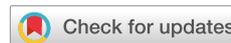


УДК 615.076.9

<https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-240>

Обзор | Review



## Реализация концепции 3Rs при контроле качества биологических лекарственных препаратов: современное состояние и перспективы (обзор)

Л.А. Гайдерова, Н.А. Алпатова<sup>✉</sup>, О.В. Головинская, А.М. Гуськов, Э.К. Липатова, М.Н. Лаврова

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

✉ Алпатова Наталья Александровна [alpatova@expmed.ru](mailto:alpatova@expmed.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** В рамках концепции «Replacement, reduction and refinement of animal testing» (3Rs) во многих странах увеличивается количество альтернативных методов без использования животных для исследовательских целей, разработки и контроля качества лекарственных средств. Однако внедрение в перечень испытаний альтернативных методов *in vitro* вместо методов *in vivo* при выпуске новых серий биологических лекарственных препаратов, в первую очередь вакцин, является сложной задачей. Процесс интеграции принципов 3Rs в регуляторные и производственные стандарты требует анализа, в том числе с учетом специфики национальных систем.

**ЦЕЛЬ.** Анализ степени интегрированности принципов 3Rs в процесс контроля качества биологических лекарственных средств в мировой практике и оценка существующих препятствий и возможностей для успешной реализации перехода к контролю качества препаратов без применения животных в Российской Федерации.

**ОБСУЖДЕНИЕ.** К основным преимуществам биологических методов *in vitro* по сравнению с *in vivo* при контроле качества препаратов относятся меньшая вариабельность, более высокая специфичность, сокращение сроков проведения испытаний. Анализ результатов оценки регуляторными органами и производителями лекарственных средств возможностей и препятствий при реализации концепции 3Rs выявил основные аргументы при замене методов *in vivo*: этический аспект, актуальность сокращения времени тестирования, снижение вариабельности. Интеграция методов *in vitro* сдерживается недостаточностью информации об альтернативных методах, а также отсутствием гармонизации нормативной базы по внедрению 3Rs. На примере внедрения принципов 3Rs в Европейскую фармакопею показано исключение всех общих испытаний по оценке безопасности биологических лекарственных средств на животных. Всемирной организации здравоохранения разработано руководство по поэтапному отказу от испытаний на животных для контроля качества биологических продуктов.

**ВЫВОДЫ.** Основные проблемы интеграции принципов 3Rs заключаются в сложности подтверждения корреляции между методами *in vivo* и *in vitro*, в том числе при проведении однозначного сравнения указанных методов, отсутствии гармонизации требований регуляторных органов, а также содействия последних производителям в принятии альтернативных методов. Международная гармонизация нормативных требований необходима для эффективного решения обозначенных проблем и успешного внедрения 3Rs в процедуры контроля качества биологических лекарственных препаратов при выпуске в разных странах, включая Российскую Федерацию.

**Ключевые слова:** 3Rs; животные; методы *in vivo*; альтернативные методы; биологические препараты; вакцина; контроль качества

**Для цитирования:** Гайдерова Л.А., Алпатова Н.А., Головинская О.В., Гуськов А.М., Липатова Э.К., Лаврова М.Н. Реализация концепции 3Rs при контроле качества биологических лекарственных препаратов: современное состояние и перспективы (обзор). *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2025;13(2):229–240.

<https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-240>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200103-5).

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

© Л.А. Гайдерова, Н.А. Алпатова, О.В. Головинская, А.М. Гуськов, Э.К. Липатова, М.Н. Лаврова, 2025

# Implementation of the 3Rs Concept in Quality Control of Biologicals: Status and Prospects (Review)

Lidia A. Gaiderova, Natalia A. Alpatova✉, Olga V. Golovinskaya, Alexander M. Guskov, Elvira K. Lipatova, Marina N. Lavrova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,  
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

✉ Natalia A. Alpatova [alpatova@expmed.ru](mailto:alpatova@expmed.ru)

## ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Many countries are implementing an increasing number of alternatives to animal testing in the research, development, and quality control of medicines under the concept of 3Rs (replacement, reduction, and refinement). However, the implementation of *in vitro* alternatives to *in vivo* methods into batch release testing of biologicals, primarily vaccines, is a challenging process. The introduction of the 3Rs principles into regulatory and industry standards requires a comprehensive analysis, including, among other things, a study of specific considerations for national frameworks.

**AIM.** This study aimed to analyse the degree of global integration of the 3Rs principles in the quality control of biological medicinal products and to assess existing challenges and opportunities for a successful transition to non-animal quality control methods in the Russian Federation.

**DISCUSSION.** The key advantages of *in vitro* biological methods over *in vivo* approaches for quality control of medicinal products include reduced variability, higher specificity, and shorter testing timelines. Analysis of assessments by regulatory authorities and pharmaceutical manufacturers regarding the opportunities and challenges in implementing the 3Rs principles has identified the following main arguments for replacing *in vivo* methods: ethical considerations, relevance of reducing testing time, decreased variability. The integration of *in vitro* methods is hindered by insufficient information on alternative approaches and the lack of harmonised regulatory frameworks for adopting 3Rs principles. For instance, the European Pharmacopoeia has eliminated all general safety testing of biological medicinal products in animals as part of its 3Rs implementation. Furthermore, the World Health Organization has developed guidelines for the phased discontinuation of animal testing in the quality control of biological products.

**CONCLUSIONS.** The main challenges associated with 3Rs implementation include the difficulty of confirming the *in vitro*–*in vivo* correlation (particularly, by comparing *in vivo* and *in vitro* methods), the lack of regulatory harmonisation, and the insufficient regulatory support for manufacturers in adopting alternative methods. The international harmonisation of regulatory requirements is necessary to effectively address these issues and successfully implement the 3Rs principles in the quality control procedures for biologicals released in different countries, including the Russian Federation.

