

УДК 616-092.9 : 616.8-089

А.Ж. Доскалиев¹, И.К. Мусабеков¹, М.К. Сатов¹, Х.А. Мустафин¹, В.Б. Огай², К.Р. Абуғалиев³,
Б.Б. Жетписбаев¹, А.М. Джумабаева¹, М.Е. Нугуметова¹, Р.Ж. Ауэзова¹

¹ АО «Национальный центр нейрохирургии», г. Нур-Султан, Казахстан

² РГП «Национальный центр биотехнологии», г. Нур-Султан, Казахстан

³ АО «Национальный центр онкологии и трансплантологии», г. Нур-Султан, Казахстан

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ В НЕЙРОХИРУРГИИ. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Для того, чтобы начать клинические испытания лекарственных средств и изделий медицинского назначения необходимо проведение доклинических исследований. А для проведения экспериментального доклинического исследования на животных (собаках, кроликах или крысах) необходимо правильно рассчитать дозу препаратов для наркоза, а также в совершенстве владеть техникой краниотомии на животных, выполнить безболезненную процедуру эвтаназии и т.д. Мы провели обзор научно-технической литературы за последние 30 лет, в результате которого были проанализированы основные рекомендации по анестезиологическому пособию, краниотомии, а также по эвтаназии при работе с экспериментальными животными.

В связи с относительной простотой ухода и доступностью, в качестве исследуемых животных мы выбрали кроликов. Принимая во внимание такие особенности этих животных, как небольшой вес и высокую скорость метаболизма, из-за которых действие многих инъекционных агентов может оказаться менее продолжительным, учёными сделаны следующие рекомендации: 1) при расчете дозы препаратов для наркоза необходимо учитывать фактический вес животного на момент операции; 2) нельзя подвергать кроликов длительному голоду и обезвоживанию.

Например, Р. Alberius очень тщательно описал особенности проведения краниотомии у кроликов, уделяя большое внимание антибиотикопрофилактике, восполнению объема циркулирующей крови (ОЦК) во время операции, а также профилактике гипотермии во время и после операции.

Эвтаназия кроликов проводится углекислым газом (CO₂), к преимуществам которого относятся экономичность, относительная безопасность для пользователей и окружающей среды. При этом соблюдаются определённые условия: а) необходимо использование сжатого 100% CO₂ в баллонах, поставляемых с заданной скоростью вытеснения (от 10% до 70% объема камеры в минуту); б) между использованиями камеры должны быть очищены от CO₂; в) до остановки подачи CO₂ исследователь должен визуально убедиться, что животное умерло; г) скорость потока CO₂ может быть увеличена после того, как животные теряют сознание, чтобы ускорить смерть.

Ключевые слова: нейрохирургия, доклиническое исследование, эксперименты на животных.

ВВЕДЕНИЕ

Золотым стандартом оценки эффективности и безопасности медицинских вмешательств являются научно-обоснованные данные рандомизированных клинических испытаний [1-3].

До начала проведения клинических испытаний лекарственных средств и изделий медицинского назначения необходимо проведение доклинического исследования. О важности доклинического исследования говорит история с седативным и снотворным препаратом талидомид. Этот пре-

парат получил широкую известность из-за своей тератогенности, после того, как в период с 1956 по 1962 годы в ряде стран мира родилось по разным подсчётам от 8000 до 12 000 детей с врождёнными уродствами, обусловленными приёмом талидомида беременными женщинами. Талидомидовая трагедия заставила многие страны пересмотреть существующую практику лицензирования лекарственных средств, ужесточив требования к исследуемым препаратам [4].



История первых анатомических исследований уходит далеко, во времена Древней Греции [5]. Учёные установили сходства и различия в анатомии и физиологии человека и животных [6]. В области нейрохирургии фундаментальные исследования с использованием моделей на животных начались с 20-х годов прошлого века [7-9]. У учёных появилась возможность разрабатывать новые процедуры и открывать новые концепции в нейрофизиологии, а нейронаука стала привлекать к себе всё больше целеустремленных и увлеченных открытиями людей [10].

Учёными Национального центра нейрохирургии совместно с исследователями Национального центра биотехнологии и Национального центра онкологии и трансплантологии была детально изучена проблема реконструкции дефектов твердой мозговой оболочки (ТМО) с применением внеклеточного матрикса в качестве трансплантата.

ЦЕЛЬ. Изучение различных методов проведения доклинических исследований с применением краниотомии у таких животных, как кролики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Литературный обзор научных работ за последние 30 лет, описывающих анестезиологическое пособие, проведение краниотомии и эктаназию экспериментальных животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Разработан протокол краниотомии и техника пластики ТМО на экспериментальных животных (кроликах).

