинках исследуются механизмы приобретенной потери слуха, которая может быть вызвана сильным звуком или ототоксичными препаратами. Морские свинки лучше слышат на немного более высоких частотах, чем человек, но слух этих животных по сравнению с крысами и мышами больше похож на таковой человека. Диапазон слуха человека обычно определяется как 20–20 000 Гц, тогда как морская свинка слышит звуки от 150 до 50 000 Гц. Человек лучше всего слышит в диапазоне от 1000 до 4000 Гц, а морская свинка — в диапазоне от 8000 до 16 000 Гц [19].

Как и другие грызуны, свинки более уязвимы к шумовым травмам, чем человек или нечеловекообразные приматы. Интересно, что улитка и круглое окно у морских свинок легко доступны, как у шиншиллы, что делает морскую свинку очень подходящей моделью для исследования слуха [19].

Морская свинка является одним из наиболее подходящих видов лабораторных животных для исследования воздействия шума на внутреннее ухо, учитывая перекрытие с диапазоном слышимых частот человека. Кроме того, морские свинки относительно легко обучаются выполнению задач по распознаванию стимулов, что необходимо для адекватной оценки сохранности слуха.

На свинках проводятся электрофизиологические исследования слухового нерва для определения степени нарушений локализации звука, при дефиците обработки надпороговых сигналов и др. Учитывая достаточно большой объем данных о функционировании слухового нерва морских свинок, эти животные являются идеальной моделью для исследования раннего воздействия шума на внутреннее ухо, а также защиты сенсорной системы с помощью отопротекторов [19].

Поскольку у морских свинок улитка и круглое окно легко доступны, эти животные также используются в исследованиях, в которых необходимы доставка препаратов во внутреннее ухо и отбор проб перилимфы с целью измерения уровня нейротрансмиттеров, нейромодуляторов и ионного транспорта во время передачи слухового сигнала [19].

#### Остеоартрит

У морских свинок аутбредной линии Данкин—Хартли (Dunkin—Hartley) обнаружено гистопатологическое сходство с идиопатическим

остеоартритом человека. Тяжесть заболевания у морских свинок увеличивается с возрастом и, следовательно, для моделирования заболевания не требуются дополнительные вмешательства. Гистологические изменения в хрящевой и костной ткани, характерные для остеоартрита, появляются у морских свинок Dunkin—Hartley уже в 3-месячном возрасте [20].

При анализе показателей рентгенографии, компьютерной томографии, результатов гистологической оценки суставного хряща показано, что с возрастом у морских свинок Dunkin—Hartley (анализировали состояние коленного сустава у морских свинок в возрасте 3, 6, 9, 12, 18 мес) прогрессивно усиливаются дегенеративные процессы в коленных суставах. По совокупности диагностических тестов степень остеоартрита классифицирована как легкая у свинок в возрасте 6 мес, умеренная — 9–12 мес и тяжелая — 18 мес [21].

Было проведено исследование, в котором изучали изменения скелетно-мышечной системы при прогрессировании остеоартрита у морских свинок линии Dunkin—Hartley и морских свинок инбредной линии 13, у которых остеоартрит развивается гораздо позже. Оценивали различные характеристики мышц у 5-, 9- и 15-месячных морских свинок. Только у морских свинок Dunkin—Hartley наблюдалось возрастное снижение плотности скелетных мышц, увеличение доли более мелких миофибрилл и снижение количества миофибрилл II типа одновременно с увеличением количества миофибрилл I типа в икроножных мышцах. Эти изменения сопровождалось возрастным снижением синтеза миофибрилярного и митохондриального белка в икроножной и камбаловидной мышцах. В совокупности эти результаты позволяют предположить, что у морских свинок Dunkin—Hartley ремоделирование мышечных волокон происходит параллельно с прогрессированием остеоартрита, что соответствует старению скелетно-мышечной системы человека и обосновывает использование морских свинок для разработки методов лечения возрастных патологий опорно-двигательного аппарата человека [22].

#### Использование морских свинок в исследованиях фармакологической безопасности

Основной набор исследований фармакологической безопасности включает оценку воздействия на сердечно-сосудистую, центральную нервную и дыхательную системы<sup>1,2</sup>. Изучение фармакологической безопасности лекарственного кандидата должно проводиться до начала

<sup>1</sup> ГОСТ Р 56700–2015 Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические фармакологические исследования безопасности. [GOST R 56700–2015 Lekarstvennye sredstva dlya meditsinskogo primeneniya. Doklinicheskie farmakologicheskie issledovaniya bezopasnosti. (In Russ.)].

<sup>2</sup> ICH S7A Safety Pharmacology studies for human pharmaceuticals.

клинической разработки, поскольку полученная на данном этапе информация крайне важна для принятия решения о целесообразности его разработки.

При изучении влияния лекарственного кандидата на сердечно-сосудистую систему *in vivo* рекомендовано оценить воздействие на артериальное давление, частоту сердечных сокращений и показатели электрокардиограммы (ЭКГ), в том числе на интервал QT<sup>3</sup>. Интервал QT (время от начала комплекса QRS до окончания зубца T) на ЭКГ является мерой продолжительности деполяризации и реполяризации желудочков. На сегодняшний день считается, что при задержке реполяризации желудочков и удлинении интервала QT существует повышенный риск развития желудочковой тахикардии, включая летальную желудочковую тахикардию типа пируэт (torsades de pointes).

В исследованиях по оценке влияния на сердечно-сосудистую систему *in vivo* рекомендовано использовать морских свинок, кроликов, хорьков, собак, приматов<sup>4</sup>.

Соотношение массы сердца и тела у крыс меньше или аналогично, у морской свинки аналогично, а у кролика меньше, чем у человека. Чем меньше животное, тем выше у него уровень кислорода и содержание митохондрий в миокарде. Однако объемная плотность миофибрилл остается постоянной у всех видов. У крыс и мышей наблюдается отрицательная корреляция, а у кроликов, морских свинок, крупных млекопитающих и человека наблюдается положительная корреляция между частотой сердечных сокращений и сократительной силой миокарда [23].

Основные различия электрофизиологии сердца человека и грызунов обусловлены разнообразием распределения и плотности калиевых каналов, а также характером их открытия во время фазы реполяризации. Сравнение характеристик потенциала действия сердца человека и лабораторных животных показывает, что электрофизиологические параметры, характеризующие работу сердца человека, имеют большее сходство с кроликами, затем с морскими свинками и далее уже с крысами/мышами. Различия в типе и характере активации калиевых каналов при развитии потенциала действия у крыс и мышей с человеком являются важнейшим ограничением использования этих животных при изучении электрофизиологии сердца. Кролики и морские свинки — предпочтительные виды животных для оценки эффектов препаратов с использованием электрокардиограммы [23].

За редким исключением, морская свинка, по-видимому, соответствует всем критериям,

позволяющим использовать ее в качестве модели для изучения сердечно-сосудистой системы. Среди особенностей можно отметить, что у морской свинки хорошо развиты коллатерали коронарных артерий, поэтому развитие инфаркта миокарда практически невозможно; поверхностные сосуды относительно труднодоступны по сравнению с собакой или обезьяной. При этом у морских свинок можно получить биполярную ЭКГ, обеспечивающую надежное измерение интервала QT, поэтому морская свинка вполне может быть «лучшим» видом для исследований, направленных на прогнозирование желудочковой тахикардии типа «пируэт». Это подтверждается огромным количеством исследований в области токсикологии и/или фармакологической безопасности, проведенных с использованием морских свинок [24].

Хотя оценка фармакологической безопасности в отношении сердечно-сосудистой системы на анестезированных морских свинках представляет собой «золотой стандарт» на доклиническом этапе тестирования новых потенциальных лекарств, как и в любой другой модели, существуют ограничения и риски, которые необходимо учитывать при планировании эксперимента. Основными недостатками являются влияние анестезии, в том числе на температуру тела и, как следствие, на электрофизиологические параметры сердца. Морская свинка склонна к снижению температуры тела во время наркоза, что может привести к изменению(ям) параметров ЭКГ (частоты сердечных сокращений). В связи с этим необходимо постоянно следить за температурой животного и при необходимости согревать его [25].

У мелких грызунов для проведения анестезии довольно распространено внутрибрюшинное введение комбинации кетамина и ксилазина. Однако известно, что оба препарата влияют на сердечно-сосудистую систему. У грызунов при использовании комбинации кетамина и ксилазина наблюдается брадикардия. Прямой кардиодепрессивный эффект кетамина был описан на изолированном сердце морской свинки. Влияние на сердечно-сосудистую систему комбинации кетамина и ксилазина не сильно отличалось от действия изофлурана, но все же использование изофлурана может быть более целесообразно, поскольку кардиодепрессивный эффект зависит от дозы, а во время эксперимента проще обеспечить надлежащий контроль дозы изофлурана [25].

Использование анестезии обеспечивает стабильное функционирование сердечно-сосудистой системы, что позволяет обнаружить прямое влияние лекарственного средства на параметры сердечно-сосудистой системы. Однако

<sup>3</sup> ISH S7B The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals. CPMP/ICH/423/02.

<sup>4</sup> Там же.

из-за потенциального воздействия анестезии на оценку безопасности препаратов разработаны методы проведения подобных исследований на животных, находящихся в сознании. Первые подходы к проведению исследований на находящихся в сознании животных состояли в использовании хронически имплантированных датчиков, которые были напрямую подключены к необходимым усилителям и записывающим устройствам. В настоящее время данные по функционированию сердечно-сосудистой системы можно получать с помощью имплантируемых телеметрических устройств. Этот подход позволяет животным свободно передвигаться во время экспериментов, дает возможность регистрировать большое количество параметров, в том числе оценивающих функцию сердечно-сосудистой, дыхательной систем, получать данные за длительные периоды времени, а также исключить влияние стресса и наркоза [26].