**Keywords:** 3Rs; animals; *in vivo* methods; alternative methods; biological medicinal products; vaccine; quality control

**For citation:** Gayderova L.A., Alpatova N.A., Golovinskaya O.V., Guskov A.M., Lipatova E.K., Lavrova M.N. Implementation of the 3Rs Concept in Quality Control of Biologicals: Status and Prospects (Review). *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2025;13(2):229–240. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-240>

**Funding.** This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00001-25-00 (R&D Registry No. 124022200103-5).

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

Концепция «Replacement, reduction and refinement of animal testing» (3Rs) как методологическая и этическая основа современных исследований на животных получает все большее признание в международном научном сообществе, но степень ее практического применения в разных странах различна [1].

Принципы 3Rs первые были сформулированы в 1959 г. британскими учеными W.M.S. Russell

и R.L. Burch [2]. Авторы предложили новый подход к проведению испытаний *in vivo* (3Rs), позволяющий улучшить обращение с лабораторными животными и повысить качество научных исследований с их использованием. Были введены такие новые термины, как «replacement» (замена), «reduction» (сокращение) и «refinement» (совершенствование), которые впоследствии получили несколько иное толкование и стали широко применяться как стандарты этичного обращения с животными не только

в науке, но и при разработке и контроле качества лекарственных средств (ЛС) [3, 4].

В настоящее время 3Rs ассоциируются с методами, позволяющими сократить количество животных и минимизировать их потенциальную боль и страдания в биомедицинских исследованиях. В современной интерпретации «замена» — это разработка и внедрение альтернативных методов без использования животных, например биологических методов *in vitro*, иммуноферментного анализа, физико-химических методов и др.; «сокращение» — это поиск методов, требующих минимального количества лабораторных животных для получения достаточного и воспроизводимого объема данных; «совершенствование» — повышение благополучия животных, сведение к минимуму их боли и страданий посредством применения усовершенствованных технологий [5].

На данный момент испытания *in vivo* применяются на разных этапах жизненного цикла биологических лекарственных препаратов (БЛП): разработка (оценка биологических свойств и безопасности), внутрипроизводственный, выпускающий, регистрационный и пострегистрационный контроли (оценка критических показателей качества (critical quality attribute, CQA), таких как активность и безопасность) [6, 7]. В статье будут рассмотрены в основном вопросы применения принципов 3Rs при контроле на этапах производства и выпуска ЛС.

Важность замены тестов *in vivo* признана европейскими и международными регуляторными органами. В поддержку реализации программы 3Rs опубликовано несколько нормативных документов<sup>1</sup>. Методы *in vitro* считаются более совершенными не только благодаря своей высокой специфичности и точности, но и за счет меньших финансовых затрат и сокращения сроков испытаний [7, 8]. Однако замена тестов для контроля качества партий БЛП при выпуске, как правило, затруднительна [6, 9]. В качестве основных препятствий для внедрения альтернативных методов рассматриваются отсутствие гармонизации регуляторных требований, сложность подтверждения корреляции между методами *in vivo* и *in vitro*, в том числе при проведении сравнительных исследований, проблемы при внесении регуляторных изменений и др. [9–11].

<sup>1</sup> Guideline on the principles of regulatory acceptance of 3Rs (replacement, reduction, refinement) testing approaches. EMA/CHMP/CVMP/JEG-3Rs/450091/2012. EMA; 2016.

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Off J Eur Union*. 2010;276:33–79.

General chapter 5.2.14 Substitution of *in vivo* methods by *in vitro* methods for the quality control of vaccines. European Pharmacopoeia. 11th ed. Strasbourg: EDQM; 2023.

<sup>2</sup> <https://www.edqm.eu/en/alternatives-to-animal-testing>

**Цель работы** — анализ степени интегрированности принципов 3Rs в процесс контроля качества биологических лекарственных средств в мировой практике и оценка существующих препятствий и возможностей для успешной реализации перехода к контролю качества препаратов без использования животных в Российской Федерации.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Область применения биологических методов *in vivo*

Начиная с 1990-х гг. большое внимание уделяется стандартам гуманного обращения с животными, которые распространились как на исследовательскую деятельность, так и на контроль качества в процессе разработки и производства ЛС [12–14]. При этом в соответствии с требованиями регуляторных органов большинства стран относительно доклинических испытаний на этапе разработки оценка потенциальной токсичности ЛС на животных является обязательной. Это позволяет гарантировать безопасность будущих лекарственных препаратов (ЛП). Кроме того, в доклиническую фазу с помощью биологических моделей изучают механизмы действия и биологическую активность БЛП, их фармакокинетические и фармакодинамические свойства [5, 15].

В процессе производства и при выпуске ЛС биологические методы *in vivo* применяются при контроле безопасности и специфической активности следующих групп препаратов: вакцин для использования человеком, биологических и биотехнологических препаратов, антибиотиков и радиофармацевтических препаратов<sup>2</sup>. Отмечается, что для проведения таких испытаний задействуется более 10 млн особей животных в год [16].

### Сравнение методов *in vivo* и *in vitro*

При оценке безопасности и активности в процессе производства и на этапе выпускающего контроля качества вакцин, которые давно применяются в медицинской практике (например, против дифтерии, столбняка и коклюша), ранее использовались тесты *in vivo*, поскольку возможности аналитических методов *in vitro* были сильно ограничены. В настоящее время спектр физико-химических, иммунохимических и биологических

методов с использованием клеточных культур, применимых для оценки критических показателей качества БЛП, достаточно широк [1].

Наряду с этическими аспектами (причинение боли и страданий лабораторным животным) существуют аспекты научного, регуляторного и экономического характера относительно целесообразности использования биологических моделей при контроле качества БЛП [6, 7, 15].

С научной точки зрения при включении испытаний *in vivo* в спецификацию БЛП на момент выпуска необходимо учитывать высокую вариабельность биологических тестов, степень релевантности ответных реакций организмов животного и человека, а также соответствие данных тестов современным нормативным требованиям к контролю качества ЛС. Так, из-за межвидовых различий применимость животных для оценки безопасности и активности ЛП, предназначенных для человека, в настоящее время вызывает все больше сомнений у исследователей и разработчиков ЛС [15].