Анестезиологическое пособие. Введение экспериментальных животных в наркоз сопряжено с множеством трудностей, особенно в условиях лаборатории. Домашний кролик имеет небольшой вес, а также поведенческие, физиологические и анатомические особенности, которые значительно отличают его от собак и кошек. При отборе подопытного животного для эксперимента важное значение имеют физический осмотр и точная оценка массы тела. Доказано, что знание особенностей воздействия анестетиков на сердечно-сосудистую и респираторную системы в сочетании с тщательной практикой мониторинга повысит безопасность седации и анестезии [11]. Использование анестетиков с легким седативным эффектом является достаточным, чтобы выполнить такие процедуры, как рентгенография, установка внутривенного катетера и фиксация лицевой маски для введения ингаляционных анестетиков [11]. На выбор дозы анестетика влияет наличие

сопутствующих заболеваний, поэтому, если есть сомнения относительно состояния здоровья животного, то следует начать анестезию и седацию с введения более низких доз или более мягких форм премедикантов с последующим титрованием инъекционных или ингаляционных препаратов до получения желаемого эффекта [11].

К седативным препаратам, которые применяются у кроликов относятся буторфанол – препарат из группы антагонистов-агонистов опиатных рецепторов или мидазолам – препарат короткого действия класса бензодиазепинов. Эти препараты можно использовать как по отдельности, так и вместе в таких дозах, как 0.4 мг/кг буторфанола и 2 мг/кг мидазолама. При этом мидазолам обеспечивает миорелаксацию, а буторфанол анальгезию [11]. Данная дозировка предлагается для взрослых здоровых кроликов. Следовательно, ослабленным и молодым кроликам следует уменьшить дозировку [11, 12]. Также возможно внутримышечное обезболивание кетаминном в сочетании с другими седативными средствами [13]. Необходимо помнить, что фактический вес кролика может оказаться меньше того, который мы увидим на циферблате весов. А это может быть связано с большой протяженностью кишечного тракта кролика, заполненного на момент взвешивания животного [14, 15]. В связи с тем, что кролики, особенно молодые особи, отличаются высоким метаболизмом, их нельзя длительное время оставлять без питания в связи с возможностью развития метаболического ацидоза [16]. Кроме того, у кроликов невозможно вызвать рвоту, но при необходимости можно остановить подачу пищи не более чем на 12 часов, а воду прекратить давать за 1-2 часа до начала процедуры [11].

С осторожностью следует назначать кроликам кетамин в комбинации с ксилазином. Это связано с тем, что ксилазин, оказывая успокаивающее, миорелаксирующее и обезболивающее действие на животных, в то же время является агонистом центральных α_2 -адренорецепторов. В связи с этим комбинация ксилазина с кетаминном может привести к угнетению дыхания и двигательному возбуждению [11]. Вследствие высокой скорости метаболизма кроликов, для них необходимо вводить большие дозы анестетика, чем, например, для собак [14]. Кроме того, кролики потребляют больший объем воды, чем собаки того же размера. Следовательно, истощение у кроликов может наступить раньше [17]. Учитывая объем предстоящей операции рекомендуется катетеризировать

ушную или любую другую подкожную вены катетером малого диаметра, чтобы обеспечить необходимый объём инфузии во время операции (р-р Рингера, глюкоза, 0,9% NaCl). В последующем катетер можно оставить до полного пробуждения.

В качестве анестетика можно использовать пропофол или тиопентал, но нужно рассчитать точную дозу, потому что препараты данной группы угнетают дыхание. Рекомендованная доза пропофола у кроликов массой 3,25 кг. без предварительной премедикации, доза препарата составляет примерно 8 мг/кг [18] и вдвое меньшая доза препарата для кроликов с премедикацией [11].

Для контроля за дыханием, а также для предотвращения гипоксии допускается использование эндотрахеальной интубации [11]. Кроликов можно интубировать либо с использованием детского ларингоскопа, либо с помощью метода слепой интубации эндотрахеальной трубкой диаметром 2,5-4 мм [11]. Из-за определённых анатомических особенностей дыхательных путей животного, использование метода визуализации имеет свои технические сложности, к которым относятся: длинная узкая полость рта, неспособность широко открыть рот животного, расположение гортани вентрально от дна рта, а также наличие нежных структур полости рта и гортани, которые с высокой вероятностью возможно повредить при манипуляциях. Некоторые учёные используют слепую интубацию, так как она может выполняться даже на очень маленьких кроликах и не сложна в проведении [17, 19, 20]. Неловкое обращение с гортанью кролика может привести к отеку и ларингоспазму. Чтобы избежать закупорки трубки при контакте со стенкой трахеи, необходимо максимально и аккуратно выпрямить шею кролика. Для контроля за интубацией кролика необходимо поднести зеркало или полированный конец ручки ларингоскопа к коннектору эндотрахеальной трубки: при правильной интубации животного можно обнаружить конденсат из полости трубки при выдохе животного [11].