В методологию постоянно вносятся изменения/улучшения, касающиеся содержания животных, размещения электродов и оценки данных. В одном из исследований была проведена фармакологическая валидация метода с использованием выбранных эталонных соединений, влияющих на различные механизмы электрофизиологии сердца (хинидин, флекаинид, атенолол, dl-соталол, дофетилид, нифедипин, моксифлоксацин). Результаты сравнивались с таковыми, полученными на собаках породы бигль. Показано, что при использовании морских свинок в стандартизированных условиях с помощью телеметрического метода можно получить надежные данные ЭКГ с низкой вариабельностью, позволяющие в значительной степени автоматизировать оценку. Модель чувствительна к соединениям, блокирующим натриевые каналы сердца, калиевые каналы hERG и кальциевые каналы, и, по-видимому, еще более восприимчива к  $\beta$ -блокаторам. Показано, что коррекция интервала QT по Базетту и Сарме представляется подходящим методом для морских свинок, находящихся в сознании [27].

## Токсикология

Как и в случае со всеми другими видами лабораторных животных, у морских свинок есть ряд особенностей, которые необходимо учитывать при планировании экспериментов.

У морских свинок значительная потребность в витамине С. При содержании на диете с дефицитом витамина С у них развиваются симптомы, напоминающие цингу. Морские свинки, как и приматы, генетически лишены фермента L-гулонолактонооксидазы, участвующего в синтезе витамина С из глюкозы. У этих животных L-аскорбиновая кислота не синтезируется из L-гулонолактона. Кроме того, обмен аскорбиновой кислоты происходит быс-

тро, а запасы в тканях недостаточны для длительного поддержания необходимого уровня витамина С при отсутствии его поступления с пищей. Следовательно, морским свинкам требуется достаточное количество аскорбиновой кислоты в рационе: примерно 10 мг на 1 кг массы тела в день и 30 мг/кг в день во время беременности. Признаками дефицита витамина С являются шаткая походка, болезненность при передвижении, кровоточивость десен, отек суставов и истощение. Морские свинки также очень чувствительны к дефициту витамина Е, клинические признаки недостатка — скованность и затрудненность движений, слабость задних конечностей [1].

Пищевая депривация и недостаток воды могут стать причиной гибели морских свинок. Они с трудом адаптируются к диете, отличной от той, к которой они привыкли. Кроме того, они плохо находят новые источники питьевой воды в окружающей среде. Морские свинки смешивают сухой корм и воду в ротовой полости, эта масса может закупорить носик поилки, что будет препятствовать поступлению жидкости из нее [1].

Морские свинки восприимчивы к широкому спектру патогенных микроорганизмов. Наиболее частыми бактериальными инфекциями являются *Salmonella* spp., *Bordetella bronchiseptica*, *Streptococcus* spp. и *Yersinia pseudotuberculosis*. Эти инфекции могут быть причиной высокой смертности в колонии морских свинок [1].

Морская свинка — прекрасная модель для воспроизведения анафилаксии и других иммунологических процедур, но это обусловлено тем фактом, что иммунные реакции у морских свинок (как клеточные, так и гуморальные) более выражены по сравнению с таковыми у человека.

Морские свинки очень чувствительны к антибиотикам, особенно действующим на грамположительные микроорганизмы. Нормальная кишечная флора морских свинок преимущественно грамположительная. Введение антибиотиков, специфичных для грамположительных бактерий, разрушает нормальную флору кишечника и способствует чрезмерному росту грамотрицательных микроорганизмов. До недавнего времени осложнения после применения антибиотиков связывали главным образом с *Escherichia coli*, но имеющиеся данные свидетельствуют, что *Clostridium difficile* играет важную роль в энтеротоксемии, возникающей после лечения антибиотиками. Тетрациклин, цефалоридин, хлорамфеникол и сульфаниламиды относятся к числу менее опасных противомикробных препаратов, но их следует назначать с осторожностью, используя минимальные эффективные дозы [1].

Давно известно, что морские свинки в большей степени, чем другие лабораторные животные, чувствительны к токсическим эффектам пенициллина [28]. Токсическое действие пе-

пенициллина у морских свинок может выражаться по-разному: регистрируются быстрое ухудшение состояния с летальным исходом, геморрагический синдром, который проявляется лейкопенией и тромбоцитопенией и завершается массивными висцеральными кровоизлияниями; хроническое ухудшение состояния, при этом наблюдается задержка роста, алопеция [29]. Развитие токсических эффектов связывают с влиянием пенициллина на кишечную флору. Показано, что в первые 12 ч после внутримышечного введения пенициллина морским свинкам общее количество микроорганизмов (преимущественно грамположительных бактерий) в слепой кишке снижалось до менее чем 1% от исходного уровня. Между 24 и 48 ч происходило увеличение количества колиформных бактерий в слепой кишке в 10 млн раз. У некоторых животных наблюдалось еще большее увеличение числа анаэробных грамотрицательных палочек. Эти изменения кишечной флоры сопровождалось тяжелым циститом, среднетяжелым илеитом и острым регионарным лимфаденитом. Ухудшение состояния можно было предотвратить путем введения не всасывающихся системно антибиотиков, эффективных против колиформных бактерий [30].

Токсичность пенициллина является следствием нарушения нормального баланса флоры, что было подтверждено в исследовании, где сравнивали частоту летальных исходов в результате введения пенициллина у конвенциональных животных и у свободных от патогенной флоры кишечника морских свинок. После инъекции пенициллина гибели среди свободных от кишечной флоры животных не наблюдалось, в то время как у конвенциональных животных гибель составила до 52%, это подтверждает гипотезу о том, что токсические эффекты пенициллина обусловлены его влиянием на микрофлору кишечника [31].

Интересно, что морские свинки, вакцинированные против вируса западного лошадиного энцефалита, менее восприимчивы к токсическому действию пенициллина (19% гибели против 83%) [32].

Кроме изменения кишечной флоры, у животных, состояние которых ухудшалось после введения пенициллина, был выделен вирус, обладающий некоторыми свойствами парвовируса. Латентная вирусная инфекция, вероятно, активируется на фоне вызванного пенициллином ухудшения состояния животных. Предполагается, что абсорбция эндотоксина в результате вызванного пенициллином изменения кишечной флоры приводит к состоянию иммунодефицита, которое в свою очередь

способствует активации латентного вируса и, возможно, в редких случаях — развитию злокачественных новообразований [29].

Показано, что пенициллин вызывает эпилептиморфную активность в нейронах гиппокампа морских свинок [33].

Морская свинка более чувствительна, чем человек, к язвам желудочно-кишечного тракта, вызванным нестероидными противовоспалительными препаратами, но менее чувствительна, чем собака или крыса. Тем не менее наиболее частым токсическим эффектом противовоспалительных средств у морских свинок является образование язв желудочно-кишечного тракта [1].

#### **Токсичность при однократном и многократном введении**

Токсикологические исследования включают изучение токсических свойств при однократном, многократном введении, определение генотоксичности, канцерогенности, репродуктивной и онтогенетической токсичности, оценку местной переносимости и другие токсикологические исследования (при необходимости).

Наиболее широко используемым в токсикологических исследованиях видом грызунов являются крысы. Для изучения токсичности при однократном введении морские свинки не являются животными первого выбора. Однако при необходимости таких исследований протоколы, используемые для крыс (например, OECD N. 420<sup>5</sup>, OECD N. 423<sup>6</sup>, OECD N. 425<sup>7</sup>), применимы для исследований на морских свинках.

Морские свинки наряду с крысами и кроликами рекомендованы для изучения токсичности при многократном накожном нанесении. Исследуемое вещество наносят на кожу животных в течение 21–28 дней. Незадолго до первого нанесения кожу на спине освобождают от шерсти (выбрасывание шерсти можно проводить за 24 ч до начала нанесения). Повторное удаление шерсти проводят по мере необходимости (приблизительно 1 раз в неделю). Не менее 10% площади поверхности тела должно быть освобождено от шерсти для нанесения испытуемого вещества. Как минимум 10 животных (5 самцов и 5 самок) должны быть использованы для каждой дозы. При включении групп отсроченного наблюдения количество животных удваивается. Лимитирующим количеством при изучении токсичности при многократном накожном нанесении является доза 1000 мг/кг<sup>8</sup>.

Для ряда лекарственных препаратов, особенно технологических, морские свинки могут являться наиболее релевантным видом среди грызунов. При изучении токсичности при мно-

<sup>5</sup> OECD Test N. 420. Acute Oral Toxicity — Fixed Dose Procedure. 2001.

<sup>6</sup> OECD Test N. 423. Acute Oral Toxicity — Acute Toxic Class Method. 2001.

<sup>7</sup> OECD Test N. 425. Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. Adopted: 16 October 2008 Corrected: 30 June 2022.

<sup>8</sup> OECD Test N. 410. Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study. 410 Adopted: 12 May 1981.

гократном введении также для морских свинок можно использовать стандартные протоколы, используемые для исследований на крысах (например, OECD N. 407<sup>9</sup>, OECD N. 408<sup>10</sup>).

#### Генотоксичность

Для оценки возможных генотоксических эффектов проводятся исследования *in vitro* и *in vivo*<sup>11,12</sup>.

При исследовании генотоксичности *in vivo* проводится два теста. В первом случае может использоваться микроядерный тест на гемопоэтических клетках грызунов, во втором проводят оценку повреждения ДНК.

Когда необходимо оценить генотоксичность *in vivo* на морских свинках, один или несколько тестов целесообразно проводить в рамках изучения токсических свойств. В этом случае можно забрать материал при эвтаназии. В качестве тестов для оценки возможных генотоксических свойств может быть использован анализ частоты образования микроядер в костном мозге или периферической крови, а также комет-тест, для проведения которого забирают образцы тканей от нескольких органов.