Существенным недостатком тестов *in vivo* является их вариабельность и, как следствие, довольно широкие диапазоны нормативных требований и критериев приемлемости [16–18]. Например, диапазон нормативных требований теста Национального института здоровья (National Institutes of Health, NIH) для оценки активности вакцины против бешенства согласно требованиям Европейской фармакопеи (Ph. Eur.) составляет от 25 до 400%, в то время как альтернативный метод иммуноферментного анализа (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) на основе G-белка демонстрирует более высокую точность (от 93 до 107% при 95% доверительном интервале) [6, 19].

Кроме того, из-за высокой вариабельности тестов, когда активность близка к нижней границе нормы, производители вынуждены прибегать к выпуску партий БЛП с увеличенным содержанием целевого антигена, чтобы гарантировать соблюдение нормативных требований [7].

Еще одним примером, когда использование методов *in vitro* предпочтительно, являются тесты на наличие посторонних вирусов, которые находят применение при характеристике банков клеток, а также при внутрипроизводственном контроле партий БЛП [20]. При использовании метода секвенирования нового поколения (next-generation sequencing, NGS) показана более высокая чувствительность к обнаружению посторонних вирусов, чем в испытаниях *in vivo* [21].

С экономической точки зрения биологические методы *in vivo* являются дорогостоящими,

требуют значительных временных затрат и человеческих ресурсов. Например, срок выполнения испытаний по оценке активности вакцины составляет от нескольких недель до нескольких месяцев [6, 15]. Кроме того, из-за высокой вариабельности ответов *in vivo* существует риск получения неприемлемых результатов испытаний и, следовательно, признания непригодными партий продукта, которые на самом деле являются безопасными и активными. В данном случае проведение повторных испытаний и исследование причин несоответствия приводит к задержке поступления препарата в оборот [7].

В свою очередь, тесты *in vitro* способны оценивать все соответствующие CQA с достаточной точностью (при условии, что продукт был надлежащим образом охарактеризован), поэтому любые отклонения в процессе производства с большой долей вероятности будут выявлены на ранней стадии, до этапа контроля активности ЛП при выпуске [7, 16].

Также в тестах *in vitro*, например при определении наличия посторонних вирусов, реже регистрируются как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты, что позволяет сократить сроки проведения испытания за счет времени, которое затрачивается на выяснение причин несоответствия результатов при испытании БЛП на животных [22].

Дополнительное увеличение сроков и расходов наблюдается, если национальные контрольные лаборатории (National Control Laboratories, NCL) проводят пострегистрационный независимый контроль партии перед выпуском не одновременно с производителем или если результаты испытаний, полученные NCL и производителем, различаются [23, 24].

С точки зрения глобального регулирования степень гармонизации требований относительно оценки безопасности и/или активности препаратов с применением 3Rs недостаточна [15, 25]. Во-первых, требования регуляторных органов разных стран к испытаниям и/или спецификации при выпуске партии могут иметь отличия для препаратов одного наименования разных производителей. Во-вторых, такая ситуация возможна и в отношении препарата одного производителя, зарегистрированного в нескольких странах [16, 25]. В-третьих, в отдельных регионах стандарты проведения одного и того же испытания могут иметь свою специфику (например, линии животных и/или сроки проведения испытания могут отличаться), что может оказывать влияние на результаты и определе-

ние критериев их приемлемости [6, 15]. Вчетвертых, при регистрации одного и того же БЛП в нескольких странах неизбежно дублирование испытаний на животных [23].

Следует отметить, что соответствие процесса производства действующим Правилам надлежащей производственной практики (Good Manufacturing Practice, GMP) гарантирует стабильность качества выпускаемых ЛС, поэтому подтверждать безопасность и активность БЛП, изготовленных с соблюдением GMP, в испытаниях на животных не всегда целесообразно [26, 27].

В связи с вышеизложенным тесты *in vivo* считаются менее подходящими для контроля последовательности производственного процесса и подтверждения постоянства качества продукта от партии к партии. Отмечается, что методы *in vitro* для подтверждения стабильности производства вакцин надлежащего качества являются перспективными [11, 26].

### Принципы 3Rs в рекомендациях ВОЗ

Руководящая роль Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) признается как регуляторными органами, так и производителями ЛС разных стран. Однако ее рекомендации относительно использования животных при контроле качества БЛП давно не обновлялись. Поэтому в 2019 г. Экспертный комитет по биологической стандартизации (Expert Committee on Biological Standardisation, ECBS) предложил проект по пересмотру документов, касающихся БЛП, чтобы гармонизировать их с положениями концепции 3Rs и таким образом ускорить внедрение разработанных и научно обоснованных методов *in vitro* на этапе контроля качества при выпуске [15].

Реализация проекта осуществляется в два этапа. Задачи первого этапа, завершеного в 2023 г., включали: пересмотр текущих рекомендаций ВОЗ для БЛП; взаимодействие с производителями, контролирующими организациями и регуляторными органами для оценки возможностей и препятствий успешной интеграции принципов 3Rs; разработку комплексных рекомендаций по внедрению гармонизированного подхода 3Rs в процессы производства и контроля уже зарегистрированных БЛП [28].

Второй этап проекта продолжается в настоящее время, он должен завершиться утверждением руководства ВОЗ, а также включением поправок, согласующихся с принципами 3Rs, в уже существующие рекомендации ВОЗ по проведению испытаний при внутрипроизводствен-

ном и выпускающем контроле качества вакцин и других БЛП [29].

### Внедрение принципов 3Rs при контроле и тестировании партий БЛП — взгляд регуляторных органов и производителей

С целью выявления возможностей и препятствий для успешной интеграции 3Rs со стороны национальных регуляторных органов (National Regulatory Authorities, NRA), NCL и производителей БЛП экспертами ECBS ВОЗ были разработаны и разосланы специальные вопросники. Ответы были получены из стран Европы, Азиатско-Тихоокеанского региона, Северной и Южной Америки: 13 наборов данных от NRA, 29 — от NCL [23] и 30 — от производителей ЛС [24].

В разделе вопросника, посвященном текущей практике контроля качества БЛП, все респонденты NRA подчеркнули важность использования методов *in vitro* (при условии их доступности и научной обоснованности) на этапах внутрипроизводственного и выпускающего контроля качества, однако только 38% участников обсуждали данную тему с производителями БЛП, а 62% указали, что в их странах испытания на животных при контроле качества БЛП обязательны [23].