Частота сердечных сокращений у бодрствующего кролика в норме варьирует от 125 до 325 ударов в минуту. Уменьшение частоты сердечных сокращений может сигнализировать о чрезмерной глубине анестезии. У бодрствующего кролика частота дыхания составляет от 30 до 60 дыхательных движений в минуту. Поэтому необходимо внимательно следить за качеством дыхания, так как увеличение усилий, прилагаемых животным, или уменьшение движений дыхательного мешка

может сигнализировать о закупорке эндотрахеальной трубки, что может произойти даже при небольшом количестве слизи.

Во время проведения операции необходимо подложить под животное одеяло с подогревом или обложить кролика бутылками с теплой водой для избегания переохлаждения. Всем экспериментальным животным перед операцией необходимо определять в крови гематокрит, общий белок, электролиты и исследовать выделительную функцию почек. Во время операции очень важно восполнять жидкости организма животного раствором Рингера либо физиологическим раствором, при этом скорость введения жидкости должна составлять 10 мл/кг/час с увеличением дозы в случае кровопотери. Для этого можно установить инфузомат, либо проводить инфузию небольшими порциями каждые 5 минут через порт для внутривенного катетера [11].

Подъем животного, перемещение по клетке и прием пищи говорит о благополучном пробуждении и восстановлении животного. Если во время пробуждения кролик вялый, это значит, что необходимо постараться восполнить объём жидкости, электролиты или глюкозу крови. Нужно помнить, что кролики не издадут звуков и не ведут себя, как кошки или собаки, когда испытывают боль. Поэтому, если ожидается, что после операции могут быть болевые ощущения, то следует назначить обезболивающие препараты. В качестве анальгетика может быть использован бупренорфин (0,01–0,03 мг/кг каждые 6–8 часов в/в или в/м) или нестероидные противовоспалительные средства.

Краниотомия. После нескольких лет экспериментов шведскими учеными в 1989 году был описан протокол простого, безопасного и эффективного способа краниотомии у белых кроликов породы New Zealand с весом от 176 до 1030 гр. [21], который с небольшими изменениями повторялся другими исследователями.

Вот протокол операции.

Внутримышечная нейрорептаналгезия проводится с помощью смеси флуанизон 10 мг/мл и фентанил 0,2 мг/мл; 0,6 мл на кг массы тела, при этом премедикация не проводится. После начала алгезии, примерно через 10 минут операционное поле удаляется от волос и обрабатывается хлоргексидином 5мг/мл. Животное укутывается и укладывается на живот и обнажается краниофациальная область. Парамедианный разрез кожи производится от носовой до теменной областей, с дальнейшим скелетированием костей черепа.



С помощью краниотома с алмазным наконечником аккуратно производится краниотомия размерами 4х6 мм, во избежание повреждения ТМО и венозных синусов. Во время трепанации операционное поле периодически орошается стерильным NaCl 0,9% во избежание перегревания в результате воздействия лампы микроскопа. Гемостаз по краям кости проводится с помощью костного воска, закрытие раны – с помощью 4/0 Dexon. Время операции 10-15 мин.

Хирургические инструменты подвергаются стерилизации в автоклаве перед первой операцией утром, и выдерживаются 15 мин в 70% растворе спирта между операциями.

Для компенсации дегидратации животному подкожно вводятся 10 мл стерильного NaCl 0,9% тотчас после операции. Антибиотикотерапия проводится с помощью внутримышечного введения стрептоциллина (дигидрострептомицин 0,25 гр/мл и бензилпенициллин 0,2 гр/мл) один раз в день в течение 7 дней.

Кроликов оставляют на электрическом одеяле и дополнительно накрывают полотенцем, чтобы поддерживать нормальную температуру тела. Животные находятся под постоянным наблюдением в течение, по крайней мере, первых 4 часов. Проводится взвешивание кроликов один раз в день в течение первой послеоперационной недели [21]. Дозировка наркоза, указанная в протоколе операции, является достаточной для проведения 15 минутной операции. Более низкие дозировки наркоза приводят к необходимости повторной инъекции, что авторы связывают с ускоренным метаболизмом у кроликов. С другой стороны, чрезмерно высокие дозировки могут привести к угнетению дыхания, как, например, при наркозе с использованием барбитуратов [21].

Для снижения риска микробиологического заражения раны в послеоперационном периоде соблюдаются строгие правила ухода за животными, накладываются асептические хирургические повязки на рану, соблюдается тщательная гигиена у животных, а также назначаются антибиотики широкого спектра действия. Успех любой операции зависит от знания и предупреждения возможных осложнений, чётко продуманной стратегии [21].