#### Канцерогенность

Исследования канцерогенных свойств новых лекарственных средств проводятся с целью выявления потенциального канцерогенного действия исследуемого вещества у лабораторных животных и определения возможного риска для человека. Обычно исследования канцерогенных свойств проводят на мышах и/или крысах при многократном введении лекарственного средства на протяжении средней продолжительности жизни животного с регистрацией и последующим сравнением частоты развития новообразований в контрольной и экспериментальных группах<sup>13,14</sup>.

Хотя морские свинки практически не используются для исследований канцерогенности, при проведении длительных исследований токсичности целесообразно проводить мониторинг и патоморфологическое исследование всех выявленных новообразований для последующей оценки возможных канцерогенных эффектов тестируемого лекарственного препарата.

#### Репродуктивная

#### и онтогенетическая токсичность

Изучение репродуктивной токсичности включает оценку влияния тестируемого соединения на фертильность, раннее эмбриональное, эмбриофетальное, пренатальное и постнатальное развитие, а также на развитие неполовозрелого потомства.

В исследованиях токсичности при многократном введении может быть проведена оценка репродуктивной системы у самцов и самок по результатам стандартного гистопатологического исследования органов репродуктивной системы. Такой анализ считается сопоставимым по чувствительности к выявлению токсического действия на репродуктивные органы животных со специальными исследованиями фертильности<sup>15</sup>.

Для большинства фармацевтических препаратов обычно подходит трехэтапный дизайн исследований репродуктивной токсичности, хотя можно комбинировать эти схемы с целью сокращения количества используемых животных. Дизайны исследований по влиянию на фертильность и раннее эмбриональное (FEED), эмбриофетальное (EFD) и пре- и постнатальное развитие (PPND), а также их комбинаций описаны в руководстве ICH S5(R3)<sup>16</sup> в приложении 1. При выборе дизайна(ов) исследования следует учитывать все имеющиеся фармакологические, токсико-кинетические и токсикологические данные о препарате.

Самым распространенным биологическим видом при проведении исследований являются крысы в силу практичности, сравнимости с другими результатами, полученными для данного вида животных, и благодаря большой базе накопленных знаний по данному биологическому виду.

Морские свинки обладают характеристиками, которые отличают их от других видов, обычно используемых для исследований токсического воздействия на развитие (кроликов, крыс и мышей). Самки становятся половозрелыми в возрасте 6 нед, тогда как самцы в среднем достигают половой зрелости примерно на 4 нед позже. Беременность длится дольше, чем у других грызунов, и составляет 68 дней. В результате такого длительного периода бе-

<sup>9</sup> OECD Test N. 407. Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. Adopted: 3 October 2008.

<sup>10</sup> OECD Test N. 408. Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents Adopted: 25 June 2018.

<sup>11</sup> ICH S2:2011\* Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use.

<sup>12</sup> ГОСТ Р 57130–2016 «Лекарственные средства для медицинского применения. Исследование генотоксичности и интерпретация полученных данных». [GOST R 57130–2016 “Lekarstvenny’e sredstva dlya medicinskogo primeneniya. Issledovanie genotoksichnosti i interpretaciya poluchennykh dannyx”. (In Russ.)].

<sup>13</sup> ГОСТ Р 57146–2016 «Лекарственные средства для медицинского применения. Изучение канцерогенности лекарственных средств и вспомогательных веществ». [GOST R 57146–2016 “Lekarstvennyye sredstva dlya medicinskogo primeneniya. Izuchenie kancerogenosti lekarstvenny’x sredstv i vspomogatelny’x veshhestv”. (In Russ.)].

<sup>14</sup> ICH S1A Guideline on the need for carcinogenicity studies of pharmaceuticals.

<sup>15</sup> Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.19 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов». [Reshenie Kollegii EE’K ot 26.11.19 N. 202 “Ob utverzhdenii Rukovodstva po doklinicheskim issledovaniyam bezopasnosti v celyax provedeniya klinicheskix issledovaniy i registracii lekarstvennykh preparatov”. (In Russ.)].

<sup>16</sup> ICH S5(R3) Guideline on Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals. 2020.

ременности детеныши рождаются полностью сформировавшимися. Молодые свинки обычно начинают есть твердую пищу в возрасте 4–5 дней. Размер помета варьирует от 1 до 6, в среднем от 3 до 4 детенышей. Самка морской свинки должна родить своего первого детеныша до того, как ей исполнится 6 мес. Если рождение не произошло до 6-месячного возраста, симфиз тазовых костей минерализуется, и это приводит к неспособности рожать детенышей естественным путем. Самкам морских свинок, забеременевшим после 6-месячного возраста, обязательно требуется кесарево сечение [2].

Эндокринный контроль репродукции морских свинок имеет сходство с таковым у человека даже по характеристикам триместра, однако у морских свинок беременности предшествует течка. Для морских свинок имеются (хотя и не столь обширные как, например, для крыс) справочные данные, описывающие большинство аспектов беременности и эмбрионального развития. Например, нормальная резорбционная активность включает потерю примерно 5,8–6,3% имплантированных эмбрионов, что определяется различиями между количеством мест имплантации и функционирующими желтыми телами [34, 35].

Процесс окостенения всего скелета морской свинки подробно описан еще в 1935 г. [1].

Морские свинки чувствительны к тератогенным эффектам, вызванным различными экологическими и химическими агентами. В экспериментальных исследованиях структурные пороки развития у морских свинок индуцировали различными способами. Талидомид, вводимый внутрибрюшинно, внутрижелудочно или в составе диеты в течение трех последовательных поколений, вызывал увеличение случаев появления расщелин нёба, деформаций наружного уха и укорочения конечностей, а также уменьшал размер помета, увеличивал смертность плодов, приводил к рождению более мелкого потомства особенно у тех матерей, которые получали талидомид в составе диеты [1].

Трипановый синий (азокраситель) дает эмбриотоксический и тератогенный эффект. Беременным морским свинкам вводили однократно подкожно 2 мл 1% трипанового синего в один из дней в течение периода беременности с 6-го по 13-й день, у части морских свинок плоды извлекали на 30-й день беременности. У остальных самок исследованию подвергали родившихся детенышей. Через 30 дней наблюдали повышенную скорость резорбции, задержку роста и грубые отклонения, причем максимальная частота отклонений (57%) была результатом инъекции, проведенной на 11-й день. Краситель воздействовал на каждый эмбрион, при этом реакция была различной — от более короткой длины темени до грубых аномалий. Обнаруженные пороки развития включали кисту передней грудной стенки (49,3%), расщепление позвоночника (33,8%), микро-

фталмию (5,6%), гидроцефалию (4,2%), отеки (2,8%), менингоцеле (1,4%) и ряд других пороков (2,8%). У 50% эмбрионов выявлена задняя расщелина нёба. У самок, родивших естественным образом, наблюдали уменьшенный размер помета, а у их потомства обнаружили только те аномалии (5,3%), которые были совместимы с жизнью [36].

Гипервитаминоз А вызывает у морских свинок пороки развития. Беременные морские свинки получали 50 000 МЕ витамина А на 12–14-й день беременности, что приводило к увеличению числа самопроизвольных абортов, резорбций и частоты случаев расщелин нижней челюсти в сочетании с раздвоением языка. В другом исследовании при введении пальмитата витамина А в дозе 200 000 МЕ/кг однократно в определенные дни (14–20-й) во время органогенеза у 60,8% потомства были обнаружены структурные дефекты, затрагивающие преимущественно область головы. Отсутствие копчиковых позвонков и агнатия (38,5%) наблюдались после введения витамина А на 17-й день беременности. Дефекты конечностей (37,2%) были наиболее частыми аномалиями, возникшими в результате введения витамина А на 18–20-й день, тогда как только у 1 из 226 детенышей контрольной группы наблюдались отклонения от нормы [1].

Было исследовано влияние гипертермии на ранних сроках беременности на репродукцию и развитие плода у морских свинок. Резорбция плода наиболее часто наблюдалась после гипертермии примерно на 11–15-й день беременности, тогда как аборт, происходящий в среднем на 32,4 день беременности, чаще всего (83%) возникает после гипотермии на 11–18-й день. У 251 детеныша, родившегося естественным образом, отмечены следующие пороки развития: микроэнцефалия (41%), гипоплазия пальцев (13%), экзофалопатия (7%), косолапость (4%), гипоплазия резцов (4%), катаракта (3%) и амиоплазия (2%) [36, 37].

Поскольку морские свинки чувствительны к тератогенным эффектам, вызванным различными экологическими и химическими агентами, эти животные могут служить альтернативной моделью для исследований влияния на онтогенез, когда традиционные модели не подходят. Как и в случае с любым другим видом животных, перед началом исследований необходимо доказать, что морские свинки являются релевантным видом для таких исследований. Однако традиционные методы отбора животных для изучения фертильности и формирования групп беременных самок для исследований репродуктивной токсичности использовать на морских свинках сложно. Например, эстральный цикл у них существенно длиннее, чем у других лабораторных грызунов, и хуже предсказуем. Влагалище закрыто мембраной, за исключением периода эструса, что делает невозможным оценку вагинальной цитологии.