Несмотря на то что со стороны разработчиков также отмечено стремление к сокращению количества испытаний *in vivo* и подтверждено наличие положительного опыта взаимодействия с NRA, степень внедрения альтернативных методов остается низкой. Так, производителями была представлена информация о контроле качества 154 биологических препаратов, в ходе которого было проведено 416 испытаний на животных, выполненных 20 различными методами: на биологических моделях оценивали активность (в 29,3% случаев), аномальную токсичность (20,5%), наличие посторонних вирусов (11,2%), специфическую токсичность (11%) и пирогенность (9,3%) [24].

Эффективная реализация требований GMP к производству БЛП во многих странах показала возможность отказа от оценки качества препаратов по показателю «Аномальная токсичность» на животных (abnormal toxicity test, ATT). Известно, что ECBS ВОЗ в 2018 г. рекомендовал не включать ATT во все будущие рекомендации и руководства по биологическим продуктам [30]. Это согласуется с требованиями Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA) США и Европейской

фармакопеи, которые исключили данный тест ранее<sup>3</sup> [25]. Несмотря на то что 85% участников из NRA ответили, что им известно о нововведении, АТТ по-прежнему применяется при контроле БЛП. При этом в 69% случаев NRA получают результаты теста без запроса со своей стороны [23]. Также установлено, что большинство производителей БЛП (80%) информированы об отмене испытаний на аномальную токсичность, но при этом 57% продолжают оценивать данный показатель качества [30]. Вероятно, это связано с тем, что производители поставляют свою продукцию в несколько регионов мира, при этом единый регуляторный подход в отношении АТТ не сформирован. Кроме того, отдельные руководства ВОЗ еще не актуализированы и указанный тест в них значителен [24].

Многие респонденты NRA (61%) указали, что предоставляют данные о результатах контроля качества партии БЛП другим странам в своем регионе. Представители NCL также производят обмен результатами испытаний на аномальную токсичность одних и тех же партий БЛП [23]. В данном случае согласованность контролирующих организаций способствует тому, что испытания одной и той же партии не дублируются, а, следовательно, сокращается количество задействованных животных, минимизируются временные и трудозатраты.

Тем не менее 75% NCL при вводе в оборот партий БЛП, произведенных в их стране, повторяют контроль, который уже был выполнен изготовителем, поскольку именно они, согласно документам ВОЗ, признаны ответственными за тестирование выпускаемой партии БЛП. С препаратами зарубежного производства ситуация иная: 52% NCL проводят повторное тестирование партии БЛП, уже прошедшей выпускающий контроль на предприятии-изготовителе, а 48% принимают сертификат анализа и/или сводный протокол в качестве достаточного обоснования [23].

Разделы вопросника, представлявшие основную интерес для его составителей, были посвящены тому, как национальные регуляторы (NRA и NCL) и производители оценивают возможности и препятствия для принятия 3Rs. В целом были отмечены высокая осведомленность респондентов о подходах 3Rs и положительная динамика в их продвижении. Так, например, 60% производителей, знакомых с концепцией, указа-

ли, что применяют ее на практике, остальные же 40% выразили опасения, что данные, полученные альтернативными методами *in vitro*, либо могут быть не приняты регуляторными органами, либо не будут соответствовать нормативным требованиям, однако подтвердили, что готовы заменить применяемые ими методики в будущем [24].

Наиболее значимым обоснованием в пользу замены испытаний *in vivo* и производители, и регуляторы признали этический аспект, далее отмечались актуальность сокращения времени тестирования партии БЛП, достаточно низкая вариабельность данных, получаемых методами *in vitro*, и др. [24, 29], а в качестве основных препятствий для интеграции методов без использования животных были выделены: отсутствие информации о существующих альтернативных методах и опыта в их разработке, а также недостаточное обоснование того, что данные методы имеют преимущества по сравнению с тестами *in vivo* [23, 24].

Среди факторов, которые будут способствовать принятию решения о внедрении тестов *in vitro*, представители NRA выделили следующие: включение конкретного метода *in vitro* в национальную/региональную фармакопею, проведение валидации метода *in vitro* производителем, принятие метода *in vitro* ВОЗ, наличие ссылки на метод *in vitro* в другой национальной фармакопее [23, 25].

Одним из способов доказательства пригодности новых методов для использования по назначению может быть создание специальных программ компании-производителя для разработки моделей и методов и/или внедрения методов без использования животных. Половина опрошенных производителей заявила об опыте применения таких программ на практике [24].

Результаты опроса показали, что возможность отказа от методик испытаний на животных при контроле качества БЛП во многом зависит от гармонизации подходов к внедрению 3Rs и сотрудничества между производителями и регуляторными органами. Так, подавляющее большинство опрошенных сошлись во мнении, что разработка руководства ВОЗ по внедрению 3Rs и пересмотр рекомендаций ВОЗ по отдельным препаратам необходимы, поскольку отсутствие руководящих документов не по-

<sup>3</sup> Revocation of general safety test regulations that are duplicative of requirements in biologics license applications. Final rule. *Fed Regist.* 2015;80(127):37971–4. PMID: 26155602

[https://www.edqm.eu/en/d/181388?p\\_l\\_back\\_url=%2Fen%2Fsearch%3Fq%3DSuppression%2Bof%2Bthe%2BTest%2Bfor%2BAbnormal%2BToxicity%2Bfrom%2Bthe%2BEuropean%2BPharmacopoeia](https://www.edqm.eu/en/d/181388?p_l_back_url=%2Fen%2Fsearch%3Fq%3DSuppression%2Bof%2Bthe%2BTest%2Bfor%2BAbnormal%2BToxicity%2Bfrom%2Bthe%2BEuropean%2BPharmacopoeia)

звolyет ввести методы *in vitro* в процесс контроля качества и установить требования к испытаниям партий при выпуске БЛП в разных странах. Безусловно, для реализации проекта ECBS ВОЗ требуется время, но готовность принять замещение методов и позитивный опыт взаимодействия по этому вопросу являются важными шагами.