Одной из важных проблем хирургии головного мозга является образование послеоперационных спаек. Так, в 2014 году турецкие учёные впервые провели исследование, во время которого изучили применение гемостатической губки Spongostan для профилактики спаечного

процесса [22]. Spongostan представляет собой стерильную, водонерастворимую, податливую, абсорбирующую губку из свиного желатина, которая широко используется как гемостатический материал во многих областях хирургии. Эксперимент был проведен на 18 кроликах породы New Zealand (средний вес 2,45 кг). Экспериментальных животных разделили на 2 группы. В первой группе вскрытие ТМО проводилось с применением губки Spongostan, а во второй группе без неё, при этом вскрывали ТМО в виде подковы. Субдурально укладывалась гемостатическая губка Spongostan (при этом размер накладываемой заплатки был шире чем размер дуротомии). ТМО была ушита узловыми швами в обеих группах. Через 90 дней животные были выведены из эксперимента путем введения летальной дозы анестетика. На основании полученных результатов эксперимента исследователи пришли к выводу, что сформированный слой губкой Spongostan, может предотвратить развитие спаечного процесса и снизить риск выполнения повторных операций.

Другая научная публикация – это исследование G. Faller и соавторов [23], проведенная в 2015 году. В статье описывается разработка полностью интегрированного пружинного устройства из биорассасывающегося полимера [23]. Анализ эффективности расширения черепа после линейной трепанации черепа в этом исследовании проводился также на кроликах породы New Zealand, а в эксперимент было взято 12 самок в возрасте 45 дней. В данном эксперименте 6 кроликам из 12 выполняли сагиттальную остэктомию и устанавливали пружины с упором в края костного дефекта, а в контрольной группе из 6 кроликов была выполнена остэктомия без установки пружины.

Предварительная анестезия у животных проводилась следующими препаратами: кетамин (20 мг/кг в/м), ксилазин (1 мг/кг в/м) и трамадол (5 мг/кг в/м). Общая анестезия проводилась ингаляцией изофлурана через трахеальную канюлю. После индукции голову каждого животного освобождали от волосяного покрова путём бритья и обрабатывали антисептическим раствором, а место разреза инфильтрировали 0,5% раствором бупивакаина. Разрез кожи длиной 3 см. производили по средней линии. Для линейной трепанации черепа шириной 6 мм. использовался низкоскоростной наконечник с бором диаметром 5 миллиметров. Трепанация выполнялась от точки, находящейся на 10 мм кпереди от коронарного шва до лямбдовидного шва. Для антибиотикопрофилактики ис-

пользовался энрофлоксацин 5 мг/кг, в/м, один раз в сутки, 3 дня. Рентгенологическое исследование животному проводилось после введения кетамина (20 мг/кг), мидазолама (2 мг/кг) и изофлурана. Пять животных умерли: один кролик - из контрольной группы и четыре - из основной группы. Три кролика умерли сразу после операции: из них два кролика умерли из-за кровотечения, а один кролик умер вследствие развившегося выраженного неврологического дефицита. Один кролик умер через 24 часа после операции, а другой умер во время седации, у обоих животных наблюдались признаки неврологического расстройства в виде атаксии и нистагма. После линейной трепанации черепа кроликов и успешной имплантации пружины произошло расширение черепа. Хорошая переносимость импланта соседними тканями была подтверждена при проведении гистологического исследования [23].

Ещё одно исследование материалов для краниопластики было проведено Hassanein A. с соавторами [24]. Сравнивались костный трансплантат rhBMP-2 (recombinant human bone morphogenetic protein-2) и опилки костной ткани. Исследование было проведено на 22 кроликах породы New Zealand, в возрасте от 12 до 16 месяцев. Подопытным животным производилась краниотомия теменной кости размерами 17х17 мм, при этом ТМО сохранялась. В первой группе дефект кости черепа оставляли открытым. В второй группе подопытных кроликов с дефектом кости черепа проводилась пластика дефекта кости аутооттрансплантатом - костной стружкой, полученной из лобных костей. В третьей группе костный дефект теменной области восстанавливали коллагеновой губкой, пропитанной раствором rhBMP-2. В четвертой группе теменная кость расщеплялась и укладывалась на костный дефект с фиксацией титановыми пластинами. Результаты эксперимента: краниопластика дефекта черепа аутокостью является наиболее предпочтительным, потому что стружки черепной костной ткани подвергаются меньшей резорбции. Использование rhBMP-2 закрывает теменные дефекты на 99,6%, однако, индуцированная rhBMP-2 кость оказалась намного тоньше, чем заживший частичный трансплантат или опилки собственной кости [24].