Морские свинки имеют относительно длительный срок беременности (65–68 дней) с имплантацией на 6-й день беременности и органогенезом, завершающимся к 30-му дню беременности (закрытие твердого нёба на 29-й день беременности). Размер помета сильно варьирует (от 1 до 10). Учитывая эти и другие физиологические особенности репродукции морских свинок, американскими учеными были разработаны и опубликованы в 2009 г. адаптированные протоколы для изучения репродуктивной токсичности на морских свинках. В этих протоколах беременность считается наступившей после спаривания в послеродовой эструс. При разработке протоколов в качестве препарата положительного контроля использовали мифепристон, который вводили ежедневно подкожно. Стерильный физиологический раствор, или плацебо (отрицательный контроль), вводили через день внутривенно в подкожную вену. Внутривенный путь введения был выбран для получения данных для будущего исследования препарата, предназначенного для внутривенного введения [38].

#### **Исследование фертильности самцов**

Самцов содержали в соотношении 1:1 с беременными самками, чтобы обеспечить возможность спаривания во время послеродового эструса самки. Животные содержались совместно в течение всего периода введения препарата самцам, начиная приблизительно с 4-й недели до ожидаемых первых родов и до 3–5-го дня послеродового периода. В день родов детенышей подвергали эвтаназии. Самцов эвтаназировали через 3–5 дней после родов самки, с которой они содержались. Проводили патоморфологическое исследование органов репродуктивной системы самцов с оценкой спермограммы. Предполагаемых беременных самок подвергали эвтаназии с 29-го по 31-й день беременности, проводили патоморфологический анализ органов репродуктивной системы. Методы исследования были аналогичны тем, которые используют для крыс.

#### **Исследование влияния на эмбриофетальное развитие**

Несколько беременных самок содержались вместе с одним самцом. Предполагалось, что спаривание происходило во время послеродового эструса. В первом исследовании предполагаемым беременным самкам вводили препарат с 4-го по 30-й день беременности, во втором исследовании — с 30-го дня первой беременности до 30-го дня второй беременности. Экспериментально установлено, что плоды, извлеченные на 30-й день беременности (конец органогенеза) слишком малы для достоверного патолого-анатомического исследования, поэтому самок подвергали эвтаназии на 59–62-й день беременности (непосредственно перед ожидаемыми родами), а также

проводили вскрытие и исследования матки. Плоды были подвергнуты эвтаназии, проведены морфологические исследования. Методы были аналогичны тем, которые применялись для кроликов. Также проводились исследования скелета, однако из-за более позднего развития морских свинок по сравнению с кроликами были разработаны альтернативные методы окрашивания.

#### **Исследования пери- и постнатального периода и фертильности самок**

Хотя отдельные исследования фертильности и пери- и постнатальные исследования часто проводятся на крысах и мышах, иногда выполняется одно исследование, включающее несколько стадий, от периода, предшествующего зачатию, и включая период лактации. Во время экспериментов на морских свинках был разработан дизайн исследования, который позволяет тестировать как фертильность, так и влияние на пери- и постнатальное развитие, начиная с середины первой беременности и заканчивая оценкой фертильности при следующей беременности. В качестве альтернативы или параллельно в том же исследовании можно провести оценку развития плода на 60-й день, тем самым охватывая все репродуктивные стадии в одном исследовании. Кратко описание протокола представлено ниже.

Самцы содержались в соотношении 1:1 с предполагаемыми беременными самками с 3-го дня беременности и до 4-го дня после родов. Самки получали препарат с 30-го дня первой беременности и до 30-го дня последующей беременности.

*Оценка пери- и постнатального развития.* При рождении детенышей естественным образом регистрировали количество живых и мертвых особей, пол и массу тела. Клинические наблюдения проводили 2 раза в неделю в течение 2 нед. Традиционные для других видов грызунов тесты на развитие не проводились, поскольку морские свинки рождаются уже сформировавшимися (с зубами, шерстью, открытыми глазами). Хотя обучение и память можно оценить у детенышей морских свинок, коммерчески доступного валидированного оборудования/методов для тестирования на этом виде нет. Детенышей подвергали эвтаназии на 14-й день после рождения и проводили патоморфологическое исследование.

*Оценка фертильности.* Предполагалось, что самки спаривались во время послеродового эструса первой беременности, самок эвтаназировали на 29–31-й день второй беременности. Проводили вскрытие, подсчитывали желтые тела и исследовали матку на предмет имплантаций.

Эти исследования показывают, что с некоторыми изменениями по сравнению со стандартными протоколами морских свинок можно использовать для оценки репродуктивной ток-

сичности. Применимость исследования на морских свинках подтверждается тем фактом, что мифепристон вызывал ожидаемое нарушение имплантации эмбриона практически у всех самок. Модификации стандартных исследований репродуктивной функции включали участие в исследовании уже беременных самок; при этом считалось, что спаривание происходит в послеродовой эструс; допускалось увеличение размера группы (12–20 беременных самок в группе) и сроков исследования [38].

Следует отметить, что использование морских свинок в исследованиях репродуктивной токсичности имеет ряд недостатков по сравнению с традиционными видами, включая вариабельность частоты наступления беременности, небольшой и изменчивый размер помета, длительную беременность, относительную зрелость детенышей при рождении и сложности внутривенного введения препаратов. Таким образом, стандартные модели на животных и дизайн исследований являются предпочтительными. Еще одно препятствие для использования морских свинок — ограниченность имеющихся исторических справочных данных [38].

#### Сенсибилизация

Наиболее часто в токсикологии морские свинки используются в различных исследованиях сенсибилизации и фотосенсибилизации.

С целью сокращения использования животных применяются тесты *in vitro* (например, метод локальных лимфатических узлов (LLNA), который первым прошел валидацию). Однако в течение многих лет до внедрения LLNA методами выбора были максимизационный тест на морских свинках и тест Бюлера, который также проводили на морских свинках [39].

Максимизационный тест на морских свинках (the Guinea Pig Maximisation Test, GPMT) — это тест *in vivo* для выявления веществ (то есть аллергенов), вызывающих сенсибилизацию кожи человека. Впервые он был предложен Б. Магнуссоном и А. Клигманом в 1969 г. [40].

GPMT и тест Бюлера и сейчас используются для оценки гиперчувствительности и рекомендованы в пересмотренном в 2022 г. руководстве OECD TG 406<sup>17</sup>.

Первоначально в руководстве OECD №406 были рекомендованы 4 теста с использованием адьюванта и 3 теста — без. В пересмотренном руководстве 2022 г. для оценки кожно-сенсибилизирующего действия рекомендовано 2 теста: максимизационный тест Магнуссона и Клигмана [the Guinea pig maximisation Test (GPMT) of Magnusson and Kligman], в котором используется адьювант (полный адьювант Фрейнда) [Freund's Complete Adjuvant (FCA)] для усиления кожной сенсибилизации и тест Бюлера (Buehler) без адьюванта. Тест Бюлера

считается менее чувствительным, чем GPMT, но оба теста дают прогноз относительно наличия у субстанции кожно-сенсибилизирующего действия.

В тестах используют самцов и/или самок взрослых молодых морских свинок. В GPMT должно быть минимум 10 свинок в группе тестируемой субстанции (экспериментальная группа) и как минимум 5 в контрольной группе. В день 0 животные экспериментальной группы получают интрадермальные инъекции (три пары инъекций по 0,1 мл в область плечевого пояса). Инъекции: 1-я — FCA в соотношении 1:1 с водой или физиологическим раствором; 2-я — тестируемая субстанция в подходящем растворителе; 3-я — тестируемая субстанция в соотношении 1:1 со смесью FCA с водой или физиологическим раствором. Контрольная группа в день 0 получает также три пары внутрикожных инъекций. Инъекции: 1-я — смесь 1:1 FCA с водой или физиологическим раствором; 2-я — неразведенный растворитель для тестируемой субстанции; 3-я — 50% растворитель в смеси 1:1 FCA и воды или физиологического раствора.

*Фаза индукции* состоит в накожном нанесении тестируемого вещества или растворителя. На 5–7-й день (обе группы) приблизительно за 24 ч перед накожным нанесением, если субстанция не обладает кожно-раздражающим действием, у животных в месте нанесения удаляют шерсть и участок обрабатывают 0,5 мл 10% раствора натрия лаурилсульфата в вазелине для того, чтобы вызвать местную реакцию. На 6–8-й день животным экспериментальной группы фильтровальную бумагу, смоченную раствором тестируемой субстанции, накладывают на кожу и закрепляют так, чтобы обеспечить контакт с кожей на 48 ч. Животным контрольной группы таким же образом на кожу накладывается на 48 ч фильтровальная бумага с растворителем.

*Фаза разрешения.* На 20–22-й день животным экспериментальной и контрольной групп кожу с боков освобождают от шерсти, пластыри с тестируемым веществом накладывают на один бок животного, с растворителем можно нанести на другой бок. Пластыри оставляют на 24 ч. Через 21 ч после удаления пластырей с места нанесения удаляют шерсть при необходимости, спустя 3 ч кожную реакцию оценивают по специальной балльной шкале (от 0 — нет изменений, до 4 — интенсивная эритема и отек), через 24 ч проводят повторную оценку. Если результаты сомнительны, выполняют повторный аппликационный тест. При необходимости могут быть проведены патоморфологические исследования кожи

*Тест Бюлера (Buehler).* Используют минимум 20 животных в экспериментальной и 10 в контрольной группах. Концентрация тестируемой

<sup>17</sup> OECD Test N. 406. Skin Sensitization Adopted: 17 July 1992 Corrected 30 June 2022.

субстанции в фазу индукции должна быть такой, чтобы вызывать умеренное раздражение кожи, а в фазу разрешения — не вызвать раздражения.