### Проект руководства ВОЗ по внедрению принципов 3Rs

В ноябре 2024 г. на официальном сайте ВОЗ был размещен проект Руководства по поэтапному отказу от испытаний на животных при контроле качества биологических продуктов (проект Руководства)<sup>4</sup>, включающий рекомендации как для разработчиков БЛП, так и для регуляторных органов.

Тесты *in vivo* являются неотъемлемой частью разработки биологических ЛС, но ВОЗ признает имеющиеся ограничения для их применения и отмечает, что технологические достижения последних лет способствуют поиску, обоснованию и внедрению альтернативных методов. В проекте Руководства основное внимание уделено вопросам замены методов *in vivo* или их исключения в случаях, когда замену осуществить невозможно. Однако подчеркивается, что при определенных обстоятельствах, когда испытания на животных неизбежны, следует применять подходы «reduction» и «refinement», насколько это возможно с научной точки зрения [29].

Также в Руководстве отмечается, что продвижение методов *in vitro* как более чувствительных в большей степени будет гарантировать стабильность производства, а также позволит минимизировать риск нарушения сроков поставок БЛП и потенциально снизить затраты как производителей, так и контрольных лабораторий. Кроме того, для сокращения количества животных, задействованных в испытаниях, следует рассматривать обмен результатами между контрольными лабораториями разных стран [23].

В рамках подготовки проекта пересмотрен 81 документ ВОЗ, в 63-х из которых были предусмотрены испытания на животных, например для оценки наличия посторонних вирусов, нейровирулентности, пирогенности, определения активности и специфической токсичности биологических продуктов.

Руководство ВОЗ по интеграции стратегии 3Rs будет способствовать гармонизации рекомендаций по контролю качества БЛП для производителей, регуляторных органов и контрольных лабораторий, а также повышению качества тестирования партий биологических препаратов при выпуске с меньшим акцентом на использование животных.

### Реализация концепции 3Rs в требованиях фармакопей

Европейский директорат по качеству лекарственных средств и здравоохранения (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, EDQM) активно применяет концепцию 3Rs в своей деятельности<sup>5</sup>. Комиссия Ph. Eur. учитывает ее принципы как при пересмотре, так и при разработке новых общих глав и монографий. В настоящее время ни одна из монографий Ph. Eur. для ЛС, полученных из крови и плазмы человека, не содержит требований о проведении испытаний на животных. Ряд человеческих вакцин прошел переоценку релевантности испытаний на животных, введены методы *in vitro* в качестве замены испытаниям *in vivo*<sup>6</sup> [31].

Достигнуты определенные успехи в данной области: исключено испытание на аномальную токсичность из требований ведущих фармакопей; разработаны альтернативные методы для оценки активности инактивированных вакцин против бешенства; для оценки чувствительности к гистамину бесклеточных коклюшных вакцин; для испытания на реверсию токсичности дифтерийных и столбнячных компонентов комплексных вакцин; для испытания на специфическую безопасность (отсутствие остаточной токсичности) дифтерийного и столбнячного компонентов комплексных вакцин и др. [32, 33].

В 2024 г. из Ph. Eur. исключены 3 общие главы, описывающие испытания на животных, такие как 2.6.8. «Пирогены» (испытания на кролика), 2.6.10. «Гистамин» (испытания на морских свинках) и 2.6.11. «Депрессорные вещества» (испытания на кошках). Вместе с исключением общей главы 2.6.9. «Аномальная токсичность» в 2017 г., из Ph. Eur. исключены все общие испытания по оценке безопасности БЛП на животных. Данное решение вступит в силу с 1 января 2026 г.<sup>7</sup> Сведения о внедрении подходов 3Rs в Ph. Eur.,

<sup>4</sup> Guidelines on the phasing out of animal tests for the quality control of biological products. Draft version.

<sup>5</sup> <https://www.edqm.eu/en/alternatives-to-animal-testing>

<sup>6</sup> Там же.

<sup>7</sup> Там же.

начиная с 2012 года, представлены в *таблице 1* (опубликована на сайте журнала<sup>8</sup>).

Программа биологической стандартизации Ph. Eur., в рамках которой проводятся исследования по валидации новых фармакопейных методов и созданию референтных препаратов для контроля качества биологических лекарственных средств, содействует применению подхода 3Rs. До настоящего времени 25 проектов из 170 были посвящены разработке или внедрению альтернативных методов без использования животных<sup>9</sup>.

В Европейскую фармакопею в 2019 г. включена общая глава 5.2.14 «Замена метода(ов) *in vivo* методом(ами) *in vitro* для контроля качества вакцин»<sup>10</sup> (10-е издание Ph. Eur.), а также известно, что соответствующие главы были включены в Британскую фармакопею (2019 г.) [16] и Фармакопею Евразийского экономического союза (2024 г.)<sup>11</sup>.

### Основные положения общей главы 5.2.14 Европейской фармакопеи

Как отмечалось ранее, альтернативные методы *in vitro* имеют ряд преимуществ по сравнению с тестами на животных. Однако при попытке замены методов их сравнение «один к одному» может оказаться затруднительным из-за присущей методам *in vivo* изменчивости и отсутствия результатов их валидации. Так, при контроле качества давно зарегистрированных вакцин изучение правильности, воспроизводимости, предела обнаружения и других валидационных характеристик биологических методов не было предусмотрено<sup>12</sup>, хотя ценность этих методов в обеспечении активности и безопасности препаратов исторически доказана.

В общей главе представлены рекомендации по внедрению методов *in vitro* в случаях, когда проведение прямого сравнения тестов не представляется возможным по причинам, не связанным с пригодностью одного или нескольких методов<sup>13</sup>. Также отмечается, что при переходе к системе контроля качества, основанной на методах *in vitro*, следует учитывать, что показате-

ли качества продукта, скорее всего, будут оцениваться по-новому. При этом альтернативные стратегии тестирования должны обеспечивать уверенность в том, что критические параметры, подтверждающие безопасность и активность БЛП, контролируются должным образом.