Эвтаназия. Слово эвтаназия означает мягкую смерть и должно рассматриваться как акт гуманного убийства с минимумом боли, страха и страдания. При обеспечении эвтаназии, то есть прекращения жизни, необходимо принимать во внимание

аномальные поведенческие и физиологические реакции экспериментального животного, которые могут указывать на наличие тревоги и страха.

На основе изучения различных методов эвтаназии были выявлены допустимые и недопустимые методы для различных животных. В результате этого Европейской комиссией был напечатан отчет об эвтаназии экспериментальных животных [25].

Вот методы, допустимые для грызунов в бессознательном состоянии:

1. Быстрое замораживание можно использовать только после того, как грызун полностью теряет сознание.

2. Обескровливание можно использовать после того, как грызун потеряет сознание.

3. Воздушная эмболия может применяться только к грызунам в бессознательном состоянии, поскольку она может быть болезненной.

4. Хлорид калия кардиотоксичен, он вызывает удушье, вокализацию, мышечные спазмы и судорожные припадки, что делает его неприемлемым для многих операторов. Поэтому его можно использовать только после того, как животное будет полностью анестезировано.

5. Этанол использовался внутрибрюшинно в дозе 70%. Однако, он вызывает раздражение при концентрации более 10%, что делает это неприемлемым для эвтаназии, если грызун не находится в бессознательном состоянии.

Методы, не приемлемые для эвтаназии грызунов:

1. Переохлаждение. Ни при каких обстоятельствах нельзя убивать грызунов, помещая их в морозильную камеру. Замораживание может использоваться только в отношении животных, которым обеспечена анестезия.

2. Азот убивает грызунов в результате гипоксии, что неприемлемо, поскольку для достижения бессознательного состояния требуется больше времени, чем для других методов. Крысы перед потерей сознания проявляют признаки паники и стресса.

Закись азота убивает грызунов из-за аноксии, де3. йствует медленно. Грызуны демонстрируют признаки повышенной активности перед смертью, что указывает на степень беспокойства. Это делает метод неприемлемым в качестве метода эвтаназии.

4. Циклопропан является гуманным и быстрым средством для уничтожения грызунов, но он чрез-



вычайно опасен для оператора и поэтому не считается приемлемым.

5. Эфир и хлороформ ни при каких обстоятельствах не должны использоваться для эвтаназии грызунов. Оба вещества чрезвычайно опасны для оператора, а эфир при вдыхании вызывает раздражение дыхательных путей.

6. Следующие методы не должны использоваться для уничтожения грызунов: декомпрессия, вакуум, асфиксия, перегревание, утопление, трихлорэтилен, метоксифлуран, цианистый водород, стрихнин, никотин, хлоралгидрат, сульфат магния, курариформные препараты и другие нервно-мышечные блокаторы.

7. Кетамин не считается приемлемым препаратом для эвтаназии, поскольку потребуются большие дозировки. Приемлемо использование его вместе с ксилазином.

8. Седативные средства. Из-за больших дозировок, необходимых для смерти животного, седативные препараты неприемлемы в качестве средств эвтаназии.

9. Агенты, вводимые перорально.

10. Наркотические анальгетики. Производные опиатов, такие как морфин и эторфин, являются депрессантами центральной нервной системы, а также анальгетиками. Передозировка вызывает смерть из-за угнетения дыхательных центров в мозговом веществе. Однако, реакции разных видов животных сильно различаются: некоторые виды становятся агрессивными из-за больших доз этих препаратов. Поскольку информации о гуманности этих препаратов не так много, они неприемлемы в качестве средств эвтаназии.

Большой интерес у учёных вызывает эвтаназия лабораторных животных углекислым газом. AVMA – Американская ветеринарная медицинская ассоциация (American Veterinary Medical Association) считает этот метод эвтаназии углекислым газом "приемлемым с учетом условий". Эти условия требуют использование сжатого 100% углекислого газа в баллонах, поставляемых с заданной скоростью вытеснения (от 10% до 70% объема камеры в минуту) согласно разным источникам [26-28]. Недопустимы предварительно заполненные камеры: камеры должны быть опорожнены и очищены между использованием, а исследователь перед остановкой подачи CO₂ должен визуально убедиться, что животное умерло. После того, как животные теряют сознание скорость потока CO₂ может быть увеличена,

чтобы ускорить смерть. К преимуществам CO₂ относятся экономичность, относительная безопасность для пользователей и окружающей среды. Кроме того, данный метод подходит для одновременной эвтаназии нескольких грызунов [28].

Заключение.