*День 0.* Животным экспериментальной группы на освобожденную от шерсти кожу боковой поверхности туловища накладывают аппликационный пластырь с тестируемой субстанцией (это может быть диск или квадрат площадью 4–6 см<sup>2</sup> из хлопка) и фиксируют на 6 ч. Животным контрольной группы аналогично накладывают на 6 ч аппликационный пластырь с растворителем. Повторяют те же манипуляции на 6–8-й, потом на 13–15-й день. В фазу разрешения на 27–29-й день животным обеих групп кожу боковой поверхности, на которую ранее ничего не наносили, освобождают от шерсти, аппликационный пластырь с тестируемой субстанцией в концентрации, не вызывающей кожного раздражения, накладывают на 6 ч контрольным и экспериментальным животным. Приблизительно через 6 ч после удаления пластыря область нанесения освобождают от шерсти, спустя 3 ч состояние кожи оценивают по балльной шкале, аналогичной используемой в GPMТ, еще через 24 ч оценку повторяют. Если результаты сомнительны, проводят повторный аппликационный тест. При необходимости могут быть проведены патоморфологические исследования кожи.

Лекарственные препараты могут вызывать системные анафилактические реакции. В иммунных реакциях гиперчувствительности немедленного типа (анафилаксия) клинические симптомы появляются в течение минуты после контакта с аллергеном. Морские свинки являются предпочтительным видом для изучения системной анафилаксии, реакция системной анафилаксии хорошо воспроизводится у этих животных. Экспериментальные модели анафилаксии обычно включают либо оценку системной, либо кожной анафилаксии. Системная анафилаксия развивается в течение минут после введения антигена. Реакция индуцируется у многих видов лабораторных животных, в том числе крыс, мышей, морских свинок, но не у хомяков. Для индукции системной анафилактической реакции морских свинок сенсибилизируют одной или несколькими инъекциями тестируемого вещества. Далее через некоторый промежуток времени сенсибилизированным животным вводят разрешающую инъекцию (например, внутривенно). Также может быть индуцирована пассивная кожная анафилаксия. Высвобождение вазоактивных веществ происходит локально у наивных животных при введении им сыворотки животных, сенсибилизированных как при системной анафилаксии. Сыворотку сенсибилизированных животных вводят внутрикожно наивным животным, а тестируемое вещество, смешанное с красителем (обычно синим Эванса), впо-

следствии вводят внутривенно (обычно через 12–18 ч). В результате реакции антиген–антигеном высвобождаются вазоактивные вещества, что приводит к резкому локальному увеличению проницаемости сосудов. Поскольку испытуемое вещество смешивается с красителем, о местной кожной реакции свидетельствует цветное (обычно синее) пятно [41].

Используются различные подходы, позволяющие усиливать реакцию сенсибилизации для оценки алергизирующего потенциала химических веществ. Было обнаружено, что внутрикожное введение небольших количеств микобактерий в парафиновом масле заметно повышает степень чувствительности к химическим аллергенам. Микобактерии можно вводить до или через несколько часов после внутрикожной инъекции химических аллергенов. Способ приводит к удовлетворительной сенсибилизации даже поголовья морских свинок, устойчивых к сенсибилизации по отношению к аллергенным химическим веществам [42].

Как пример использования морских свинок в исследованиях можно привести изучение действия пенициллина. Пенициллин, как известно, обладает высоким сенсибилизирующим потенциалом при клиническом применении. Повышенная чувствительность морских свинок к эффектам пенициллина и его производных [43] позволила изучить некоторые механизмы алергизирующего действия пенициллина. Так, у морских свинок, пассивно сенсибилизированных внутривенным введением кроличьей сыворотки, содержащей антитела к бензилпенициллину, развиваются кожные анафилактические реакции. Это свойство было использовано для выявления ключевых структурных элементов молекулы пенициллина и метаболитов пенициллина, ответственных за развитие алергической реакции [44–46].

#### Фототоксичность

Фототоксичность — это вызванная светом неиммунная реакция на введение фотореактивного лекарственного средства или фармацевтической субстанции. Изучение фототоксичности подразумевает исследование нежелательных эффектов, которые вызывает лекарственное средство под действием ультрафиолета или видимого света. Фототоксические реакции могут возникать после введения лекарственных средств, предназначенных как для наружного, так и внутреннего применения. В отличие от фотоаллергии, для проявления которой необходим период сенсибилизации, предшествующий видимому проявлению реакции, фототоксические реакции могут быть вызваны однократным приемом/нанесением лекарственного препарата [47].

Лекарственные средства, относящиеся к самым разнообразным фармакологическим группам (например, антибактериальные пре-

параты, антидепрессанты, антиконвульсанты, нестероидные противовоспалительные средства, диуретики, антигипертензивные препараты), способны индуцировать фототоксические реакции. В настоящее время фототоксическое действие должно быть оценено для всех активных фармацевтических субстанций и косметических средств, которые поглощают ультрафиолет (в средневолновом диапазоне В 290–320 нм и длинноволновом диапазоне А 320–400 нм) или видимый свет в диапазоне длин волн от 400 до 700 нм<sup>18,19</sup>.

Для изучения фототоксичности *in vivo* на сегодняшний день каких-либо общепринятых протоколов не существует. Рекомендовано проведение как краткосрочного, так и длительного тестирования на животных. Хотя фототоксическая реакция развивается уже после однократного применения веществ, продолжительность исследования должна быть обоснована, поскольку существует опасность накопления вещества в тканях кожи и глаз. Длительное изучение фототоксичности проводят в том случае, если это исследование заведомо даст какую-либо дополнительную полезную информацию [47].

Морские свинки являются одним из наиболее часто используемых лабораторных грызунов при оценке возможной фототоксичности. Выбор пути введения зависит от предполагаемого способа клинического применения. Временной интервал между введением и облучением, за который вещество должно достигнуть целевых тканей, может варьировать от нескольких минут (например, после местного применения в летучем органическом растворителе) до часов (например, после перорального применения) [48].

Кожные реакции после однократного воздействия оценивают непосредственно после окончания облучения, через несколько часов после, а также через 24, 48 и 72 ч обычно с использованием балльной системы. Например, кожная реакция определялась по наличию эритемы, отека и других повреждений кожного покрова по следующей шкале: + — слабо выраженная эритема и/или эдема; ++ — эритема и/или эдема, и/или трещины кожного покрова умеренной степени выраженности; +++ — сильно выраженная эритема и/или эдема, и/или трещины кожного покрова, изъязвления [49].

Исследование чаще проводят на наркотизированных животных. Для учета возможного влияния наркотизации на выраженность фототоксической реакции в эксперимент необходимо включать контрольную группу. В случае исследования эффектов лекарственных форм для наружного применения необходимо иметь группы плацебо (аппликация вспомогательных

веществ). В качестве одного из возможных подходов ниже приведен пример дизайна эксперимента на морских свинках.

Изучали способность нового лекарственного препарата, содержащего кетопрофен, вызывать фототоксические реакции. Первоначально определили минимальную дозу УВ-облучения, вызывающую эритему. Для этого кожу животных накрывали светонепроницаемым материалом, в котором было 10 отверстий (1 см × 1 см). Затем на кожу животного направляли источник излучения, каждые 30 с отверстия последовательно закрывали. Дозу, которая вызывала образование эритемы, через 24 ч рассматривали как минимальную индуцирующую. Индивидуальные значения продолжительности облучения варьировали от 120 до 240 с. В эксперименте животных распределяли на группы по 5 свинок в каждой. Тестируемое вещество на 12 ч (продолжительность выбрана с учетом длительности нанесения в клинической практике) наносили на предварительно освобожденную от шерсти кожу на два участка размером 1,5 см × 1,5 см (по одному участку с правой и левой стороны спины). После удаления тестируемого вещества на два других участка спины размером 1,5 см × 1,5 см, расположенных ближе к задней части туловища, слева и справа наносили вещество позитивного контроля (8-метоксипсорален), которое использовали в объеме 0,1 мл 1% раствора (1 мг на участок). Через 30 мин правую часть спины накрывали алюминиевой фольгой, а на левую направляли источник УВ-излучения (УВ-А, 320–420 нм или УВ-В, 290–320 нм) с интенсивностью, составляющей 80% от определенной ранее минимальной дозы, вызывающей эритему. Через 24, 48, 72 ч оценивали выраженность эритемы и отека по балльной шкале. В этом исследовании эритема и эдема отмечались у всех животных на стороне тела, подвергшейся воздействию УВ-облучения и вещества позитивного контроля, но не тестируемого вещества. Следовательно, был сделан вывод, что тестируемый препарат не обладает фототоксическими свойствами [50].

#### Методы сбора биологических образцов

##### Методы взятия крови

Получение образцов крови морских свинок для рутинной диагностики является сложной процедурой. Периферические вены, доступные для взятия крови, у большинства млекопитающих (например, латеральная подкожная вена), у морских свинок трудно визуализируются, глубоко расположены, часто покрыты слоями жира. Вены у морских свинок маленькие и хрупкие, что также усложняет процесс отбора образцов крови. Можно использовать яремную вену; однако короткая шея морской

<sup>18</sup> ICH Guidance S10 on Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals. 2015.

<sup>19</sup> Note for Guidance on Photosafety Testing. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Product. 2002.

свинки и необходимость жесткой фиксации животного ограничивают доступность этого места для взятия крови. Часто для получения образца крови необходимо провести анестезию животного. Таким образом, можно забирать образцы крови из краниальной полый, бедренной и яремной вен [2].

Обычно используемые методы включают обрезку ногтевого ложа; забор крови из краевой вены уха и из ретроорбитального синуса; пункцию сердца; имплантацию постоянного катетера. Анестезия углекислым газом увеличивает объем получаемой крови и сыворотки особенно при взятии крови путем обескровливания животного [1].

Небольшое количество крови можно собирать из ретроорбитального синуса или путем обрезки ногтя на задней конечности. Большие объемы крови можно получить из бедренной артерии или вены, а также непосредственно из сердца. Сердечная пункция лучше всего проводится при легком наркозе животного. Однако при пункции сердца у морской свинки высок риск летального исхода.