Согласно требованиям Ph. Eur. замена тестов *in vivo* на тесты *in vitro* для оценки качества вакцин возможна после обоснования применимости последних для контроля соответствующих качественных характеристик препарата, их валидации, а также проведения сравнительных исследований.

Общая глава содержит критерии в отношении процесса замены методов для оценки активности вакцин:

1) методы *in vitro* должны надлежащим образом контролировать постоянство производства. Для подтверждения их способности оценивать CQA вакцин и поддерживать качество вновь выпускаемых вакцин на уровне тех партий, безопасность и активность которых была подтверждена при клинических исследованиях и/или рутинном применении в практике, необходим достаточный объем данных;

2) способность методов *in vitro* определять содержание и функциональность антигена должна быть подтверждена. При внедрении одного метода *in vitro* целесообразно применять нейтрализующие моноклональные антитела, нацеленные на конформационные эпитопы антигена. Если одного метода *in vitro* недостаточно для определения содержания и функциональности антигена в полном объеме, целесообразно использовать несколько методов *in vitro*;

3) при разработке метода *in vitro* следует применять образцы вакцин с разной концентрацией, а также образцы, подвергнутые разным типам стрессовых условий, для оценки потенциала нового метода при изучении стабильности препарата;

4) методам *in vitro*, обладающим более высокой чувствительностью, отдается предпочтение при подтверждении постоянства качества вакцин в процессе производства<sup>14</sup> [16].

<sup>8</sup> <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-239-tabl>

<sup>9</sup> <https://www.edqm.eu/en/bsp-programme-for-3rs>

<sup>10</sup> 5.2.14 Substitution of *in vivo* method(s) by *in vitro* method(s) for the quality control of vaccines. European Pharmacopoeia. 10th ed. 2019.

<sup>11</sup> 2.3.1.8. Замена методов *in vivo* на методы *in vitro* для контроля качества вакцин. Фармакопея Евразийского экономического союза. Т. 1. Ч. 3. М.; 2024.

<sup>12</sup> ICH Topic Q2(R2). Guideline on validation of analytical procedures.

<sup>13</sup> 5.2.14 Substitution of *in vivo* method(s) by *in vitro* method(s) for the quality control of vaccines. European Pharmacopoeia. 10th ed. 2019.

<sup>14</sup> Там же.

Отсутствие возможности доказать соответствие между альтернативными методами не всегда означает, что метод *in vitro* является непригодным, скорее всего, он обнаруживает такие изменения в профиле продукта, которые не были определены методом *in vivo*. В данном случае альтернативный метод является более подходящим для оценки влияния изменений в производстве на качество препарата.

### **Международные и национальные организации, занимающиеся реализацией концепции 3Rs**

Несмотря на то что принципы 3Rs не являются обязательными, Концепция 3Rs во многих странах стала стандартом в законодательстве и реализуется различными государственными и общественными организациями. Принципы 3Rs включены в нормативные акты и руководства по проведению исследований на животных [1, 34]. Данный подход отражается в рекомендациях ВОЗ, международных документах, таких как Европейская директива 2010/63/EU<sup>15</sup>, ряде национальных законодательных актов, правилах и руководствах, действующих по всему миру [5, 27].

Различные международные и национальные организации участвуют в продвижении данной концепции, способствуя разработке альтернативных методов и проведению валидационных исследований:

1) Рабочая группа по вакцинам Европейского директората по качеству лекарственных средств и здравоохранению (European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare's Vaccines Working Group (EDQM));

2) Национальный центр Великобритании по замене и сокращению животных в исследованиях (National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research, NC3Rs);

3) Европейская референс-лаборатория по альтернативным методам испытаний на животных (European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing (EURL ECVAM));

4) Европейская сеть лабораторий по валидации альтернативных методов (European Union Network of Laboratories for the Validation of Alternative Methods (EU-NETVAL));

5) Национальный институт здравоохранения, США (National Institutes of Health (NIH), USA);

6) Межведомственный центр по оценке альтернативных токсикологических мето-

дов, США (Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM), USA);

7) Индийская фармакопейная комиссия по замене испытаний *in vivo* (Indian Pharmacopoeia Commission (IPC) on replacement of *in vivo* testing);

8) Китайский центр развития сельских технологий Министерства науки и технологий (China Rural Technology Development Centre of the Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China);

9) Национальный консультативный комитет по исследованиям на лабораторных животных, Сингапур (National Advisory Committee for Laboratory Animal Research (NACLAR), Singapore);

10) Международный исследовательский проект Консорциума VAC2VAC (International research project of the VAC2VAC Consortium);

11) Ассоциация по оценке безопасности без использования животных при Обществе защиты животных (Animal-Free Safety Assessment Association (AFSA), Humane Society International (HSI)) [1].

Указанные организации играют важную роль в продвижении альтернативных методов и достижении их регуляторного признания. Распространение принципов 3Rs преобладает в Европе, однако страны Азиатско-Тихоокеанского региона также принимают важность согласованности подходов к внедрению концепции. Благодаря гармонизации требований испытания для подтверждения качества ЛС, принятые регуляторными органами западных стран, могут применяться для оценки качества лекарственных препаратов в других регионах мира.

Гармонизация подходов и требований регуляторных органов ведущих стран к внедрению альтернативных методов испытаний представляет особую значимость для фармацевтических компаний, поскольку будет на международном уровне способствовать принятию вносимых ими изменений в нормативную документацию.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В последние годы предприняты значительные усилия для продвижения методов без использования животных в испытаниях и нормативно-правовой базе в качестве нового стандарта. Принятие требований при внедрении принципов 3Rs не исключает полностью испытания на животных из оценки качества лекарственных средств, но вносит ясность в процедуру

<sup>15</sup> Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Off J Eur Union*. 2010;276:33–79.

признания альтернативных методов, которые должны быть научно обоснованы и иметь доказанную надежность в обеспечении безопасности и активности препарата при медицинском применении. Обозначены такие важные стратегии замены, как стандартизация требований, содействие обмену результатами испытаний, а также исключение тестов на животных при наличии адекватных альтернативных методов.