До начала проведения клинических испытаний лекарственных средств и изделий медицинского назначения необходимо проведение доклинического исследования. Проведение экспериментального доклинического исследования на животных (кроликах) имеет свои особенности: необходим правильный расчет дозировки препаратов для наркоза, отработка техники краниотомии и процедуры эвтаназии.

При расчете дозировки препаратов для анестезии следует учитывать фактический вес кролика и высокую скорость метаболизма, следовательно, во-первых, действие многих инъекционных агентов может оказаться менее продолжительным, чем у собак, а во-вторых, не следует подвергать кроликов длительному голоду и обезвоживанию. Краниотомия у кроликов имеет свои особенности, предполагающие определённые технические трудности. Поэтому при проведении операции исследователям следует опираться на протокол, предложенный Р. Alberius, где большое внимание уделяется антибиотикопрофилактике, восполнению ОЦК путём инфузии различных растворов во время операции, а также профилактике гипотермии у животных во время операции.

Метод эвтаназии кроликов углекислым газом "приемлемым с учетом условий". Вот условия: а) Необходимо использование сжатого 100% углекислого газа в баллонах, поставляемых с заданной скоростью вытеснения (от 10% до 70% объема камеры в минуту); б) Недопустимы предварительно заполненные камеры: камеры должны быть опорожнены и очищены между использованием, а исследователь перед остановкой подачи CO₂ должен визуально убедиться, что животное умерло; в) После того, как животные теряют сознание скорость потока CO₂ может быть увеличена, чтобы ускорить смерть. К преимуществам CO₂ относятся экономичность, относительная безопасность для пользователей и окружающей среды.

Результаты представленного литературного обзора подтверждают, что проведение нейрохирургического эксперимента на кроликах при соблюдении всех правил и рекомендаций может быть проведено успешно.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. London L., Hurtado-de-Mendoza A., Song M., Nagirimadugu A., Luta G., Sheppard V.B. Motivators and barriers to Latinas' participation in clinical trials: the role of contextual factors // *Contemporary clinical trials*. – 2015. – 40. – P. 74-80.
2. Varse F., Janani L., Moradi Y., Solaymani-Dodaran M., Reza Baradaran H., Rimaz S. Challenges in the design, conduct, analysis, and reporting in randomized clinical trial studies: A systematic review // *Med J Islam Repub Iran*. – 2019. – 33. – 37. doi: 10.34171 /mjiri.
3. McKenzie J.E., Herbison G.P., Roth P., Paul C. Obstacles to researching the researchers: A case study of the ethical challenges of undertaking methodological research investigating the reporting of randomized controlled trials // *Trials*. – 2010. – 11(1). – P. 28.
4. Lenz W. Thalidomide and congenital abnormalities // *Lancet*. – 1962. – 1. – P. 45.
5. Staden H.V., Herophilus H. The Art of Medicine in Early Alexandria // Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1989.
6. Franco N.H. Animal Experiments in Biomedical Research: A Historical Perspective // *Animals (Basel)*. – 2013 Mar. – 3(1). – P. 238–273. doi: 10.3390/ani3010238.
7. Cassasa C.S.B. Multiple traumatic cerebral hemorrhages // *Proc NY Path Soc*. – 1924. – 24. – P. 101-106.
8. Osnato M., Giliberti V. Postconcussion neurosis - Traumatic encephalitis. A conception of postconcussion phenomena // *Arch Neurol Psych*. – 1927. – 18. – P. 181-214.
9. Windle W.F., Groat R.A. Disappearance of nerve cells after concussion // *Anat Rec*. – 1945. – 93. – P. 201-209.
10. Jannetta P.J. Developments in neurosurgery: "the 4 factors" // *Neurosurgery*. – 2009. Oct;65 (4 Suppl). – A9. – P. 10. doi: 10.1227/01.NEU.0000339116.52265.1C.
11. Borkowski R., Karas A.Z. Sedation and anesthesia of pet rabbits. // *Clin Tech Small Anim Pract*. – 1999 Feb. – 14(1). – P. 44-9. doi: 10.1016/S1096-2867(99)80026-7.
12. Portnoy L.G., Hustead D.R. Pharmacology of butorphanol tartrate in rabbits // *Am J Vet Res*. – 1992. – 53. – P. 541-543.
13. Mason D.E. Anesthesia, analgesia, and sedation for small mammals In: Hillyer EV, Quesenberry KE, (eds). *Ferrets, Rabbits, and Rodents*.//Clinical Medicine and Surgery Philadelphia, PA: Saunders, 1997. – P. 378-391.
14. Mader D.R: Basic approach to veterinary care. In: Hillyer EV, Quesenberry KE, (eds). *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. Philadelphia, PA: Saunders, 1997. – P. 160-168.
15. Harvey R.C., Walberg J Special considerations for anesthesia and analgesia in research animals. In: Short CE, (ed). // *Principles and Practice of Veterinary Anesthesia*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 1987. – P. 380-392.
16. Lipman N.S., Marini R.P., Fleckneli PA. Anesthesia and analgesia in rabbits. In: Kohn DF, Wixson SK, et al, (eds) // *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*. San Diego, CA: Academic Press, 1997. – P. 205-232.
17. Harkness J.E., Wagner J.E. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. (Ed 4). // Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1989.
18. Aeschbacher G., Webb A.I. Propofol in rabbits 1. Determination of an induction dose. // *Lab Anim Sci*. – 1993. – 43. – P. 324-327.
19. Wixson S.K., Manning P.J., Ringier D.H., Newcomer C.E. Anesthesia and analgesia. (eds). // *The Biology of the Laboratory Rabbit*. Ed 2. San Diego, CA: Academic Press, 1994. – P. 87-109.
20. Patil V.U., Fairbrother C., Dunham B.M. Endotracheal intubation in the rabbit: a quick, reliable method // *Lab Anim*. – 1997. – P. 28-29.
21. Alberius P., Klinge B., Isaksson S. Management of craniotomy in young rabbits // *Laboratory Animals*. – 1989. – 23. – P. 70-72.
22. Ozdol C., Alagoz F., Yildirim A.E., Korkmaz M., Daglioglu E., Atilla P., Muftuoglu S., Belen A.D. Use of Spongostan™ for Prevention of Cranial Subdural Adhesions Following Craniotomy in an Experimental Rabbit Model. // *Turk Neurosurg*. – 2015. – 25 (5). – P. 707-11. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.10891-14.1.
23. Faller G., dos Santos L.A., Marques D., Collares M.V. Development and testing of an absorbable spring for cranial expansion in rabbits // *J Craniomaxillofac Surg*. – 2015 Sep. – 43(7). – P. 1269-76. doi: 10.1016/j.jcms.2015.06.006. Epub 2015 Jun 17.
24. Hassanein A.H., Couto R.A., Kurek K.C., Rogers G.F., Mulliken J.B., Greene A.K. Experimental Comparison of Cranial Particulate Bone Graft, rhBMP-2, and Split Cranial Bone Graft for Inlay Cranioplasty // *Cleft Palate Craniofac J*. – 2013