#### Сбор мочи

Пробы мочи можно получить с использованием метаболических клеток. Если необходим небольшой объем образца, его можно собрать у свободно передвигающегося животного, поместив его в чистую клетку.

Описан способ забора образцов мочи у наркотизированных морских свинок при спонтанном мочеиспускании на фоне непродолжительной ингаляционной анестезии изофлураном. Таким образом возможен сбор образцов объемом 2,0–2,5 мл [51]. При всех этих способах возможно загрязнение образца. Если необходимо проводить микробиологический анализ, то предпочтительным методом сбора мочи является цистоцентез. Для облегчения проведения процедуры можно использовать ультразвуковой контроль и/или легкую седацию животного [2].

#### Объемы и способы введения

В токсикологических исследованиях часто существует необходимость введения больших объемов лекарственного препарата для достижения требуемых доз. Такое введение может быть затруднено на практике и вызвать неблагоприятные физиологические эффекты, ставящие под угрозу благополучие животных.

На сегодняшний день, с точки зрения гуманных принципов обращения с животными, используются такие понятия, как «рекомендованный объем» и «максимальный объем» для введения препаратов животным. 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 [52].

**Таблица 1.**  
Объемы введения для морских свинок

Способ введения	Рекомендованный (максимальный) объем
Энтерально (гаваж)	5–10 мл/кг (20 мл/кг)
Подкожно	5 мл/кг (10 мл/кг)
Интрадермально	0,05 мл/участок (0,1 мл/участок)
Внутримышечно	0,1 мл/участок (0,2 мл/участок)
Внутрибрюшинно	10 мл/кг (20 мл/кг)
Интраназально	35 мкл/носовой ход (50 мкл/носовой ход)
Внутривенно	1 мл/кг (5 мл/кг)
Эндотрахеально	0,35–0,8 мл/животное*
Ректально	0,2 мл/животное (1 мл/животное)
Интравагинально	0,05 мл/животное (0,2 мл/животное)

*Примечание.* \* Для животных массой 350–400 г.

В табл. 1 представлены рекомендуемые и максимальные объемы введения для морских свинок [53–58].

Перед введением препарата морских свинок желательно приучить к рукам. Морских свинок следует брать, взяв одной рукой за туловище, а другой — поддерживать заднюю часть тела. Это особенно важно для крупных взрослых животных и беременных самок. Брать животных следует аккуратно, так как при слишком сильном захвате можно повредить легкие.

#### Внутрижелудочное введение

Для внутрижелудочного введения (гаваж) у морских свинок можно использовать технику, аналогичную той, что применима у крыс. Внутрижелудочный зонд (специальная игла или пластиковый катетер) вводят в рот через межзубное пространство и осторожно продвигают по пищеводу. Желательно, чтобы один человек удерживал животное, второй — вводил препарат.

#### Подкожное введение

Введение препарата желательно также проводить с участием помощника, который удерживает животное, для чего необходимо приподнять небольшой участок кожи на боку. Иглу вводят в приподнятую кожу параллельно телу животного. Кожа морской свинки толще, чем у более мелких грызунов, и игла проходит сквозь кожу труднее, поэтому инъекцию легче сделать, если использовать короткую (1,2–2,5 см) иглу диаметром 21–23G.

#### Внутрикожное введение

Внутрикожную инъекцию морским свинкам проводят, так же как у крыс. Поскольку у свинок кожа более толстая, сделать внутрикож-

ную инъекцию правильно проще, чем крысам. Иглу под углом вводят непосредственно в кожу, стараясь не проколоть ее. Образование небольшого пузырька на коже свидетельствует о том, что инъекция была выполнена внутрикожно, а не подкожно.

#### *Внутримышечное введение*

Как и у других грызунов, передняя и задняя часть бедра морских свинок является местом, наиболее часто используемым для внутримышечных инъекций, хотя можно также делать инъекции в трехглавые мышцы передней части плеча. При инъекции в бедро ассистент фиксирует животное, а выполняющий инъекцию крепко удерживает одну конечность животного. Если предполагается вводить вещество в четырехглавые мышцы, их следует удерживать между большим и указательным пальцами, а иглу вводить под прямым углом к коже в центр мышечной массы.

#### *Внутрибрюшинное введение*

Техника введения для морских свинок аналогична той, которая применяется для крыс и мышей: ассистент удерживает животное, а проводящий инъекцию специалист разгибает одну из конечностей животного и вводит иглу по линии бедра, в центр заднего квадранта живота.

#### *Внутривенное введение*

У морских свинок мало поверхностных вен; относительно легко доступны ушные вены и вены полового члена (у самцов). Вены у морских свинок маленькие и хрупкие, поэтому внутривенная инъекция у этого вида не является легко выполнимой процедурой. У крупных (массой более 500 г) морских свинок следует использовать ушные вены. Ухо предварительно можно обработать небольшим количеством ксилола для расширения сосудов, а ассистент должен удерживать животное на твердой поверхности. Ухо следует крепко держать за один край и выбрать подходящую вену. Лучше использовать очень тонкую иглу (диаметром 29–30G). Любое движение животного во время этой процедуры может привести к повреждению вены, чтобы избежать этого, желателен проводить инъекции животным под анестезией. После инъекции ксилол следует удалить с кожи уха влажным тампоном.

Инъекции в половые вены всегда проводят анестезированным животным, поскольку процедура может вызвать значительный дискомфорт. Введение проводят в дорсальную вену полового члена.

Одним из возможных подходов, если требуется длительное внутривенное введение вещества морским свинкам, может стать имплантация постоянного внутривенного катетера в яремную вену. Однако эта процедура также не лишена недостатков: она трудозатратна, требуется постоянное обслуживание

катетера, необходима поддерживающая терапия (обезболивающие и антибактериальные препараты).

#### *Введение в подушечку лапы*

Подушечки лап иногда используются для инъекций особенно для введения веществ-антигенов для приготовления сыворотки, содержащей антитела. Ассистент удерживает животное, вещество вводят в большую центральную подушечку лапы. Вследствие часто возникающего значительного отека следует вводить вещество только в одну конечность, чтобы животное могло избежать полной нагрузки на нее. Поскольку существует мало доказательств того, что инокуляция антигена в подушечку лапы приводит к более интенсивному синтезу антител, чем инокуляция в другие места, предпочтительно избегать использование этого метода.

#### *Интравагинальное и ректальное введение*

Обычно для интравагинального или ректального введения используются кремы или суппозитории. Введение выполняется без анестезии. В случае невозможности использования готовой лекарственной формы животному, вследствие малых размеров тела, суппозитории предварительно расплавляют в термостате при температуре  $38 \pm 2$  °C в течение 10–15 мин. Вводят с использованием инсулинового шприца без иглы или механического дозатора [56].

#### *Интраназальное введение*

Для интраназального введения используют пипетки или механические одноканальные дозаторы. Также в качестве устройств для интраназального введения применяют внутривенный катетер без иглы и шприц Гамильтона. Перед введением, если необходимо, выполняют общую анестезию и животное фиксируют. При проведении манипуляции наконечник устройства подносят на расстояние 1–2 мм от носового хода, выдавливают каплю, далее капля под своей тяжестью капает в носовой ход. Вставлять наконечник устройства в носовой ход животного или подносить слишком близко нельзя из-за возможной травматизации ходов, особенно при повторных введениях [57].

#### *Эндотрахеальное введение*

Морским свинкам, как и другим мелким лабораторным грызунам, можно осуществлять эндотрахеальное введение при помощи катетеров или специального эндотрахеального зонда, как правило, имеющего шариковый наконечник для предупреждения травматизации. Самым простым и наименее инвазивным методом является введение эндотрахеального зонда через ротоглотку. Эндотрахеальное введение в основном проводится под общей анестезией, однако при достаточном опыте процедуру можно выполнять без наркотизации животного.

го. В таком случае необходимо использовать местные анестетики [58].

## Заключение

Морские свинки представляют собой промежуточный вид лабораторных животных по простоте и стоимости ухода. Хотя их значительно легче и дешевле содержать, чем приматов, собак или кроликов, но явно дороже и труднее, чем крыс или мышей. Популярность использования морских свинок в биомедицинских исследованиях также во многом связана с тем, что это неагрессивные животные, которые легко приучаются к процедурам.

Морские свинки используются в различных исследованиях: при изучении метаболических нарушений, астмы, слуха, сердечно-сосудистой системы, в иммунологии, при изучении инфекционных заболеваний. Однако в исследованиях фармакологической безопасности и в токсикологии морских свинок используют немного меньше. При изучении фармакологической безопасности в отношении сердечно-сосудистой системы морская свинка является единственным из рекомендуемых для этого типа исследований видом лабораторных грызунов. Морская свинка является прекрасной моделью для воспроизведения анафилаксии и изучения других иммунологических процессов, но это обусловлено тем фактом, что иммунные реакции у морских свинок (как клеточные, так и гуморальные) более выражены по сравнению с реакциями человека. Морские свинки наряду с крысами и кроликами рекомендованы для изучения токсичности при многократном накожном нанесении лекарственных средств.

При планировании исследований токсичности на морских свинках необходимо учитывать их особенности. В частности, получение образцов крови морских свинок для рутинной диагностики является сложной процедурой. Периферические вены, доступные для взятия крови у большинства млекопитающих, у морских свинок трудно визуализируются, глубоко расположены, из них можно отобрать только небольшие объемы крови. Вены у морских свинок маленькие и хрупкие, что также усложняет процесс отбора образцов крови и процедуры внутривенного введения веществ.