В настоящее время отмечается активизация действий как регуляторных органов, так и производителей лекарственных средств разных

стран, включая Россию, по разработке новых надежных методов *in vitro*, сокращению количества животных, задействованных в испытаниях, и совершенствованию методик с целью минимизации страданий животных.

Международное сотрудничество с участием всех заинтересованных сторон (научных кругов, промышленности и регуляторных органов) является ключевым моментом в переходе к контролю при выпуске биологических лекарственных препаратов без использования животных.

## Литература / References

1. Poh WT, Stanslas J. The new paradigm in animal testing – “3Rs alternatives”. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2024;153:105705. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2024.105705>
2. Russell WMS, Burch RL, Hume CW. *The principles of humane experimental technique.* London: Methuen & Co Ltd.; 1959.
3. Tannenbaum J, Bennett BT. Russell and Burch’s 3Rs then and now: The need for clarity in definition and purpose. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2015;54(2):120–32. PMID: 25836957
4. Halder M. Three Rs potential in the development and quality control of immunobiologicals. *ALTEX.* 2001;18(Suppl.1):13–47. PMID: 11854853
5. Grimm H, Biller-Andorno N, Buch T, Dahlhoff M, Davies G, Cederroth CR, et al. Advancing the 3Rs: Innovation, implementation, ethics and society. *Front Vet Sci.* 2023;10:1185706. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1185706>
6. Hoefnagel MHN, Stickings P, Smith D, Jungbäck C, Van Molle W, Tesolin L. Rational arguments for regulatory acceptance of consistency testing: Benefits of non-animal testing over *in vivo* release testing of vaccines. *Expert Rev Vaccine.* 2023;22(1):369–77. <https://doi.org/10.1080/14760584.2023.2198601>
7. Schutte K, Szczepanska A, Halder M, Cussler K, Sauer UG, Stirling C, et al. Modern science for better quality control of medicinal products “Towards global harmonization of 3Rs in biologicals”: The report of an EPAA workshop. *Biologicals.* 2017;48:55–65. <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2017.05.006>
8. Uhlrich S, Coppens E, Moysan F, Nelson S, Nougarede N. 3Rs in quality control of human vaccines: Opportunities and barriers. In: Kojima H, Seidle T, Spielmann H. *Alternatives to animal testing: Proceedings of Asian Congress.* Springer Singapore; 2019. P. 76–82. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-2447-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-13-2447-5_10)
9. Bruysters MW, Schiffelers MJ, Hoonakker M, Jungbaeck C, Ragan I, Rommel E, et al. Drivers and barriers in the consistency approach for vaccine batch release testing: Report of an international workshop. *Biologicals.* 2017;48:1–5. <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2017.06.006>
10. Akkermans A, Chapsal JM, Coccia EM, Depraetere H, Dierick J-F, Duangkhae P, et al. Animal testing for vaccines. Implementing replacement, reduction and refinement: Challenges and priorities. *Biologicals.* 2020;68:92–107. <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2020.07.010>
11. van den Biggelaar RH, Hoefnagel MH, Vandebriel RJ, Sloots A, Hendriksen CF, van Eden W, et al. Overcoming scientific barriers in the transition from *in vivo* to non-animal batch testing of human and veterinary vaccines. *Expert Rev Vaccines.* 2021;20(10):1221–33. <https://doi.org/10.1080/14760584.2021.1977628>
12. Hendriksen CF, Garthoff B, Aggerbeck H, Bruckner L, Castle P, Cussler K, et al. Alternatives to animal testing in the quality control of immunobiologicals: Current status and future prospects. The report and recommendations of ECVAM Workshop 4. *Altern Lab Anim.* 1994;22(6):420–34. <https://doi.org/10.1177/026119299402200606>
13. Ohno Y. ICH guidelines – implementation of the 3Rs (refinement, reduction, and replacement): Incorporating best scientific practices into the regulatory process. *ILAR J.* 2002;43(Suppl):95–8. [https://doi.org/10.1093/ilar.43.suppl\\_1.s95](https://doi.org/10.1093/ilar.43.suppl_1.s95)
14. Beken S, Kasper P, van der Laan JW. Regulatory acceptance of alternative methods in the development and approval of pharmaceuticals. *Adv Exp Med Biol.* 2016;856:33–64. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-33826-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33826-2_3)
15. Lilley E, Isbrucker R, Ragan I, Holmes A. Integrating 3Rs approaches in WHO guidelines for the batch release testing of biological. *Biologicals.* 2021;74:24–7. <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2021.10.002>
16. Zhang X, Wu X, He Q, Wang J, Mao Q, Liang Zh, Xu M. Research progress on substitution of *in vivo* method(s) by *in vitro* method(s) for human vaccine potency assays. *Expert Rev Vaccines.* 2023;22(1):270–7. <https://doi.org/10.1080/14760584.2023.2178421>
17. Stalpers CA, Retmana IA, Pennings JL, Vandebriel RJ, Hendriksen CF, Akkermans AM, Hoefnagel MH. Variability of *in vivo* potency tests of Diphtheria, Tetanus and acellular Pertussis (DTaP) vaccines. *Vaccine.* 2021;39(18):2506–16. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.03.078>
18. Stalpers CA, Retmana IA, Pennings JL, Vandebriel RJ, Hendriksen CF, Akkermans AM, Hoefnagel MH. Corrigendum to “Variability of *in vivo* potency tests of Diphtheria, Tetanus and acellular Pertussis (DTaP) vaccines” [Vaccine. 2021;39(18):2506–16]. *Vaccine.* 2022;40(23):3272–3. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.04.047>
19. Chabaud-Riou M, Moreno N, Guinard F, Nicolai MC, Niogret-Siohan E, Sève N, et al. G-protein based ELISA as a potency test for rabies vaccines. *Biologicals.* 2017;46:124–9. <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2017.02.002>
20. Gombold J, Karakasidis St, Niksa P, Podczasy J, Neumann K, Richardson J, et al. Systematic evaluation of *in vitro* and *in vivo* adventitious virus assays for the detection of viral contamination of cell banks and biological products. *Vaccine.* 2014;32(24):2916–26. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.021>
21. Charlebois RL, Sathiamoorthy S, Logvinoff C, Gisondi-Lex L, Mallet L, Ng SH. Sensitivity and breadth of detection of high-throughput sequencing for adventitious virus detection. *NPI Vaccines.* 2020;5(1):61. <https://doi.org/10.1038/s41541-020-0207-4>
22. Barone PW, Keumurian FJ, Neufeld C, Koenigsberg A, Kiss R, Leung J, et al. Historical evaluation of the *in vivo* adventitious virus test and its potential for replacement with next generation sequencing (NGS). *Biologicals.* 2023;81:101661. <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2022.11.003>
23. Lilley E, Bruysters M, Das P, Gill S, Isbrucker R, Jones D, Holmes A. Integrating 3Rs approaches in WHO guidelines for the batch release testing of biologicals: Responses from a survey of National Control Laboratories and National Regulatory Authorities. *Biologicals.* 2023;84:101721. <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2023.101721>
24. Lilley E, Coppens E, Das P, Galaway F, Isbrucker R, Sheridan S, et al. Integrating 3Rs approaches in WHO guidelines for the batch release testing of biologicals: Responses from a survey of vaccines and biological therapeutics manufacturers. *Biologicals.* 2023;81:101660. <https://doi.org/10.1016/j.biologics.2022.11.002>
25. Viviani L, Halder M, Gruber M, Bruckner L, Cussler K, Sanyal G, et al. Global harmonization of vaccine testing requirements: Making