- May. - 50(3). – P. 358-62. doi: 10.1597/11-273. Epub 2012 Aug 31.
25. Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth EM., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D., Warwick C. Recommendations for euthanasia of experimental animals. Working party report. European Commission // Laboratory Animals. -1996. - 30. – P. 293-316.
 26. Leary S., Anthony R., Cartner S., Corey D., Grandin T., Greenacre C., Gwaltney-Brant S., McCrackin M.A., Meyer R., Miller D., Shearer J., Yanong R. [Internet]. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. [Cited 11 February 2020]. // <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>
 27. Proposed 2019 Updates to the AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals [Cited 11 February 2020]. Available at: <https://www.avma.org/KB/Policies/Docum>
 28. Shomer N.H., Allen-Worthington K.H., Hickman D.L., Jonnalagadda M., Newsome J.T., Slate A.R., Valentine H., Williams A.M., Wilkinson M. Review of Rodent Euthanasia Methods. // J Am Assoc Lab Anim Sci. - 2020 May 1. - 59(3). - P. 242-253. doi: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000084.

А.Ж. Доскалиев¹, И.К. Мусабеков¹, М.К. Сатов¹, Х.А. Мустафин¹, В.Б. Огай², К.Р. Абуғалиев³,
Б.Б. Жетписбаев¹, А.М. Джумабаева¹, М.Е. Нузуметова¹, Р.Ж. Ауэзова¹

¹ «Ұлттық нейрохирургия орталығы» АҚ, Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан

² «Ұлттық биотехнология орталығы» РМК, Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан

³ «Ұлттық онкология және трансплантология ғылыми орталығы» АҚ, Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан

НЕЙРОХИРУРГИЯДАҒЫ ЭКСПЕРИМЕНТТІК ЖАНУАРЛАРҒА КЛИНИКАҒА ДЕЙІНГІ ЗЕРТТЕУЛЕР. ӘДЕБИ ШОЛУ

Дәрілік заттар мен медициналық мақсаттағы бұйымдарды клиникалық сынауды бастау үшін клиникаға дейінгі зерттеулер жүргізу қажет. Жануарларға (иттерге, қояндарға немесе егеуқұйрықтарға) эксперименттік клиникаға дейінгі зерттеу жүргізу үшін наркозға арналған препараттардың дозасын дұрыс есептеу, жануарларға краниотомия техникасын жетік меңгеру, эвтаназияның ауыртпалықсыз рәсімін орындау және т.б. қажет. Біз соңғы 30 жылдағы ғылыми-техникалық әдебиеттерге шолу жасадық, нәтижесінде тәжірибелік жануарлармен жұмыс жасау кезіндегі анестезиологиялық құрал, краниотомия, сондай-ақ эвтаназия бойынша негізгі ұсыныстар талданған болатын.