Поскольку морские свинки чувствительны к тератогенным эффектам, вызванным различными экологическими и химическими агентами, эти животные могут служить альтернативной моделью для исследований влияния на онтогенез, когда традиционные модели не подходят. Как и в случае с любым другим видом животных, перед началом исследований необходимо доказать, что морские свинки являются релевантным видом для таких исследований. Однако традиционные методы отбора животных для изучения фертильности и формирования групп беременных самок

для исследований репродуктивной токсичности использовать на морских свинках сложно. В связи с этим были разработаны адаптированные подходы для изучения репродуктивной токсичности на морских свинках.

Морские свинки являются также одним из наиболее часто используемых видов лабораторных грызунов при оценке возможной фототоксичности. Рекомендованных протоколов для изучения фототоксичности нет, поэтому при разработке дизайна эксперимента необходимо учитывать характеристики тестируемой субстанции (фармакокинетические параметры, распределение в органах и тканях, предполагаемый способ и длительность воздействия на человека).

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Animal models in toxicology / Edited by Gad S.C. 2nd ed. CRC Press, 2007. 933 p.
2. Riggs S.M. GUINEA PIGS // Manual of Exotic Pet Practice. 2009. P. 456–473. DOI: 10.1016/B978-141600119-5.50020-2.
3. Fernandez M.L. Guinea pigs as models for cholesterol and lipoprotein metabolism // J. Nutr. 2001. Vol. 131. N. 1. P. 10–20. DOI: 10.1093/jn/131.1.10.
4. Zhao Y., Qu H., Wang Y. et al. Small rodent models of atherosclerosis // Biomed Pharmacother. 2020. Vol. 129. P. 110426. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110426.
5. Cos E., Ramjiganesh T., Roy S. et al. Soluble fiber and soybean protein reduce atherosclerotic lesions in guinea pigs. Sex and hormonal status determine lesion extension // Lipids. 2001. Vol. 36. N. 11. P. 1209–1216. DOI: 10.1007/s11745.
6. Sullivan M.P., Cerda J.J., Robbins F.L., Burgin C.W., Beatty R.J. The gerbil, hamster, and guinea pig as rodent models for hyperlipidemia // Lab. Anim. Sci. 1993. Vol. 43. N. 6. P. 575–578.
7. West K.L., Fernandez M.L. Guinea pigs as models to study the hypocholesterolemic effects of drugs // Cardiovasc. Drug Rev. 2004. Vol. 22. N. 1. P. 55–70. DOI: 10.1111/j.1527-3466.2004.tb00131.x.
8. Padilla-Carlin D.J., McMurray D.N., Hickey A.J. The guinea pig as a model of infectious diseases // Comp. Med. 2008. Vol. 58. N. 4. P. 324–340.
9. Clark S., Hall Y., Williams A. Animal models of tuberculosis: Guinea pigs // Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2014. Vol. 5. N. 5. P. a018572. DOI: 10.1101/cshperspect.a018572.
10. Adner M., Canning B.J., Meurs H. et al. Back to the future: re-establishing guinea pig in vivo asthma models // Clin. Sci. (Lond). 2020. Vol. 134. N. 11.
11. Lamm W.J., Lai Y.L., Hildebrandt J. Histamine and leukotrienes mediate pulmonary hypersensitivity to antigen in guinea pigs // J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exerc. Physiol. 1984. Vol. 56. N. 4. P. 1032–1038. DOI: 10.1152/jappl.1984.56.4.1032.
12. Yu L., Liu Q., Canning B.J. Evidence for autocrine and paracrine regulation of allergen-induced mast cell mediator release in the guinea pig airways // Eur. J. Pharmacol. 2018. Vol. 822. P. 108–118. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.11.017.

13. Joiner P.D., Wall M., Davis L.B., Hahn F. Role of amines in anaphylactic contraction of guinea pig isolated smooth muscle // *J. Allergy Clin. Immunol.* 1974. Vol. 53. N. 5. P. 261–270. DOI: 10.1016/0091-6749(74)90104-3.
14. Kallós P., Pagel W. 1937 Experimentelle Untersuchungen über Asthma bronchiale // *Acta Med. Scand.* Vol. 91. P. 292–305. DOI: 10.1111/j.0954-6820.1937.tb16045.x.
15. Andersson P. Antigen-induced bronchial anaphylaxis in actively sensitized guinea-pigs. Pattern of response in relation to immunization regimen // *Allergy.* 1980. Vol. 35. N. 1. P. 65–71. DOI: 10.1111/j.1398-9995.1980.tb01718.x1.
16. Smith N., Broadley K.J. Optimisation of the sensitisation conditions for an ovalbumin challenge model of asthma // *Int. Immunopharmacol.* 2007. Vol. 7. N. 2. P. 183–190. DOI: 10.1016/j.intimp.2006.09.007.
17. Han M., Rajput C., Ishikawa T. et al. Small Animal Models of Respiratory Viral Infection Related to Asthma // *Viruses.* 2018. Vol. 10. N. 12. P. 682. DOI: 10.3390/v10120682.
18. Lowe A.P., Thomas R.S., Nials A.T. et al. LPS exacerbates functional and inflammatory responses to ovalbumin and decreases sensitivity to inhaled fluticasone propionate in a guinea pig model of asthma // *Br. J. Pharmacol.* 2015. Vol. 172. N. 10. P. 2588–2603. DOI: 10.1111/bph.13080.
19. Naert G., Pasedelou M.P., Le Prell C.G. Use of the guinea pig in studies on the development and prevention of acquired sensorineural hearing loss, with an emphasis on noise // *J. Acoust. Soc. Am.* 2019. Vol. 146. N. 5. P. 3743. DOI: 10.1121/1.5132711.
20. Parola L.R., Pinette M.P., Proffen B.L. et al. Hydrogel treatment for idiopathic osteoarthritis in a Dunkin Hartley Guinea pig model // *PLoS One.* 2022. Vol. 17. N. 11. P. e0278338. DOI: 10.1371/journal.pone.0278338.
21. Wang S., Ma J., Zhao X. et al. The Osteoarthritis Natural Progress and Changes in Intraosseous Pressure of the Guinea Pig Model in Different Degeneration Stages // *Orthop. Surg.* 2022. Vol. 14. N. 11. P. 3036–3046. DOI: 10.1111/os.1349.
22. Musci R.V., Walsh M.A., Konopka A.R. et al. The Dunkin Hartley Guinea Pig Is a Model of Primary Osteoarthritis That Also Exhibits Early Onset Myofiber Remodeling That Resembles Human Musculoskeletal Aging. *Front Physiol.* 2020. Vol. 11:571372. DOI: 10.3389/fphys.2020.571372.
23. Joukar S. A comparative review on heart ion channels, action potentials and electrocardiogram in rodents and human: extrapolation of experimental insights to clinic // *Lab. Anim. Res.* 2021. Vol. 37. N. 1. P. 25. DOI: 10.1186/s42826-021-00102-3.
24. Hamlin R.L. The guinea pig in cardiac safety pharmacology // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 2007. Vol. 55. N. 1. P. 1–2. DOI: 10.1016/j.vascn.2006.05.003.
25. Bartakova A., Novakova M., Stracina T. Anesthetized guinea pig as a model for drug testing // *Physiol. Res.* 2022. Vol. 71. N. S2. P. S211–S218. DOI: 10.33549/physiolres.934994.
26. Alizadeh E.A., Graf K., Schiwon J. et al. Thirty years of telemetry-based data acquisition for cardiovascular drug safety evaluation: Applications and optimization // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 2023. Vol. 122:107279. DOI: 10.1016/j.vascn.2023.
27. Ruppert S., Vormberge T., Igl B.W., Hoffmann M. ECG telemetry in conscious guinea pigs // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 2016. Vol. 81. P. 88–98. DOI: 10.1016/j.vascn.2016.04.013.
28. Cormia F.E., Lewis G.M., Hopper M.E. Toxicity of penicillin for the guinea pig // *J. Invest. Dermatol.* 1947. Vol. 9. N. 5. P. 261–267. DOI: 10.1038/jid.1947.96.
29. Green R.H. The association of viral activation with penicillin toxicity in guinea pigs and hamsters // *Yale J. Biol. Med.* 1974. Vol. 47. N. 3. P. 166–181.
30. Farrar WE Jr., Kent T.H. Enteritis and coliform bacteremia in guinea pigs given penicillin // *Am. J. Pathol.* 1965. Vol. 47. N. 4. P. 629–642.
31. Newton W.L., Steinman H.G., Brandriss W.M. Absence of lethal effect of penicillin in germ-free guinea pigs // *J. Bacteriol.* 1964. Vol. 88. N. 2. P. 537–538. DOI: 10.1128/jb.88.2.537-538.1964.
32. Bare L.N., Wiseman R.F., Moore B.O., Ruchman I. Suppressed penicillin toxicity in immunized guinea pigs surviving challenge with western equine encephalitis virus // *J. Bacteriol.* 1968. Vol. 95. N. 2. P. 714–715. DOI: 10.1128/jb.95.2.714-715.1968.
33. Abe H., Ogata N. Effects of penicillin on electrical activities of neurons in guinea-pig hippocampal slices // *Jpn. J. Pharmacol.* 1981. Vol. 31. N. 5. P. 661–675. DOI: 10.1254/jjp.31.661.
34. Hoar R.M., King T.J. Further observations on resorption in guinea pigs following injections of trypan blue // *Anat. Rec.* 1967. Vol. 157. N. 4. P. 617–620. DOI: 10.1002/ar.1091570407.
35. Hoar R.M. Resorption in guinea pigs as estimated by counting corpora lutea: the problem of twinning // *Teratology.* 1969. Vol. 2. N. 3. P. 187–190. DOI: 10.1002/tera.1420020303.
36. Edwards M.J. Congenital defects in guinea pigs: fetal resorptions, abortions, and malformations following induced hyperthermia during early gestation // *Teratology.* 1969. Vol. 2. N. 4. P. 313–328. DOI: 10.1002/tera.1420020406.
37. Edwards M.J. Congenital defects in guinea pigs: prenatal retardation of brain growth of guinea pigs following hyperthermia during gestation // *Teratology.* 1969. Vol. 2. N. 4. P. 329–336. DOI: 10.1002/tera.1420020407.
38. Rocca M.S., Wehner N. G. The guinea pig as an animal model for developmental and reproductive toxicology studies // *Birth Defects Res. B Dev. Reprod Toxicol.* 2009. Vol. 86. N. 2. P. 92–97. DOI: 10.1002/bdrb.20188.
39. Basketter D.A., Kimber I. Skin sensitization, false positives and false negatives: experience with guinea pig assays // *J. Appl. Toxicol.* 2010. Vol. 30. N. 5. P. 381–386. DOI: 10.1002/jat.1545.
40. Magnusson B., Kligman A.M. The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test // *J. Invest. Dermatol.* 1969. Vol. 52. N. 3. P. 268–276. DOI: 10.1038/jid.1969.42.
41. Verdier F., Chazal I., Descotes J. Anaphylaxis models in the guinea-pig // *Toxicology.* 1994. Vol. 93. N. 1. P. 55–61. DOI: 10.1016/0300-483x(94)90196-1.
42. Maguire HC Jr., Chase M.W. Exaggerated delayed-type hypersensitivity to simple chemical allergens