- elimination of the ATT and TABST a concrete global achievement. *Biologicals*. 2020;63:101–5.  
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2019.10.007>
26. Stirling C. Consistency as tool to support *in vitro* batch potency testing in GMP production. *Dev Biol (Basel)*. 2012;134:115–8. PMID: 22888603
27. De Mattia F, Chapsal JM, Descamps J, Halder M, Jarrett N, Kross I, et al. The consistency approach for quality control of vaccines – a strategy to improve quality control and implement 3Rs. *Biologicals*. 2011;39(1):59–65.  
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2010.12.001>
28. Lilley E, Isbrucker R, Holmes A. Integrating 3Rs approaches in WHO guidelines for the batch release testing of biologicals: Reports from a series of NC3Rs stakeholder workshops. *Biologicals*. 2025;89:101777.  
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2024.101777>
29. Lilley E, Isbrucker R, Holmes A. Integrating 3Rs approaches in WHO guidelines for the batch release testing of biologicals: Summary of NC3Rs final report to WHO Expert Committee for Biological Standardisation. *Biologicals*. 2025;89:101778.  
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2024.101778>
30. Lei D, Schmidt H, Knezevic I, Zhou T, Kang HN, Kopp S. Removal of the innocuity test from The International Pharmacopoeia and WHO recommendations for vaccines and biological products. *Biologicals*. 2020;66:17–20.  
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2020.05.003>
31. Lang C, Kolaj-Robin O, Cirefice G, Taconet L, Pel E, Jouette S, Charton E. Replacement, Reduction, Refinement – Animal welfare progress in European Pharmacopoeia monographs: Activities of the European Pharmacopoeia Commission from 2007 to 2017. *Pharmeur Bio Sci Notes*. 2018;2018:12–36. PMID: 29845933
32. Viviani L, Reid K, Gastineau T, Milne C, Smith D, Levis R, et al. Accelerating Global Deletion of the Abnormal Toxicity Test for vaccines and biologicals. Planning common next steps. A workshop Report. *Biologicals*. 2022;78:17–26.  
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2022.06.003>
33. Bratos M, Kolaj-Robin O, Antoni M, Charton E. Ph. Eur. testing for histamine and depressor substances using guinea-pigs and cats: The end of an era. Strategy for removal of animal tests for histamine and depressor substances and their vestiges from the Ph. Eur. *Pharmeur Bio Sci Notes*. 2024;2024:12–26. PMID: 38533690
34. Bayne K, Turner PV. Animal welfare standards and international collaborations. *ILAR J*. 2019;60(1):86–94.  
<https://doi.org/10.1093/ilar/ily024>

**Дополнительная информация.** Таблица 1 размещена на сайте журнала «Безопасность и риск фармакотерапии».

<https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-239-tabl>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Л.А. Гайдерова – концепция и дизайн исследования; Н.А. Алпатова – идея исследования, сбор и систематизация данных, написание рукописи, формулировка выводов; О.В. Головинская – анализ и интерпретация результатов; А.М. Гуськов – сбор и систематизация данных литературы; Э.К. Липатова – подбор данных литературы; М.Н. Лаврова – утверждение окончательной версии рукописи для публикации.

**Additional information.** Table 1 is published on the website of *Safety and Risk of Pharmacotherapy*.

<https://doi.org/10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-239-tabl>

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Lidia A. Gaiderova conceptualised and designed the study. Natalia A. Alpatova conceived the study idea, drafted the manuscript, and formulated the conclusions. Olga V. Golovinskaya analysed and interpreted the study results. Alexander M. Guskov collected and analysed data. Elvira K. Lipatova collected the data. Marina N. Lavrova approved the final version of the manuscript for publication.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Гайдерова Лидия Александровна**, канд. мед. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6176-5934>

**Алпатова Наталья Александровна**, д-р биол. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6807-508X>

**Головинская Ольга Вячеславовна**, канд. мед. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6966-9859>

**Гуськов Александр Михайлович**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4523-5316>

**Липатова Эльвира Константиновна**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1471-8737>

**Лаврова Марина Николаевна**, канд. фарм. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-2197-378X>

Поступила 31.03.2025

После доработки 07.05.2025

Принята к публикации 04.06.2025

**Lidia A. Gaiderova**, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6176-5934>

**Natalia A. Alpatova**, Dr. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6807-508X>

**Olga V. Golovinskaya**, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6966-9859>

**Alexander M. Guskov**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4523-5316>

**Elvira K. Lipatova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1471-8737>

**Marina N. Lavrova**, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-2197-378X>

Received 31 March 2025

Revised 7 May 2025

Accepted 4 June 2025