Күтім жасаудың салыстырмалы қарапайымдылығына және зерттелетін жануарлар ретінде қол жетімділігіне байланысты біз қояндарды таңдадық. Бұл жануарлардың салмағы аз және метаболизмнің жоғары жылдамдығы сияқты ерекшеліктерін, көптеген инъекциялық агенттердің әрекеті ұзаққа созылмауы мүмкін екенін ескере отырып, келесі ұсыныстар келтірілді: 1) наркозға арналған препараттардың дозасын есептеу үшін операция кезіндегі жануардың нақты салмағын ескеру қажет; 2) қояндарды ұзақ уақыт аштыққа және сусыздануға ұшыратпау керектігі.

Р. Alberius қояндардағы краниотомияның ерекшеліктерін өте мұқият сипаттап, антибиотик профилактикасына, операция кезінде айналымдағы қан көлемін (АҚК) толықтыруға, сондай-ақ операция кезінде және одан кейін гипотермияның алдын алуға көп көңіл бөлді.

Қояндардың эвтаназиясы көбінесе көмірқышқыл газымен (CO₂) жүзеге асырылады, оның артықшылығы үнемділік, пайдаланушылар мен қоршаған орта үшін салыстырмалы қауіпсіздік болып табылады. Бұл жағдайда атап айтқанда белгілі бір шарттар сақталады: а) берілген ығыстыру жылдамдығымен жеткізілетін (минутына камера көлемінің 10%-дан 70%-ға дейін), баллондардағы сығылған 100% CO₂ пайдалану қажет, б) камераны пайдалану арасында CO₂-ден тазалау керек; в) CO₂ жеткізілімін тоқтатпас бұрын, зерттеуші жануардың өлгеніне көз жеткізуі керек; г) өлімді тездету үшін CO₂ ағынының жылдамдығын жануарлар есінен танып қалғаннан кейін арттыруға болады.

Негізгі сөздер: нейрохирургия, клиникаға дейінгі зерттеулер, жануарларға жасалатын эксперименттер.

A.Zh. Doskaliyev¹, I.K. Musabekov¹, M.K. Satov¹, K.A. Mustafin¹, V.B. Ogai², K.R. Abdugaliyev³, B.B. Zhetpisbayev¹, A.M. Dzhumabayeva¹, M.E. Nugumetova¹, R.Zh. Auezova¹

¹ JSC «National Centre for Neurosurgery», Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

² RSE «National Center for Biotechnology», Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

³ JSC «National Scientific Center for Oncology and Transplantation», Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

PRECLINICAL STUDIES ON EXPERIMENTAL ANIMALS IN NEUROSURGERY. LITERATURE REVIEW

In order to begin clinical trials of drugs and medical devices, preclinical studies are required. To conduct an experimental preclinical study on animals (dogs, rabbits or rats), it is necessary to correctly calculate the dose of drugs for anesthesia, to be fluent in the technique of craniotomy on animals, to perform a painless euthanasia procedure, etc. We conducted a review of scientific and technical literature over the past 30 years, as a result of which we analyzed the main recommendations for anesthesia, craniotomy, and euthanasia when working with experimental animals.

Due to the relative ease of caring for them and their availability, we chose rabbits as test animals. Taking into account such characteristics of these animals as low weight and high metabolic rate, due to which the effect of many injectable agents may be shorter, the following recommendations were highlighted: 1) when calculating the dose of drugs for anesthesia, it is necessary to take into account the actual weight of the animal at the time of surgery; 2) do not expose rabbits to prolonged hunger and dehydration.

P. Alberius very carefully described the features of craniotomy in rabbits, paying great attention to antibiotic prophylaxis, replenishment of circulating blood volume (BCC) during surgery, as well as the prevention of hypothermia during and after surgery.

Rabbit euthanasia is often carried out with carbon dioxide (CO₂), with the benefits of being economical and relatively safe for users and the environment. In this case, certain conditions are met: a) it is necessary to use compressed 100% CO₂ in cylinders supplied with a given displacement rate (from 10% to 70% of the chamber volume per minute); b) between use the chambers must be purified of CO₂; c) before stopping the supply of CO₂, the investigator must visually verify that the animal has died; d) CO₂ flow rate can be increased after animals lose consciousness in order to hasten death.

Keywords: neurosurgery, preclinical studies, experiments on animals.