- in the guinea pig // *J. Invest. Dermatol.* 1967. Vol. 49. N. 5. P. 460–468. DOI: 10.1038/jid.1967.166.
43. Katsutani N., Shionoya H. Drug-specific immune responses induced by immunization with drugs in guinea pigs and mice // *J. Toxicol. Sci.* 1992. Vol. 17. N. 4. P. 169–183. DOI: 10.2131/jts.17.169.
  44. Levine B.B., Ovary Z. Studies on the mechanism of the formation of the penicillin antigen. III. The N-(D-alpha-benzylpenicilloyl) group as an antigenic determinant responsible for hypersensitivity to penicillin G // *J. Exp. Med.* 1961. Vol. 114. N. 6. P. 875–904. DOI: 10.1084/jem.114.6.875.
  45. Levine B.B., Price V.H. Studies on the immunological mechanisms of penicillin allergy. II. Antigenic specificities of allergic wheal-and-flare skin responses in patients with histories of penicillin allergy // *Immunology.* 1964. Vol. 7. N. 5. P. 542–556.
  46. De Weck A.L., Schneider C.H. Immune and non-immune responses to monovalent low molecular weight penicilloyl-polylysines and penicilloyl-bacitracin in rabbits and guinea-pigs // *Immunology.* 1968. Vol. 14. N. 4. P. 457–473.
  47. Вавилова В.А., Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Хайменов А.Я. Апробация метода оценки фототоксических эффектов лекарственных препаратов в условиях *in vivo* // Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018. Т. 8. № 2. С. 115–122. [Vavilova V.A., Shekunova E.V., Kashkin V.A., Makarova M.N., Makarov V.G., Hajmenov A.Ya. Aprobaciya metoda ocenki fototoksicheskix e'ffektov lekarstvenny'x preparatov v usloviyax *in vivo* // *Vedomosti Nauchnogo centra e'kspertizy' sredstv medicinskogo primeneniya* 2018. Vol. 8. N. 2. P. 115–122. (In Russ.)]. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-2-115-122.
  48. Lovell W.W., Sanders D.J. Phototoxicity testing in guinea-pigs // *Food Chem. Toxicol.* 1992. Vol. 30. N. 2. P. 155–160. DOI: 10.1016/0278-6915(92)90151-a.
  49. Adachi T., Satou Y., Satou H. et al. Assessment of 8-Methosypsoalen, Lomefloxacin, Sparfloxacin, and Pirfenidone Phototoxicity in Long-Evans Rats // *Int. J. Toxicol.* 2015. Vol. 34. N. 1. P. 16–23.
  50. Okumura Y., Yamauchi H., Takayama S., Kato H., Kokuibu M. Phototoxicity study of a ketoprofen poultice in guinea pigs // *J. Toxicol. Sci.* 2005. Vol. 30. N. 1. P. 19–28. DOI: 10.2131/jts.30.19.
  51. Cernochova H., Hundakova A., Bardi E., Knotek Z. Biochemical profile of urine in guinea pigs (*Cavia porcellus*) // *Veterinarni Medicina.* 2020. Vol. 10. P. 445–450.
  52. Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Кухаренко А.Е., Вичаре А.С., Рюффер Ф.-Р. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным // Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018. Т. 8. № 4. С. 207–217. [Ry'bakova A.V., Makarova M.N., Kuxarenko A.E., Vichare A.S., Ryuffer F.-R. Sushhestvuyushhie trebovaniya i podxody k dozirovaniyu lekarstvenny'x sredstv laboratorny'm zhitotny'm // *Vedomosti Nauchnogo centra e'kspertizy' sredstv medicinskogo primeneniya.* 2018. Vol. 8. N. 4. P. 207–217. (In Russ.)]. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217.
  53. Morton D.B., Jennings M., Buckwell A. et al. Joint Working Group on Refinement. Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. British Veterinary Association Animal Welfare Foundation/Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments/Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals/Universities Federation for Animal Welfare // *Lab. Anim.* 2001. Vol. 35. N. 1. P. 1–41. DOI: 10.1258/0023677011911345.
  54. Turner P.V., Brabb T., Pekow C., Vasbinder M.A. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider // *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2011. Vol. 50. N. 5. P. 600–613.
  55. Washington State University Institutional Animal Care and Use Committee Guideline 10: Drug and Chemical Administration. URL: <https://iacuc.wsu.edu/documents/2018/09/guidelines-for-drug-and-chemical-administration.pdf/>. (Дата обращения: 04.2023).
  56. Чернышова А.В., Рощина Е.А., Алексеева Л.И., Кательникова А.Е., Макарова М.Н. Рекомендованные и максимально допустимые объемы для ректального и интравагинального введения лекарственных средств разным видам животных // Лабораторные животные для научных исследований. 2023. № 1. [Chernyshova A.V., Roshhina E.A., Alekseeva L.I., Katel'nikova A.E., Makarova M.N. Rekomendovannye i maksimal'no dopustimy'e ob'emy' dlya rektal'nogo i intravaginal'nogo vvedeniya lekarstvennykh sredstv razny'm vidam zhitotnykh // *Laboratornye zhitotnye dlya nauchnykh issledovaniy.* 2023. N. 1. (In Russ.)]. DOI: 10.57034/2618723X-2023-01-04.
  57. Кательникова А.Е., Крышень К.Л., Зуева А.А., Макарова М.Н. Интраназальное введение лекарственных средств лабораторным животным // Лабораторные животные для научных исследований. 2019. № 2. [Katel'nikova A.E., Kryshen' K.L., Zueva A.A., Makarova M.N. Intranazal'noe vvedeniye lekarstvenny'x sredstv laboratorny'm zhitotnym // *Laboratornye zhitotnye dlya nauchnykh issledovaniy.* 2019. N. 2. (In Russ.)]. DOI: 10.29296/2618723X-2019-02-09.
  58. Трофимец Е.И., Макарова М.Н., Кательникова А.Е., Крышень К.Л. Эндотрахеальный способ введения лекарственных средств лабораторным животным // Лабораторные животные для научных исследований. 2020. № 2. С. 65–75. [Trofimecz E.I., Makarova M.N., Katel'nikova A.E., Kryshen' K.L. Endotracheal'nyy sposob vvedeniya lekarstvennykh sredstv laboratornym zhitotnym // *Laboratornye zhitotnye dlya nauchnykh issledovaniy.* 2020. N. 2. P. 65–75. (In Russ.)]. DOI: 10.29296/2618723X-2020-02-08.

---

#### Информация об авторах

**М.Н. Макарова**, доктор медицинских наук, директор, makarova.mn@doclinika.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>

**В.Г. Макаров**, доктор медицинских наук, научный руководитель, <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>

АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»,  
188663, Россия, Ленинградская обл.,  
Всеволожский район, г.п. Кузьмолловский,  
ул. Заводская, д. 3, к. 245.

#### Information about the authors

**M.N. Makarova**, MD, Director, makarova.mn@doclinika.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>

**V.G. Makarov**, MD, Scientific director, <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>

Research and manufacturing company  
“Home of Pharmacy”,  
188663, Russia, Leningrad oblast,  
Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy t.s.,  
Zavodskaya st. 3–245.

---

#### Вклад авторов в написание статьи

**М.Н. Макарова** — поиск, обобщение данных литературы, написание и редактирование текста рукописи.

**В.Г. Макаров** — критический пересмотр текста и одобрение окончательного варианта рукописи для публикации.

#### Сведения о конфликте интересов

В.Г. Макаров является главным редактором журнала «Лабораторные животные для научных исследований». М.Н. Макарова является членом редакционной коллегии журнала «Лабораторные животные для научных исследований».

Дата поступления рукописи  
в редакцию: 15.12.2023

Дата рецензии статьи: 06.02.2024

Дата принятия статьи к публикации: 04.04.2024

#### Authors contribution

**M.N. Makarova** — search and consolidation of literature data, writing and editing of the text of the manuscript.

**V.G. Makarov** — critical review and approval of the final version of the manuscript for publication.

#### Conflict of interest

V.G. Makarov is the Editor-in-Chief of Laboratory animals for science. M.N. Makarova is a member of the editorial board of Laboratory animals for science.

Received: 15.12.2023

Reviewed: 06.02.2024

Accepted for publication: 04.04.2024